

УДК 634.7:631.532/.535

UDC 634.7:631.532/.535

**ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ВВЕДЕНИЯ
МАЛИНЫ И ЕЖЕВИКИ В КУЛЬТУРУ
IN VITRO****OPTIMIZING CONDITIONS FOR
INTRODUCTION OF RASPBERRY AND
BLACKBERRY INTO CULTIVATION IN VITRO**

Иванова-Ханина Лидия Владимировна
к.с.-х.н.
Южный филиал Национального университета
биоресурсов и природопользования Украины
«Крымский агротехнологический университет»,
Крым, Россия
e-mail: lidaivanova-khanina@rambler.ru

Ivanova-Khanina Lidya Vladimirovna
Cand.Agr.Sci.
Southern branch of National university of bio-
resources and nature management of the Ukraine
Crimean agrotechnological university, Simferopol, the
Crimea, Russia
e-mail: lidaivanova-khanina@rambler.ru

Установлено, что уровень приживаемости и частота регенерации малины и ежевики при введении в культуру *in vitro* почек в осенний период (октябрь) существенно выше, чем в ранневесенний период (февраль). На первом этапе клонального микроразмножения оптимальным для большинства исследуемых сортов малины является культивирование на питательной среде, содержащей БАП (0,5 мг/л) и ГК (0,2 мг/л), для ежевики – увеличение концентрации гормонов до 1,0 и 0,5 мг/л, соответственно

We have studied survival and regeneration rate of raspberries and blackberries buds when introducing into cultivation *in vitro* during October. The rate was significantly higher for buds taken in October than that for ones taken in February. At the first stage of micropropagation, for the most of studied varieties of raspberries, cultivation on nutrient medium contained BAP (0.5 mg/l) and GA (0.2 mg/l) was most successful; for blackberries, increasing concentration of hormones (BAP to 1.0 mg/l and GA to 0.5 mg/l) was better

Ключевые слова: АСЕПТИЧЕСКАЯ КУЛЬТУРА, КОНТАМИНАЦИЯ, ЭКСПЛАНТ, КУЛЬТУРА *IN VITRO*, КЛОНАЛЬНОЕ МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ, ПИТАТЕЛЬНАЯ СРЕДА

Keywords: ASEPTIC CULTURE, CONTAMINATION, EXPLANTS, CULTURE *IN VITRO*, CLONAL MICROPROPAGATION, NUTRIENT MEDIUM

Биотехнологические методы в последние десятилетия прочно вошли в растениеводческую практику и широко используются для ускоренного размножения и получения оздоровленного посадочного материала многих экономически важных сельскохозяйственных культур. Экономическая значимость ягодных культур для Крыма обусловлена сроками поступления продукции, совпадающими с курортным сезоном. Однако в промышленных масштабах выращивается только 1/2 производимого объема ягод (в основном земляника), а большинство ягодных культур возделывается на приусадебных участках и в фермерских хозяйствах [1]. Выращивание малины и ежевики, особенно ремонтантных сортов, обеспечивающих поступление ягод в течение всего курортного сезона – с начала июня и до конца октября, представляет большой интерес для экономики сельского хозяйства Крыма. В то же время получение посадочного материала ягодных культур на территории Крыма

сдерживается климатическими факторами, в связи с чем, актуальным стал вопрос возможности использования биотехнологических методов, в частности, клонального микроразмножения растений в культуре *in vitro*. Этот метод характеризуется высоким коэффициентом размножения (до $1:10^7$), что позволяет в короткие сроки внедрять новые высокопродуктивные сорта в производство.

В практике отечественного и зарубежного садоводства накоплен достаточно большой опыт культивирования *in vitro* ягодных культур, в том числе малины [2–4], земляники [5], смородины [6], ежевики [7] и др. Однако список видов, сортов и гибридных форм растений, используемых в научных исследованиях, а также в промышленном и любительском садоводстве, неуклонно расширяется, что обуславливает необходимость подбора и оптимизации состава питательных сред и условий культивирования в зависимости от видовой и сортовой специфичности эксплантов.

