

УДК 634.713 : 576.53

АДАПТАЦИЯ РАСТЕНИЙ-РЕГЕНЕРАНТОВ ЕЖЕВИКИ К УСЛОВИЯМ EX VITRO

Иванова-Ханина Л. В.

*Академия биоресурсов и природопользования (структурное подразделение) ФГАОУ ВО
«Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», Симферополь,
Республика Крым, Россия
E-mail: lidaivanova-khanina@rambler.ru*

Для постепенной адаптации к воздушно-газовому режиму отобранные микроклоны в течение 5 или 10 сут. выдерживали с приоткрытым покрытием (ватно-марлевые пробки или ватные диски). При посадке микроклонов в субстрат после 5 сут. культивирования с приоткрытой пробкой уровень приживаемости составил 38,3 %, а после 10 сут. – 54,2 %. Приживаемость растений, высаженных после 5 сут. культивирования с приоткрытым ватным диском, составила 72,0 %, после 10 сут. – 82,0 %. Приживаемость растений, высаженных из культивационных сосудов, покрытых ватными дисками, в условиях *ex vitro* варьировала от 62,5 до 92,0 % в зависимости от субстрата, тогда как приживаемость регенерантов из культивационных сосудов, покрытых ватно-марлевой пробкой, была значительно ниже (37,5–54,2 %). Наиболее высокий уровень приживаемости микроклонов ежевики сорта 'Triple Crown' отмечен при использовании трехкомпонентного субстрата (торф, перлит, почва) в соотношении 2 : 1 : 1.

Ключевые слова: адаптация *ex vitro*, микроклональное размножение, ежевика, субстрат

ВВЕДЕНИЕ

Адаптация к условиям *ex vitro* является заключительным этапом процесса микроклонального размножения, существенно влияющим на экономическую эффективность данного процесса. Успешность адаптации растений к нестерильным условиям зависит от многих факторов: вида растения, его биологических требований и физиологического состояния; состава, плотности и влажности субстрата; относительной влажности воздуха, интенсивности освещения и др. За период культивирования в условиях *in vitro* растения приобретают некоторые особенности, связанные с условиями выращивания. Высокая, почти 100 %-ная влажность воздуха в культивационных сосудах способствует снижению контроля самими растениями-регенерантами процесса транспирации [1, 2], т. к. у растений нарушена деятельность устьичного аппарата, формирующиеся листовые пластинки лишены кутикулярного воска, защищающего от потери влаги. Доступность питательных веществ и гетеротрофный способ питания способствует низкой фотосинтетической активности растений [3] и формированию корневой системы с незначительным количеством корневых волосков с невысокой всасывающей способностью, что вызывает гибель регенерантов на этапе адаптации [2, 4, 5].

Учитывая изложенное выше, необходима оптимизация условий перевода растений в нестерильные условия, разработка щадящих, ступенчатых процедур адаптации микроклонов к воздушно-газовому режиму, подбор оптимальных субстратов для перевода растений-регенерантов в условия *ex vitro*. Для того, чтобы обеспечить высокий уровень приживаемости и интенсивный рост микроклонов в нестерильных условиях, субстрат должен характеризоваться хорошей водо- и воздухопроницаемостью, поскольку избыток влаги приводит к появлению корневых гнилей, подопреванию стеблей и гибели растений [6]. В то же время он должен иметь высокую водоудерживающую и поглотительную способность, которые, наряду с оптимальными физическими свойствами, создают благоприятные условия для приживаемости растений. Исследованиями многих авторов [1, 7–9] показана эффективность использования для адаптации ягодных растений к условиям *ex vitro* субстратов, основным компонентом которых является торф. В качестве дополнительных компонентов, для обеспечения высокой воздухопроницаемости в состав субстратов включают крупнозернистый песчаник, вермикулит или перлит [8–11]. Несмотря на имеющиеся общие рекомендации, авторы указывают, что для каждого генотипа состав субстратов и соотношение в нем компонентов необходимо подбирать эмпирическим путем.

Цель работы – оптимизировать процесс перевода растений-регенерантов ежевики сорта 'Triple Crown', полученных *in vitro*, в условия *ex vitro*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования был использован сорт ежевики 'Triple Crown', характеризующийся комплексом хозяйственно-ценных признаков.

