

УДК 634.1: 632.3: 576.3

**ОЗДОРОВЛЕНИЕ ПЛОДОВЫХ
И ЯГОДНЫХ КУЛЬТУР
ОТ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ
МЕРИСТЕМНЫМ МЕТОДОМ
*IN VITRO***

Костюк Марина Александровна
мл. научный сотрудник

Бунцевич Леонид Леонтьевич
канд. биол. наук
зав. лабораторией вирусологии

*Федеральное государственное
бюджетное научное учреждение
"Северо-Кавказский зональный
научно-исследовательский институт
садоводства и виноградарства",
Краснодар, Россия*

От качества производимых саженцев зависят состояние, урожайность и долговечность садов. Главным показателем качества саженцев является их безвирусный статус. Кроме того, для создания современных интенсивных насаждений требуются правильно сформированные, рано вступающие в плодоношение деревья. Улучшение качества посадочного материала может быть достигнуто с помощью развития специальных технологий и методов. Цель данной работы – анализ зарубежных и отечественных достижений в области производства оздоровленного посадочного материала и определение основных тенденций в развитии отрасли питомниководства. Как показал анализ научных публикаций, наибольшее количество работ сегодня отмечается в двух направлениях развития современного питомниководства плодовых и ягодных культур: оздоровление растений способом *in vitro* и микроклональное размножение; совершенствование технологий производства посадочного материала. Были выделены следующие направления, по которым идут исследования: разработка

UDC 634.1: 632.3: 576.3

**REVITALIZING OF FRUITS
AND BERRYS CROPS FROM VIRAL
INFECTIONS BY THE METHOD
OF MERISTEMS
*IN VITRO***

Kostyuk Marina
Junior Research Associate

Buntsevich Leonid
Cand. Biol. Sci.
Head of Laboratory of Virology

*Federal State Budgetary
Scientific Institution
«North Caucasian Regional
Research Institute
of Horticulture and Viticulture»,
Krasnodar, Russia*

The state, productivity and durability of gardens depend on quality of the produced saplings. The main indicator of saplings quality is their virus-free status. Besides, for the creation of modern intensive plantings the trees which are correctly created and early entering into fructification are required. Improvement of quality of landing material can be reached by means of development of special technologies and methods. The purpose of this work is the analysis of foreign and domestic achievements in the field of production of the revitalized landing material and definition of the main tendencies in the development of branch of a nursery industry. As the analysis of scientific publications has shown, the greatest number of practices is noted in two directions of development of a modern nursery industry of fruit and berry crops: the improvement of plants by the way *in vitro* and mikroclonal reproduction and the improvement of production technologies of landing material. The following directions of research have been selected: the development of optimal

оптимального состава питательных сред для микроразмножения плодовых и ягодных культур; подбор дезинфицирующих средств для санации эксплантов при введении в культуру и дальнейшем размножении; оптимизация физических факторов культивирования (освещение, температура, влажность и др.); подбор оптимальных условий для адаптации микрорастений к условиям *in vivo*. Сделан вывод, что опыт ведущих плодовооческих стран мира (США, Италия, Нидерланды, Германия, Бельгия, Польша и др.) по использованию оздоровленного посадочного материала позволило этим странам обеспечить высокую эффективность производства плодов и ягод. Поэтому в настоящее время в России особую актуальность приобретает вопрос перевода отрасли плодовоочесства на использование оздоровленного посадочного материала.

Ключевые слова: ВИРУСЫ ПЛОДОВЫХ И ЯГОДНЫХ КУЛЬТУР, ОЗДОРОВЛЕНИЕ, ПРОИЗВОДСТВО САЖЕНЦЕВ, БЕЗВИРУСНЫЙ ПОСАДОЧНЫЙ МАТЕРИАЛ, КУЛЬТУРА *IN VITRO*

structure of nutrient mediums for micro reproduction of fruit and berry crops; the selection of disinfectants for sanitation of explants when introduction to culture and further reproduction; the optimization of physical factors of cultivation (lighting, temperature, humidity, etc.); the selection of optimal conditions for adaptation of microplants to *in vivo* conditions. It is concluded that the experience of the leading fruit-growing countries of the world (USA, Italy, Netherlands, Germany, Belgium, Poland, etc.) on use of the revitalized landing material has allowed these countries to ensure the high production efficiency of fruits and berries. Therefore now in Russia special relevance is acquired by the question of transfer of fruit growing branch on the use of the revitalized landing material is particularly urgent.