Целью наших исследований являлось выявить особенности морфогенеза малины и ежевики в культуре изолированных почек *in vitro* и подобрать оптимальный гормональный состав питательной среды.

Постановка и решение задачи.

Материалом для исследований служили высокопродуктивные сорта малины (Брусвяна, Joan J, Примара, Брусиловский стандарт) и ежевики (Triple Crown, Рубен).

При проведении экспериментальной работы использовали методы, общепринятые в исследованиях по культуре изолированных клеток, тканей и органов растений [8–10]. Культивирование эксплантов осуществляли на питательной среде Мурасиге и Скуга (МС), содержащей 0,7 % агара, и дополненной регуляторами роста группы цитокининов и гиббереллинов в различных соотношениях. Условия культивирования: температура 24–

26°C, относительная влажность воздуха 60–70 %, 16-часовой фотопериод и освещенность 2 тыс. люкс.

Для введения в культуру *in vitro* использовали пазушные почки малины и ежевики. Подготовка эксплантов к введению включала поверхностную стерилизацию одноглазковых сегментов побегов малины и ежевики в мыльном растворе, затем – последовательную обработку 70 % этанолом (40 с) и 50 % препаратом Domestos в нескольких вариантах экспозиции. После стерилизации растительный материал промывали в трех сменах автоклавированной дистиллированной воды и помещали в стерильные чашки Петри, откуда он использовался для выделения эксплантов и посадки на питательную среду. Кроющие листья удаляли с помощью скальпеля, после чего выделяли почки и размещали на поверхности среды с некоторым заглублением для обеспечения лучшего поступления питательных веществ. Наличие контаминации определялось визуально на 5-е и повторно на 10-е сутки после введения эксплантов в культуру *in vitro*. Для статистической обработки экспериментальных данных использовали пакет прикладных программ Excel 7.0 для Microsoft Windows®.

Первым этапом работ по клональному микроразмножению растений являются введение эксплантов в культуру *in vitro* и индукция их интенсивного роста и развития путем создания оптимальных условий для культивирования. Успешность этого этапа, особенно для многолетних растений, во многом определяет срок изоляции экспланта. Для большинства ягодных культур оптимальным сроком введения эксплантов в стерильную культуру является конец апреля – май [11, 12], т.е. период активной вегетации. В эксперименте мы использовали введение эксплантов в изолированную культуру в 2 срока: 1 – февраль (для выделения активно вегетирующих почек полуодревесневшие побеги проращивали в

лабораторных условиях); 2 – октябрь (для введения использовали вызревшие почки). В результате эксперимента получены следующие данные (табл. 1).

Таблица 1 – Влияние срока введения в культуру *in vitro* и экспозиции стерилизующего агента на эффективность стерилизации эксплантов, %

Вариант		Уровень освобождения от контаминаций, %					
срок введения	экспозиция препарата Domestos 50 %, мин	малина				ежевика	
		Брусвяна	Бруслиловский стандарт	Joan J	Примара	Triple Crown	Рубен
1	8	79,1	80,0	80,4	60,0	77,8	81,6
	10	87,0	87,1	83,3	73,8	76,9	79,4
	12	88,6	93,7	88,9	92,9	90,0	80,0
2	8	65,0	66,7	53,3	51,4	40,0	55,6
	10	84,6	71,9	81,6	60,9	65,8	63,5
	12	85,5	73,1	83,6	66,7	72,2	64,7

Анализ влияния сроков введения эксплантов в изолированную культуру позволил установить, что процент свободных от контаминаций эксплантов для большинства исследуемых сортов при ранневесеннем сроке введения был выше, чем при осеннем сроке введения. Очевидно, что достигнутый уровень освобождения эксплантов от сапрофитной микрофлоры (60,0–93,7 %) обусловлен проращиванием побегов в лабораторных условиях. Наиболее высокий уровень освобождения от контаминаций для всех исследуемых сортов был отмечен при использовании препарата Domestos в экспозиции 12 мин. Эффективность освобождения эксплантов от инфекции при первом сроке введения составила 80–93,7 % и 65,4–86,5 % при втором.