При введении в культуру *in vitro* эксплантов, субкультивировании и приготовлении питательных сред использовали методики, общепринятые в работах по культуре тканей [14–15]. Культивирование *in vitro* осуществляли на модификациях агаризованной питательной среды Мурасиге и Скуга (МС) с добавлением регуляторов роста, вид и концентрация которых зависела от этапа микроклонального размножения [16, 17]. На этапе введения в качестве эксплантов использовали пазушные почки ежевики. Через 30 суток культивирования сформировавшиеся микропобеги разделяли на сегменты длиной 6–10 мм и высаживали на свежую питательную среду. Для укоренения использовали питательную среду с половинным количеством макро- и микросолей ($\frac{1}{2}$ МС), с добавлением β -индолил-3-масляной кислоты (ИМК) в концентрации 0,2 мг/л [16]. При осуществлении манипуляций по пересадке микропобегов на питательную среду для укоренения, в условиях ламинар-бокса, ватно-марлевые пробки заменяли на ватные диски в соответствии со схемой эксперимента, фиксируя их с помощью термоусадочной пленки [18]. Культивирование осуществляли в пробирках диаметром 15 мм с объемом питательной среды 10 мл, при освещенности 2,0–3,0 клк с 16-ти часовым фотопериодом, температуре 25 ± 2 °С и относительной влажности воздуха 70 %. Снятие морфобиологических показателей проводили каждые 10 суток. Определение линейных размеров растений-регенерантов и длины

корней осуществляли при помощи линейки. Подсчет количества корней осуществлялся визуально.

Для адаптации к условиям *ex vitro* отбирали хорошо развитые микроклоны, высотой не менее 50 мм и имеющие не менее 3 шт. корней. В течение 5 или 10 сут. их выдерживали в пробирках с приоткрытым покрытием для постепенной адаптации к воздушно-газовому режиму [12, 13]. Поверхность питательной среды увлажняли автоклавированной дистиллированной водой, после чего излишек воды выливали. Затем подготовленные растения с остатком питательной среды на корнях высаживали в емкости объемом 200 мл со стерильными субстратами различного состава. Стерилизация субстрата проводилась в сухожаровом шкафу (150 °С) в течение 2 часов. Емкости с высаженными растениями помещали под покрытие из полиэтилена для обеспечения оптимального микроклимата. Условия культивирования: температура 24 ± 1 °С, влажность в течение первых 10 сут. – 85 ± 5 %, затем снижали до 70 %, освещенность 3 клк с соблюдением 16-часового фотопериода. Высокую влажность воздуха поддерживали мелкокапельным опрыскиванием.

Эксперименты проводили в трехкратной повторности, объем выборки 20 микроклонов.

Для статистической обработки экспериментальных данных использовали пакет прикладных программ Excel 2010 для Windows XP. В таблицах представлены средние значения и их стандартные ошибки. Достоверность различий оценивали по t-критерию Стьюдента при уровне значимости $P = 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На начальном этапе адаптации растений к нестерильным условиям зачастую наблюдается снижение интенсивности роста регенерантов, опадение листьев и даже гибель растений. Причинами являются физиологические нарушения, имеющие место у растений, полученных в асептической культуре, в первую очередь – интенсивная транспирация. Исследованиями [1] установлено, что интенсивность транспирации у растений малины, культивируемых *in vitro*, в 3 раза выше, чем у растений, приспособленных к естественной влажности воздуха. Однако в процессе адаптации растений-регенерантов к условиям *ex vitro* интенсивность транспирации постепенно снижается.

С целью предварительной адаптации растений, культивируемых *in vitro*, к воздушно-газовому режиму и сниженной влажности воздуха в работе использовали метод покрытия культивационных сосудов ватными (косметическими) дисками, предложенный С. А. Корнацким [18] и показавший высокую эффективность при культивировании *in vitro* косточковых культур.