Key words: VIRUSES OF FRUIT AND BERRIES CROPS, REVITALIZING, SEEDLING PRODUCTION, DISEASE-FREE PLANTING MATERIAL, CULTURE *IN VITRO*

Введение. Высокое качество посадочного материала – неперенное условие при закладке интенсивных насаждений яблони, сливы и других плодовых и ягодных культур. От качества производимых саженцев зависят состояние, урожайность и долговечность садов. Главным показателем качества саженцев является их безвирусный статус. Кроме того, для создания современных интенсивных насаждений требуются правильно сформированные, рано вступающие в плодоношение деревья. Улучшение качества посадочного материала может быть достигнуто с помощью развития специальных технологий и методов. Основными зарубежными производителями посадочного материала плодовых и ягодных культур на сегодняшний день являются питомниководческие хозяйства Италии, Польши, Нидерландов, Сербии, Германии, Молдовы, Греции, Турции.

В настоящее время в странах Европейского Союза закладывать насаждения несертифицированным посадочным материалом запрещено. Он производится, но не подлежит страхованию в странах ЕС, и чаще всего к нам в Россию попадает именно такой посадочный материал [1].

Цель данной работы – анализ зарубежных и отечественных достижений в области производства оздоровленного посадочного материала и определение основных тенденций в развитии отрасли.

Обсуждение. Анализ научных публикаций показал, что наибольшее количество исследований сегодня ведется в двух направлениях развития современного питомниководства плодовых и ягодных культур: оздоровление растений меристемным способом *in vitro* и микроклональное размножение; совершенствование технологий производства посадочного материала. На современном этапе развития питомниководства производство оздоровленного посадочного материала неразрывно связано с применением биотехнологических приемов.

Метод клонального микроразмножения стал незаменимым в системе производства плодовых и ягодных культур в связи с широким распространением, помимо грибных и бактериальных заболеваний, еще вирусных и фитоплазменных. Как известно, вирусные и фитоплазменные заболевания значительно снижают продуктивность промышленных насаждений плодовых и ягодных культур, а также снижают качество посадочного материала в питомниках и отрицательно влияют на продуктивность маточных плантаций клоновых подвоев [2, 3].

Ученые научно-исследовательской станции Wilhelminadorp в Нидерландах проводили оценку зараженных вирусами и свободных от заражения деревьев яблони сорта Голден Делишес, на протяжении более чем 14 лет. Урожайность с инфицированных деревьев была на 7,8 т/га ниже, чем со здоровых [4]. По данным немецких ученых Ленца и Ланкеса, только за счет использования оздоровленных саженцев яблони

урожайность деревьев в современных интенсивных садах, заложенных сортом Джонаголд на подвое М9, повышается на 42 % [5].

Иностранные питомники уже давно перешли на выращивание сертифицированного безвирусного посадочного материала. В Нидерландах свободный от вирусов посадочный материал в промышленных масштабах стали производить с 1974 года. Это привело к улучшению качества деревьев, более высокому качеству плодов и увеличению урожайности [4].

Обзор материала по вегетативному размножению плодовых и ягодных культур показывает, что оздоровление посадочного материала меристемным способом выполняет следующие задачи:

- повышение генетической однородности и урожайности;
- освобождение растений от вирусов и фитоплазм за счет использования меристемной культуры;
- возможность быстрого получения большого количества посадочного материала за счет высокого коэффициента размножения растений в культуре *in vitro*, возможности проведения работ в течение всего года;
- размножение растений, трудно размножаемых традиционными способами.