Однако при подборе стерилизующих веществ необходимо учитывать не только уровень освобождения материала от контаминаций, но и последующую жизнеспособность эксплантов, поскольку увеличение времени воздействия, как и концентрации стерилизующих веществ, может привести к снижению жизнеспособности эксплантов.

Анализ влияния увеличения экспозиции препарата Domestos на частоту приживаемости и уровень регенерации эксплантов малины и

ежевики показал, что при несущественном увеличении эффективности стерилизации увеличение длительности воздействия данным стерилизующим агентом вызывает значительное снижение уровня приживаемости и регенерации растений (табл. 2). Таким образом, оптимальным для введения исследуемых сортов малины и ежевики в культуру *in vitro* является использование 50 % препарата Domestos в экспозиции 10 мин.

Таблица 2 – Влияние срока введения в культуру *in vitro* и экспозиции стерилизующего агента на уровень приживаемости и регенерацию эксплантов

Вариант		Сорта					
срок введения	экспозиция препарата Domestos 50 %, мин	малина				ежевика	
		Брусвяна	Брусиловский стандарт	Joan J	Примара	Triple Crown	Рубен
Уровень приживаемости*, %							
1	10	65,5	85,1	72,0	61,3	72,5	74,1
	12	56,5	72,9	67,5	42,3	38,9	60,0
2	10	93,2	89,1	77,4	60,7	80,0	90,9
	12	83,0	70,2	76,1	52,8	57,7	63,6
Уровень регенерации*, %							
1	10	64,4	52,7	58,0	38,7	35,0	48,1
	12	43,5	25,4	17,5	26,9	0,0	10,0
2	10	90,9	82,6	71,0	57,1	72,0	84,8
	12	72,3	56,1	67,4	44,4	50,0	45,5

Примечание: * – свободных от контаминаций эксплантов.

Уровень приживаемости и частота регенерации значительно варьировали по сортам и срокам эксплантации почек. Установлено, что при введении малины в культуру *in vitro* во второй срок (октябрь) уровень приживаемости эксплантов составляет 52,8–93,2 %, тогда как в первый срок значение этого параметра составляет 42,3–85,1 %. Частота регенерации микропобегов малины варьировала в значительных пределах, в первую очередь, обусловленных влиянием срока введения. При

использовании для эксплантации вызревших почек с плотными покровами уровень регенерации был существенно выше (44,4–90,9 %), чем при введении активно вегетирующих почек (26,9–64,4 %). Аналогичная тенденция прослеживалась и при введении в культуру *in vitro* пазушных почек ежевики. Уровень приживаемости и частота регенерации во второй срок были существенно выше и составили 63,6–90,9 % и 45,4–84,8 % соответственно. Подобная реакция отмечалась и в эксперименте других исследователей [11], когда при введении активно набухающих почек ягодных культур рода *Rubus* отмечалось сильное повреждение тканей, что снижало количество регенерировавших побегов. Поэтому, несмотря на более высокий уровень освобождения от контаминаций, период активного набухания и роста почек исследуемых ягодных культур мало эффективен для асептической работы. Таким образом, оптимальным является введение почек малины и ежевики в изолированную культуру во второй срок (октябрь).

Для успешной регенерации растений особое значение имеет правильный подбор питательной среды. На этапе введения в культуру *in vitro* изолированных почек малины и ежевики подбор оптимальных концентраций гормонов проводили на основе питательной среды МС, содержащей 0,7 % агара. В качестве гормональных добавок в среду использовали цитокинины (БАП) и гиббереллины (ГК) в различных концентрациях. Исследованиями [7, 11, 13] показано, что трудность при введении в культуру *in vitro* эксплантов ягодных растений вызывает выделение ими в питательную среду фенольных веществ, приводящих к снижению регенерационных и ростовых процессов и в дальнейшем к некрозу. В наших экспериментах потемнение питательной среды вокруг экспланта вследствие выделения фенольных соединений было отмечено уже через 1,0–1,5 часа после помещения их на питательную среду. Для решения этой проблемы некоторые исследователи [7] использовали