Для этого при посадке микропобегов на среду для укоренения, в стерильных условиях, ватно-марлевые пробки заменяли на ватные диски. Поскольку толщина и плотность ватных дисков значительно ниже, чем ватно-марлевых пробок, газообмен внутреннего объема культивационного сосуда с окружающей средой значительно менее ограничен [18], следовательно, уже на этапе укоренения регенеранты могут

постепенно приспосабливаться к меньшей влажности воздуха и более интенсивному газообмену. В результате эксперимента получены следующие данные (табл. 1).

Установлено, что процесс ризогенеза протекал достаточно интенсивно в обоих вариантах эксперимента – уже на десятые сутки культивирования формирование корней было отмечено у 70,0–71,7 % микропобегов. В течение последующего культивирования процент укоренения повысился до 80,0–83,3 %. За 30 суток культивирования растения формировали 4,2–4,8 шт. корней, при этом средняя длина корней составляла 36,2–41,5 мм. Прирост побегов за этот период составил 19,4–21,4 мм.

Таблица 1

Влияние способа покрытия культивационных сосудов на интенсивность роста микроклонов ежевики сорта 'Triple Crown' *in vitro* (культивирование на питательной среде ½ МС с добавлением 0,2 мг/л ИМК)

Параметры роста	Длительность культивирования, сут.		
	10	20	30
Ватно-марлевая пробка			
Укореняемость, %	71,7±3,3	76,7±1,7	80,0±2,5
Количество корней, шт.	1,6±0,3	2,8±0,6	4,2±0,1
Длина корней, мм	7,8±0,6	21,4±1,7	36,2±2,8
Прирост побегов, мм	6,4±0,8	11,8±1,0	19,4±2,0
Ватный диск			
Укореняемость, %	70,0±1,6	78,3±3,3	83,3±5,0
Количество корней, шт.	1,3±0,2	3,5±0,4	4,8±0,3*
Длина корней, мм	8,4±0,9	24,8±1,3*	41,5±2,2*
Прирост побегов, мм	7,2±0,4	13,1±0,6	21,4±1,3

Примечание. Разница между вариантами достоверна при *P=0,05

Анализ указанных данных позволяет сделать вывод, что в целом, биометрические показатели при сравнении двух вариантов покрытия культивационных сосудов различались незначительно, однако количество сформированных корней в варианте с использованием в качестве покрытия ватных дисков к концу периода культивирования было достоверно выше и составляло 4,8±0,3 шт. В этом варианте также был выше показатель длины корней, составлявший на 20-е сутки культивирования 24,8±1,3 мм, на 30-е сутки – 41,5±2,2 мм. Известно [1, 8] что более развитая корневая система обеспечивает лучшую приживаемость и рост растений после высадки в нестерильные условия. Таким образом, анализ полученных данных позволяет выделить этот вариант культивирования микроклонов ежевики сорта 'Triple Crown' как оптимальный на данном этапе микроклонального размножения.

Для постепенной адаптации растений к воздушно-газовому режиму и естественной влажности воздуха отобранные микроклоны в течение 5 или 10 суток культивировали с приоткрытым покрытием, периодически увлажняя поверхность

питательной среды стерильной водой, после чего пересаживали их в подготовленный субстрат для адаптации к почвенным условиям. В результате эксперимента получены следующие данные (табл. 2).

Анализ полученных данных показал, что увеличение длительности культивирования в сосудах с приоткрытым покрытием способствовало более высокому количеству выживших растений. Так, при высадке микроклонов в субстрат после 5 суток культивирования с приоткрытой ватно-марлевой пробкой, уровень приживаемости составил 38,3 %, а после 10 суток этот показатель был в 1,4 раза выше (54,2 %). Разница между приживаемостью растений, высаженных после 5 и 10 суток культивирования с приоткрытым ватным диском была незначительна и составила 71,7 % и 82,0 % соответственно.