Были выделены следующие направления исследований.

Разработка оптимального состава питательных сред для микроразмножения плодовых и ягодных культур (подбор оптимальных сочетаний и концентраций всех компонентов среды, на всех этапах размножения). Для культивирования плодовых культур в культуре *in vitro* чаще всего используют среды Murashige – Skoog (MS), Driver – Kuniyuki (DKW), Lloyd – McCown (WPM), Нича, Гамборга, Хеллера, Уайта, Боксуса и другие [6, 7, 8, 9]. Для яблони и сливы чаще используют среду Мурасиге-Скуга в различных модификациях.

Турецкие учёные предположили, что оптимальной питательной средой для культивирования высших растений будет среда, содержащая органические и минеральные компоненты в таком соотношении, в котором они содержатся в семенах этих растений. Своё предположение они подтвердили экспериментом на гибридах фундука. Длина микропобегов на разработанной авторами среде была в 3 раза больше, а коэффициент размножения на 23% выше на испытываемой среде по сравнению с контролем (woody plant medium) [10].

Большинство авторов используют и сравнивают между собой на различных сортах растений определённый набор экзогенных стимуляторов роста – фитогормонов или их синтетических аналогов [11, 12]. Из цитокининов чаще применяется: 6-бензиламинопурин (БАП), 6-бензиладенин (БА). По мнению Fira Alexandru и др., яблони некоторых сортов (напр., Precose de Ardeal, Silvan) успешно размножаются при добавлении БАП в концентрации 7 мг/л [13]. Лучшие результаты по образованию побегов при микроразмножении вишни степной (*Cerasus fruticosa* Pallas) получали на среде РМ с 1 мг/л БАП, 0,1 мг/л ИМК и 10-20 г/л сахарозы [14].

А К. Magyar-Tabori и др. установили, что наивысшая степень укоренения (76 %) микропобегов яблони сорта Royal Gala была зафиксирована при культивировании перед укоренением на среде, содержащей 1,0 мг/л бензиладенина в течение 4 недель [15].

Из ауксинов чаще всего используется природный ауксин – индолил-3-уксусная кислота (ИУК) и его синтетический аналог – индолил-3-масляная кислота (ИМК). По мнению F. Sadeghi и др., наибольшее число побегов на сливе образуется при добавлении ИМК в концентрации 0,5 мг/л [16], а среда 0,5 МС с добавлением 2 мг/л ИМК наиболее пригодна для корнеобразования микрорастений вишни степной [14].

Микрорастения сливы китайской (*Prunus salicina*) успешно укореняли на 0,5 среде МС с добавлением 0,2-0,5 мг/л ИМК, 15 г/л сахарозы и 20-40 мг/л флороглюцина [17].

Из гиббереллинов применяют гибберелиновую кислоту (ГК), а также изучают воздействие на микрорастения таких веществ, как поливинилпиролон; поливинилполипиролон, миоинозитол, активированный уголь [18]. Единого мнения авторов о воздействии приведенных выше веществ на интенсивность роста, мультипликации и ризогенеза микропобегов плодовых культур в пробирке нет. Для каждого сорта растения следует подбирать свой состав среды для микроразмножения.

Подбор дезинфицирующих средств для санации эксплантов при введении в культуру и дальнейшем размножении (антибиотики, фунгициды и др.). В качестве стерилизующего раствора чаще всего используют хлорид ртути. Для стерилизации растительных тканей, вводимых в культуру *in vitro*, некоторые учёные предлагают использовать двухступенчатую стерилизацию, при которой экспланты сначала выдерживают в течение 2 секунд в 70 % этиловом спирте, а потом в течение 15 мин в 0,1-0,2% растворе сулемы. Длина растительных верхушек при этом должна составлять 2-3 см [15].