пассирование эксплантов через каждые 7 дней в течение первого месяца культивирования, однако такой процесс очень трудоемкий и экономически нецелесообразен. Большинство исследователей [11, 13, 14] сходятся во мнении, что лучше добавлять в питательную среду аскорбиновую кислоту (0,75–1,0 мг/л) или глутатион восстановленный (1,0–2,5 мг/л). Поэтому в наших экспериментах в питательную среду добавляли аскорбиновую кислоту в концентрации 1 мг/л.

Следует отметить, что после введения в изолированную культуру почки на 5–7 день культивирования начинали раскрываться и образовывать первые листочки. В течение 30 суток культивирования формировался небольшой кустик с одним – тремя облиственными побегами различной длины (рис. 1).

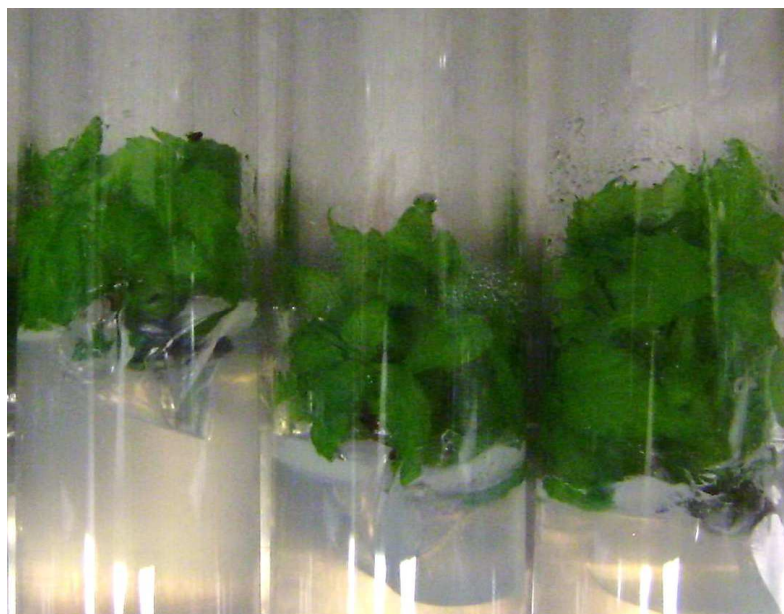


Рисунок 1. Растения-регенеранты малины сорта Брусвяна
(30 сут. культивирования)

Выбор в качестве экспланта организованной структуры (почки) и добавление в питательную среду регуляторов роста группы цитокининов позволяли снять апикальное доминирование и вызвать образование побегов сразу из нескольких точек роста (табл. 3).

Таблица 3 – Влияние гормонального состава питательной среды на рост микропобегов малины и ежевики в культуре *in vitro*

(30 сут. культивирования)

Содержание и концентрация гормонов, мг/л	Параметры роста сортов					
	малина				ежевика	
	Брусвяна	Бруслиловский стандарт	Joan J	Примара	Triple Crown	Рубен
Высота основного побега, мм						
БАП 0,2 ГК 0,1	17,3±1,2	16,4±0,6	22,8±1,1	13,6±1,2	42,7±1,2	33,8±1,4
БАП 0,5 ГК 0,1	26,7±2,1	21,3±1,0	26,3±1,6	15,2±0,9	28,4±2,1	33,5±1,3
БАП 0,5 ГК 0,2	29,7±0,8	26,5±1,2	28,5±2,1	15,8±1,3	35,5±1,3	38,1±2,1
БАП 1,0 ГК 0,5	30,3±2,3	22,1±0,9	27,3±1,4	16,4±0,7	40,4±2,4	36,5±2,0
Количество побегов, шт.						
БАП 0,2 ГК 0,1	2,2±0,2	1,2±0,4	1,2±0,6	1,1±0,2	2,3±0,1	2,2±0,4
БАП 0,5 ГК 0,1	1,8±0,2	1,5±0,6	1,0±0,3	1,4±0,5	2,6±0,1	2,4±0,3
БАП 0,5 ГК 0,2	2,4±0,1	1,5±0,2	1,2±0,6	1,3±0,2	2,6±0,5	2,5±0,1
БАП 1,0 ГК 0,5	2,0±0,2	1,8±0,5	2,3±0,4	1,6±0,3	3,0±0,2	2,8±0,4