Таблица 2

Влияние покрытия культивационного сосуда и длительности предварительной подготовки на приживаемость микроклонов ежевики сорта 'Triple Crown' в условиях *ex vitro*, %

Вариант покрытия культивационного сосуда (фактор А)	Длительность предварительной подготовки, сут. (фактор В)		Средние по фактору А (НСР ₀₅ =3,8 (6,1 %))
	5	10	
Ватно-марлевая пробка	38,3	54,2	46,3
Ватный диск	71,7	82,0	76,9
Средние по фактору В (НСР ₀₅ =14,7 (9,0 %))	55,0	68,1	НСР ₀₅ =20,8 (12,8 %) для частных средних

Сравнение показателей влияния вариантов покрытия культивационных сосудов на приживаемость микроклонов в условиях *ex vitro* позволило выделить вариант использования ватных дисков. После 10 суток предварительной подготовки приживаемость микроклонов в варианте использования в качестве покрытия ватно-марлевых пробок составила 54,2 %, при использовании ватных дисков – 82,0 % (в 1,5 раза выше). Следует отметить, что даже при высадке растений в субстрат через 5 суток после нарушения целостности покрытия культивационных сосудов, в варианте с покрытием сосудов ватными дисками приживаемость составила 71,7 %, что является достаточно высоким показателем для приживаемости ягодных растений [1]. В среднем, приживаемость микроклонов после культивирования в сосудах с покрытием ватными дисками был существенно выше и составлял 76,9 %, чем при использовании ватно-марлевых пробок (46,3 %). Очевидно, использование ватных дисков для покрытия культивационных сосудов способствует созданию оптимального микроклимата, способствующего более эффективной последующей адаптации микроклонов к условиям *ex vitro*.

Большое значение при переводе растений-регенерантов в условия *ex vitro* придается вопросам подбора и оптимизации состава субстрата. К субстратам предъявляются следующие требования: высокая водо- и воздухопроницаемость, легкий гранулометрический состав и невысокая плотность. Для адаптации пробирочных растений ежевики сорта 'Triple Crown' в качестве субстратов использовали следующие смеси: торф с песком в соотношении 2 : 1 и торф с перлитом в таком же соотношении; торф с песком и почвой в соотношении 2 : 1 : 1 и торф с перлитом и почвой в таком же соотношении. В результате получены следующие данные (табл. 3).

Таблица 3

Влияние состава субстрата и вариантов покрытия культивационных сосудов на приживаемость микроклонов ежевики сорта 'Triple Crown' в условиях *ex vitro*

Компоненты субстрата	Соотношение компонентов	Приживаемость растений, %, из сосудов с покрытием	
		ватно-марлевая пробка	ватный диск
Торф + песок	2 : 1	37,5	62,5
Торф + перлит	2 : 1	47,8	76,0
Торф + песок + почва	2 : 1 : 1	45,8	80,8
Торф + перлит + почва	2 : 1 : 1	54,2	92,0
НСР ₀₅		5,9	6,1

Установлено, что приживаемость микроклонов ежевики сорта 'Triple Crown' на исследуемых субстратах варьировала в пределах 37,5–92,0 % в зависимости от состава субстрата и варианта покрытия культивационных сосудов на этапе укоренения. Анализ полученных данных показал, что лучше всего проходила адаптация микроклонов, высаженных из культивационных сосудов, покрытых ватными дисками. Приживаемость растений в условиях *ex vitro* варьировала от 62,5 до 92,0 % в зависимости от субстрата, тогда как приживаемость регенерантов из культивационных сосудов, покрытых ватно-марлевой пробкой, была значительно ниже и составляла 37,5–54,2 %. Наиболее высокий уровень приживаемости микроклонов ежевики сорта 'Triple Crown' был отмечен при использовании трехкомпонентного субстрата (торф, перлит, почва) в соотношении 2 : 1 : 1. Полученные нами данные согласуются с исследованиями ряда авторов [8, 9, 11], указывающих на эффективность использования для адаптации ягодных растений субстратов, содержащих перлит.

Таким образом, в результате исследований оптимизирован процесс адаптации растений-регенерантов ежевики сорта 'Triple Crown' к условиям *ex vitro*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Использование на этапе укоренения *in vitro* в качестве покрытия культивационных сосудов ватных дисков способствовало формированию у микроклонов ежевики сорта 'Triple Crown' более развитой корневой системы – количество корней составило $4,8 \pm 0,3$ шт., длина – $41,5 \pm 2,2$ мм.
2. Длительность предварительной адаптации к воздушно-газовому режиму оказывает влияние на приживаемость микроклонов *ex vitro*. Культивирование в сосудах с приоткрытым покрытием в течение 10 суток способствовало увеличению уровня приживаемости растений на субстратах в 1,1–1,4 раза.
3. Уровень приживаемости микроклонов ежевики сорта 'Triple Crown' в условиях *ex vitro* после 10 суток предварительной подготовки составил 54,2 % при использовании в качестве покрытия культивационных сосудов ватно-марлевых пробок и 82,0 % – при использовании ватных дисков.
4. Использование трехкомпонентного субстрата (торф, перлит, почва) в соотношении 2 : 1 : 1 способствовало существенному повышению уровня приживаемости микроклонов на этапе адаптации к условиям *ex vitro*.

Список литературы

1. Сковородников Д. Н. Адаптация полученных *in vitro* растений малины к нестерильным условиям / Д. Н. Сковородников, И. А. Райков, Д. Н. Челяев // Вестник Орел ГАУ. – 2012. – № 2 (35). – С. 70–72.
2. Муратова С. А. Размножение садовых культур *in vitro*: методические рекомендации / С. А. Муратова, Д. Г. Шорников, М. Б. Янковская – Мичуринск-научград, 2008. – 68 с.
3. Шорников Д. Г. Оптимизация условий культивирования *in vitro* ягодных и декоративных культур / Д. Г. Шорников, С. А. Брюхина, С. А. Муратова, М. Б. Янковская, Р. В. Папихин // Вестник ТГУ. – 2010. – Т. 15, вып. 2. – С. 640–645.
4. Яблонская М. И. Биотизация растений *in vitro* / М. И. Яблонская, М. С. Гинс, М. А. Молчанова // Вестник РУДН. Агрономия и животноводство. – 2016. – № 1. – С. 15–20.
5. Yildiz A. The effect of mycorrhiza in nutrient uptake and biomass of cherry rootstocks during acclimatization / A. Yildiz, A. Cagdas, A. Aslihan, Y. Yesim, S. Sedat, O. Ibrahim // Romanian Biotechnological Letters. – 2010. – Vol. 15, № 3. – P. 5246–5252.
6. Аладина О. Н. Адаптация микрорастений малины (*Rubus L.*) и сирени (*Syringa L.*) к нестерильным условиям / О. Н. Аладина, С. В. Акимова, И. С. Ковалева, С. О. Дубровская, Е. Р. Батрак, С. А. Аладин // Известия ТСХА. – 2009. – Вып. 3. – С. 98–109.
7. Дедюхина О. Н. Адаптация растений-регенерантов *Eremogone saxatilis* (L.) Иконн. к почвенным условиям / О. Н. Дедюхина, А. С. Константинова, О. Г. Баранова // Вестник Удмуртского университета. – 2011. – Вып. 3. – С. 31–35.
8. Деменко В. И. Адаптация растений, полученных *in vitro* к нестерильным условиям / В. И. Деменко, В. А. Лебедев // Известия ТСХА. – 2011. – Вып. 1. – С. 60–70.
9. Рундя А. П. Особенности адаптации ремонтантной малины в условиях *ex vitro* / А. П. Рундя // Почвоведение и агрохимия. – 2015. – № 1(54). – С. 223–230.
10. Галдина Т. Е. Совершенствование технологии доращивания растений, полученных в культуре ткани *in vitro* / Т. Е. Галдина // Успехи современной науки и образования. – 2017. – Т. 7, № 2. – С. 174–177.
11. Stoevska T. Micropropagation of Raspberries (*Rubus idaeus*) / T. Stoevska, A. Trifonova, D. Karadocheva // Biotechnology & Biotechnological Equipment, 1995. – Vol. 9, Issue 2–3. – P. 27–30.
12. Медведева Н. И. Особенности микроклонального размножения интродуцентов и клонов винограда / Н. И. Медведева, Н. В. Поливар, Л. П. Трошин // Научный журнал КубГАУ [Электронный ресурс]. – 2008. – № 40 (6). – Режим доступа: <http://ej.kubagro.ru/2008/06/pdf/18.pdf>.