Полученные экспериментальные данные свидетельствовали о разной реакции малины и ежевики на культивирование *in vitro*. У большинства исследуемых сортов малины на первом этапе микроразмножения формировался и развивался только один основной побег, исключением был сорт Брусвяна, для которого было характерно развитие сразу нескольких побегов (1,8–2,4 шт.). Для ежевики, напротив, было характерно формирование сразу нескольких побегов, при этом основной побег имел большую высоту, а остальные побеги, одинаковые по силе роста, были меньше. В эксперименте мы учитывали высоту только основного побега.

Анализ полученных нами биометрических данных показал, что высота основного побега варьировала в зависимости от используемых

питательных сред и генотипа. Так, у сорта Брусвяна наибольшей высотой характеризовались побеги при культивировании на питательной среде с добавлением БАП (0,5 и 1,0 мг/л) и ГК (0,2 и 0,5 мг/л). При этом между этими вариантами не было существенных различий, увеличение концентрации БАП до 1,0 мг/л и ГК до 0,5 мг/л не оказало значительного эффекта. Такой же состав питательной среды был оптимальным для развития микропобегов малины сорта Брусиловский стандарт. Повышение концентрации БАП и ГК оказывало ингибирующее действие на рост микропобегов.

Установлено, что для микропобегов сорта Joan J варианты питательной среды с добавлением БАП (0,5 и 1,0 мг/л) и ГК (0,1, 0,2 и 0,5 мг/л) не имели существенных различий по высоте основного побега. Однако, повышение концентрации БАП до 1,0 мг/л в сочетании с ГК (0,5 мг/л) способствовало образованию дополнительных побегов ($2,3 \pm 0,4$ шт.). Таким образом, указанная концентрация оказалась оптимальной для данного сорта.

Сорт малины Примара характеризовался меньшей силой роста, более длительным развитием после введения его в культуру *in vitro*. Отмечено, что экспланты этого сорта формировали преимущественно один побег, высота которого за 30 суток культивирования составила 13,6–16,4 мм.

Оптимальным вариантом питательной среды для исследуемых сортов ежевики является добавление БАП и ГК в концентрации 1,0 и 0,5 мг/л соответственно. В этом случае формировалось большее количество побегов (2,8–3,0 шт.), а высота основного побега в этом варианте питательной среды и при меньшей концентрации гормонов не имела существенных различий.

Таким образом, в результате проведенных исследований выявлены особенности подготовки растительного материала для отбора эксплантов и

оптимизированы условия введения почек исследуемых сортов малины и ежевики в культуру *in vitro*.

Выводы:

1. Установлено, что при введении малины и ежевики в культуру *in vitro* в осенний период (октябрь) уровень приживаемости и частота регенерации существенно выше, чем в ранневесенний период, при использовании активно вегетирующих почек, пророщенных в лабораторных условиях.

2. При использовании для получения асептической культуры малины и ежевики 50 % раствора препарата Domestos эффективной является экспозиция 10 мин, что обеспечивает освобождение от контаминаций на уровне 65,4–93,7 %.

2. Оптимальной модификацией питательной среды МС на этапе введения в культуру *in vitro* для большинства исследуемых сортов малины является добавление БАП в концентрации 0,5 мг/л и ГК в концентрации 0,2 мг/л, для исследуемых сортов ежевики – увеличение концентрации БАП и ГК до 1,0 и 0,5 мг/л соответственно.