13. Иванова-Ханина Л. В. Влияние состава субстрата на приживаемость микрорастений *Vitis vinifera* L. *in vivo* /Л. В. Иванова-Ханина // Экосистемы. – 2018. – № 13 (43). – С. 84–88.
14. Калинин Ф. Л. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений / Ф. Л. Калинин, В. В. Сарнацкая, В. Е. Полищук. – К.: Наукова думка, 1980. – 488 с.
15. Бутенко Р. Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений / Р. Г. Бутенко. – М.: Наука, 1964. – 272 с.
16. Иванова-Ханина Л. В. Влияние гормонального состава питательной среды на интенсивность роста ежевики *in vitro* /Л. В. Иванова-Ханина // Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского. Биология. Химия. – 2018. – Т. 4 (70), № 4. – С. 51–59.
17. Иванова-Ханина Л. В. Оптимизация условий введения малины и ежевики в культуру *in vitro* /Л. В. Иванова-Ханина // Научный журнал КубГАУ [Электронный ресурс]. – 2014. – № 101 (07). – Режим доступа: <http://ej.kubagro.ru/2014/07/pdf/25.pdf>.
18. Корнацкий С. А. Технологические подходы к использованию метода *in vitro* для массового производства растений косточковых культур / Корнацкий С. А. // Международный научно-исследовательский журнал. – 2016. – № 10 (52). Ч. 4. – С. 150–152.

ADAPTATION OF BLACKBERRY PLANTS-REGENERATORS TO *EX VITRO* CONDITIONS

Ivanova-Khanina L. V.

*V. I. Vernadsky Crimean Federal University», Simferopol, Crimea, Russia
E-mail: lidaivanova-khanina@rambler.ru*

Adaptation to *ex vitro* conditions is the final stage of the microclonal reproduction process, which significantly affects the economic efficiency of this process. The success of plant adaptation to non-sterile conditions depends on many factors: the type of plant, its biological requirements and the physiological state; composition, density and moisture of the substrate; relative humidity, light intensity, etc.

The goal of the work is to optimize the process of transferring the blackberry plants-regenerators variety 'Triple Crown', obtained *in vitro*, into *ex vitro* conditions.

The blackberry variety 'Triple Crown' was used as object for study, and has a set of economically valuable traits. Well-developed microclones were selected for adaptation to *ex vitro* conditions; they were cultivated during 5 or 10 days with jar cover (cotton-gauze plugs or cotton pads) half-opened for the gradual adaptation to the air-gas condition. It was established that the rhizogenesis process went quite intensively in both variants of experiment; and on the tenth day of cultivation the roots formation was noted for 70,0–71,7 % of microshoots. During further cultivation, the percentage of rooting increased up to 80,0–83,3 %. It was established that microclones cultivating in cultivation vessels covered with cotton pads stimulated a formation of a more eveloped root system; the average length of the roots was 41,5±2,2 mm. The value of this indicator during cultivation in vessels covered with cotton-gauze plugs was 36,2±2,8 mm.

Analysis of the obtained data showed that increasing the length cultivation in vessels with half-opened jar coating lead to a higher number of surviving plants. Planting microclones into the substrate after 5 days of cultivation with the cotton-gauze jar plug

gives survival rate about 38,3 %, and after 10 days it goes to 54,2 % (which 1,4 times higher). The survival rate of plants planted after cultivating with a slightly open cotton disc during 5 days was 72,0 %, after 10 days – 82,0 %.

The following substances were used as substrates: peat with sand (2 : 1), peat with perlite (2 : 1), peat with sand and soil (2 : 1 : 1) and peat with perlite and soil (2 : 1 : 1). The analysis of the obtained data showed that the adaptation of microclones planted from cultivation vessels covered with cotton pads was the best. Plant acclimation rate to *ex vitro* conditions varied from 62,5 to 92,0 % depending from substrate, whereas the acclimation rate for regenerants from cultivation vessels covered with a cotton-gauze plug was significantly lower and was 37,5–54,2 %. The highest level of microclones survival of blackberry varieties 'Triple Crown' was observed for using a three-component substrate (peat, perlite, and soil) in a ratio of 2 : 1 : 1.

The adaptation process for plants-regenerators of blackberry variety 'Triple Crown' to the *ex vitro* conditions has been optimized because of research.