Список литературы

1. Копылов В. И., Шевченко В. В., Щербатко Н. М. Плодоводство Крыма в XXI веке // Агропромышленный комплекс Крыма в XXI веке: науч. труды КГАУ. – Вып. 68. – Симферополь, 2002. – С. 68–77.

2. Волосевич Н. Н., Семенас С. Э., Кухарчик Н. В. Размножение *in vitro* и оздоровление от вирусов малины // Биология клеток растений *in vitro* и биотехнология: тезисы IX Международной конференции. – Звенигород, 2008. – С. 78–79.

3. Оразбаева Г.К. Клональное размножение растений красной малины (*Rubus idaeus* L.) *in vitro* / Оразбаева Г. К., Майсупова И. Л., Хасанов В. Т., Швидченко В. К. // Вестник науки КазАТУ им. С. Сейфуллина. – 2012. - №1 (72). – С.140-149.

4. Вовк В.В. Оптимизация селекционного процесса и ускоренного размножения межвидовых ремонтантных форм малины методом *in vitro*: Автореф. дисс. канд. с.-х. наук: 06.01.05 / Брянск, 2000. – 20 с.

5. Паскеев Н. А. Эффективность микроклонального размножения земляники // Научн.-техн. бюлл. ВНИИ растениеводства. – 2000. – № 239. – С. 21–22.

6. Эрст А. А., Вечернина Н. А. Введение в культуру смородины золотистой // Биология клеток растений *in vitro* и биотехнология: тезисы IX Международной конференции. – Звенигород, 2008. – С. 450–451.
7. Таварткиладзе О. К., Вечернина Н. А. Размножение ежевики в культуре *in vitro* // Эл. журнал «Известия Алтайского государственного университета». Биологические науки. 2007. – № 3 (55). – Режим доступа: <http://izvestia.asu.ru/2007/3/biol/TheNewsOfASU-2007-3-biol-06.pdf>
8. Калинин Ф. Л., Сарнацкая В. В., Полищук В. Е. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений. – К.: Наукова думка, 1980. – 488 с.
9. Бутенко Р. Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений. – М.: Наука, 1964. – 272 с.
10. Kartha K. K. Meristem culture // Plant tissue culture methods. – Saskatoon, Sask., 1975. – VI. – P. 39-43.
11. Соловых Н. В., Муратова С. А., Янковская М. Б. Клональное размножение ягодных культур *in vitro* // «Актуальные проблемы размножения ягодных культур и пути их решения»: мат. междунар. научн.-метод. дистанционной конф. [Электронный ресурс], 2010. – Режим доступа: <http://konferenc2010.narod.ru>.
12. Ковальчук И. Ю. Микроклональное размножение малины, как метод сохранения биоразнообразия растений в Казахстане / Ковальчук И. Ю., Мухитдинова З. Р., Турдиев Т. Т. и др. // Биотехнология как инструмент сохранения биоразнообразия растительного мира – 2008 : мат. II Всероссийской научн.-практич. конф. [Электронный ресурс] – Волгоград, 2008. – Режим доступа: <http://botanicblog.ru/public/biotech-2008/stat410>
13. Соловых Н. В. Использование биотехнологических методов в работе с ягодными культурами // Методические рекомендации. – Научоград РФ: ГНУ ВНИИГиСПР им. И.В. Мичурина, Изд. Мичуринского гос. агроун-та, 2009. – 47 с.
14. Высоцкий В. А., Тарашвили З. Т. «Микроразмножение» здорового посадочного материала ягодных культур // Садоводство. – 1982. – № 3. – С. 22-23.