Keywords: *ex vitro* adaptation, microclonal reproduction, blackberry, substrate

References

1. Skovorodnikov D. N., Raikov I. A., Chelyaev D. N. Adaptation of the raspberry plants obtained *in vitro* to non-sterile conditions, *Herald Orel SAU*, **2** (35), 70 (2012).
2. Muratova S. A., Shornikov D. G., Yankovskaya M. B. Reproduction of garden crops *in vitro*: guidelines, 68 (Michurinsk-naukograd, 2008).
3. Shornikov D. G., Bryukhina S. A., Muratova S. A., Yankovskaya M. B., Papikhin R. V. Optimization of berry and ornamental crops to cultivation conditions *in vitro*, *TSU Bulletin*, **15**, **2**, 640 (2010).
4. Yablonskaya M. I., Hins M. S., Molchanova M. A. Plant biotisation *in vitro*, *Vestnik RUDN. Agriculture and Livestock*, **1**, 15 (2016).
5. Yildiz A., Cagdas A., Aslihan A., Yesim Y., Sedat S., Ibrahim O. The effect of mycorrhiza in nutrient uptake and biomass of cherry rootstocks during acclimatization, *Romanian Biotechnological Letters*, **15**, **3**, 5246 (2010).
6. Aladina O. N., Akimova S. V., Kovaleva I. S., Dubrovskaya S. O., Batrak E. R., Aladin S. A. Adaptation of raspberry microplants (*Rubus L.*) and lilac (*Syringa L.*) to non-sterile conditions, *News of the TAA*, **3**, 98 (2009).
7. Dedyukhina O. N., Konstantinova A. S., Baranova O. G. Adaptation of regenerated plants *Ermegone saxatilis (L.)* Ikonn. to soil conditions, *Bulletin of Udmurt University*, **3**, 31 (2011).
8. Demenko V. I., Lebedev V. A. Adaptation of plants obtained *in vitro* to non-sterile conditions, *News of the TAA*, **1**, 60 (2011).
9. Rundya A. P. Specifics of remontant raspberry adaptation to *in vitro* conditions, *Soil Science and Agrochemistry*, **1** (54), 223 (2015).
10. Galdina T. E. Improving the growing technology of plants obtained *in vitro* tissue culture, *Progress in modern science and education*, **7**, **2**, 174 (2017).
11. Stoevska T., Trifonova A., Karadocheva D. Micropropagation of Raspberries (*Rubus idaeus*), *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, **9**, **2–3**, 27 (1995).
12. Medvedeva N. I., Polivara N. V., Troshin L. P. Specifics of microclonal propagation of introduced species and clones of grapes [Electronic resource], *Scientific Journal of KubSAU*, **40** (6) (2008). – Access Mode: URL: <http://ej.kubagro.ru/2008/06/pdf/18.pdf>.
13. Ivanova-Khanina L. V. Influence the composition of substrate on survival rate of microplants of *Vitis vinifera L. in vivo*, *Ecosystemy*, **13** (43), 84 (2018).
14. Kalinin F. L., Sarnatskaya V. V. and Polishchuk V. E. The culture of tissue methods in plant physiology and biochemistry, 488 (Kiev: Naukova Dumka, 1980).
15. Butenko R. G. The culture of isolated tissues and plant morphogenesis physiology, 272 (Moscow: Science, 1964).

16. Ivanova-Khanina L. V. Influence of the hormonal composition of nutrient medium on intensity of blackberry growth *in vitro*, *Scientific Notes of V. I. Vernadsky Crimean Federal University. Biology. Chemistry*, **4 (70), 4**, 51 (2018).
17. Ivanova-Khanina L. V. Optimizing conditions for introduction of raspberry and blackberry into cultivation *in vitro* [Electronic resource], *Scientific Journal of KubSAU*, **101 (07)** (2014). – Access Mode: URL: <http://ej.kubagro.ru/2014/07/pdf/25.pdf>.
18. Kornatsky S. A. Technological approaches to the *in vitro* method usage for mass production of stone fruit plants, *International Research Journal*, **10 (52), 4**, 150 (2016).