References

1. Kopylov V. I., Shevchenko V. V., Shherbatko N. M. Plodovodstvo Kryma v XXI veke // Agropromyshlennyj kompleks Kryma v NHI veke : nauchn. trudy KGAU. – Вып. 68. – Симферополь, 2002. – С. 68-77.
2. Volosevich N. N., Semenas S. Je., Kuharchik N. V. Razmnozhenie *in vitro* i ozdorovlenie ot virusov maliny // Biologija kletok rastenij *in vitro* i biotehnologija : tezisy IH Mezhdunarodnoj konferencii. – Zvenigorod, 2008. – S. 78–79.
3. Orazbaeva G.K. Klonal'noe razmnozhenie rastenij krasnoj maliny (*Rubusidaeus L.*) *in vitro* / Orazbaeva G. K., Majsupova I. L., Hasanov V. T., Shvidchenko V. K. // Vestnik nauki KazATU im. S.Sejfullina. – 2012. - №1 (72). – S.140–149.
4. Vovk V.V. Optimizacija selekcionnogo processa i uskorenno go razmnozhenie mezhvidovyh remontantnyh form maliny metodom *in vitro* : Avtoref. dis. kand. s.-h. nauk : 06.01.05 / Brjansk, 2000. – 20 s.
5. Paskeev N. A. Jeffektivnost' mikroklonal'nogo razmnozhenija zemljaniki // Nauchn.-tehn. bjull. VNII rastenievodstva. – 2000. - № 239. – S. 21–22.
6. Jerst A. A., Vechernina N. A. Vvedenie v kul'turu smorodiny zolotistoj // Biologija kletok rastenij *in vitro* i biotehnologija : tezisy IH Mezhdunarodnoj konferencii. – Zvenigorod, 2008. – S. 450–451.
7. Tavartkiladze O. K., Vechernina N. A. Razmnozhenie ezheviki v kul'ture *in vitro* // Jel. zhurnal «Izvestija Altajskogo gosudarstvennogo universiteta». Biologicheskie nauki.

2007. – № 3 (55). – Rezhim dostupa: <http://izvestia.asu.ru/2007/3/biol/TheNewsOfASU-2007-3-biol-06.pdf>

8. Kalinin F. L., Sarnackaja V. V., Polishhuk V. E. Metody kul'tury tkanej v fiziologii i biohimii rastenij. – K.: Naukova dumka, 1980. – 488 s.

9. Butenko R. G. Kul'tura izolirovannyh tkanej i fiziologija morfogeneza rastenij. – M.: Nauka, 1964. – 272 s.

10. Kartha K. K. Meristem culture // Plant tissue culture methods. – Saskatoon, Sask., 1975. – YI. – P. 39-43.

11. Solovyh N. V., Muratova S. A., Jankovskaja M. B. Klonal'noe razmnozhenie jagodnyh kul'tur in vitro // «Aktual'nye problemy razmnozhenija jagodnyh kul'tur i puti ih reshenija»: mat. mezhdunar. nauchn.-metod. distancionnoj konf. [Jelektronnyj resurs], 2010. – Rezhim dostupa: <http://konferenc2010.narod.ru>.

12. Koval'chuk I. Ju. Mikroklonal'noe razmnozhenie maliny, kak metod sohraneniya bioraznoobrazija rastenij v Kazahstane / Koval'chuk I. Ju., Muhitdinova Z. R., Turdiev T. T. i dr. // Biotehnologija kak instrument sohraneniya bioraznoobrazija rastitel'nogo mira – 2008 : mat. II Vserossijskoj nauchn.-praktich. konf. [Jelektronnyj resurs] – Volgograd, 2008. – Rezhim dostupa: <http://botanicblog.ru/public/biotech-2008/stat410>

13. Solovyh N. V. Ispol'zovanie biotehnologicheskikh metodov v rabote s jagodnymi kul'turami // Metodicheskie rekomendacii. – Naukograd RF: GNU VNIIGiSPR im. I.V. Michurina, Izd. Michurinskogo gos. agroun-ta, 2009. – 47 s.

14. Vysockij V. A., Tarashvili Z. T. «Mikrorazmnozhenie» zdorovogo posadochnogo materiala jagodnyh kul'tur // Sadovodstvo. – 1982. – № 3. – S. 22–23.