Оптимизация физических факторов культивирования (освещение, температура, влажность и др.). По мнению итальянских учёных Rosario Muleo и Stefano Morini, элонгация, мультипликация и рост стебля микрорастений яблони активнее происходит при красном спектре освещения эксплантов в фитотроне [19].

*Подбор оптимальных условий для адаптации микрорастений к условиям *in vivo** (состав почвенного субстрата – почвенно-торфяные субстраты, перлит, песок и др., освещение, температура, влажность) [20].

Основными плодовыми культурами для оздоровления и микроразмножения в культуре *in vitro* являются, яблоня, слива, вишня, персик, земляника, малина, подвои семечковых и косточковых пород.

Кроме того, в культуре *in vitro* выращивают орехоплодные, шелковицу, инжир, цитрусовые, цветочные, тропические и другие растения.

В Европейских странах оздоровлением посадочного материала занимаются специализированные центры, которые передают оздоровленный материал в питомники для размножения базисного материала, а уже размноженный базисный материал переходит в питомники для размножения сертифицированного посадочного материала.

В западных странах, например в США, при мощной государственной поддержке около 80 % саженцев производится в 10 крупных питомниках, во Франции — в 5 питомниководческих фирмах. А тысячи маленьких и средних питомников выращивают продукцию для них. Аналогичная ситуация сложилась и в других странах с развитым садоводством [1].

Крупные питомниководческие хозяйства (как например, итальянский питомник *Vivai Fratelli Zanzi*) чаще всего имеют свою собственную лабораторию, где получают оздоровленный посадочный материал; у них имеются собственные сертифицированные маточники подвоев, маточно-черенковые сады, то есть один питомник представляет собой научно-производственный центр [21]. В питомниках имеется современное техническое оснащение, а также база для хранения – это холодильные камеры, в которой хранятся свежевыкопанные саженцы до их реализации или посадки. Саженцы хранятся при температуре минус 1 - 0,5 °С и при относительной влажности воздуха 96-98 % [22].

Европейская система сертификации посадочного материала значительно отличается от Российской: сертификат выдается не на отдельное растение, а сертифицируется весь питомник, который бережет свою репутацию и уже сам заботится о качестве растений. Например, в Польше питомник должен соответствовать следующим требованиям:

– посадочный материал плодовых культур размножается исключительно от элиты, базисного материала или сертифицированных основных компонентов;

– растительный материал для размножения должен быть проверен на наличие вредных организмов (грибы, бактерии, вирусы, фитоплазмы, вредители) и свободен от них;

– питомник должен располагаться на почве свободной от таких патогенов, как *Globodera* spp. и *Synchytrium endobioticum*;

– поля элитного и сертифицированного посадочного материала родов *Prunus*, *Rubus* и *Fragaria* должны находиться на земле, свободной от нематод *Longidorus* spp. и *Xiphinema* spp.;

– обязательные условия: пространственная изоляция; сортовая чистота; состояние посадочного материала (вирусологический статус) должно периодически проверяться одним из методов, рекомендуемых Европейской и средиземноморской организацией по защите растений – ЕРРО.

Посадочный материал маркированный как VF (virus free) – без вирусов, должен быть свободен от любых вирусов и фитоплазменных микроорганизмов, в частности:

– для косточковых – *Plum pox potyvirus*, *Prune dwarf ilarvirus*, *Prunus necrotic ringspot ilarvirus* и др. [2];

– для яблони – *Apple chlorotic leafspot virus*, *Apple mosaic virus*, *Apple stem grooving virus*, *Apple stem pitting virus*, *Apple proliferation phytoplasma*, *Apple ring spot* и др.;

– для земляники – *Arabidopsis mosaic virus*, *Raspberry ringspot virus*, *Tomato black ring virus*, *Strawberry crinkle virus*, *Strawberry latent ringspot virus*, *Strawberry mild yellow edge virus* и др. [23].

Ари ван ден Берг пишет о том, что проверенный на наличие вирусов посадочный материал (из питомника) получает оранжевую этикетку. Еще не проверенный материал получает белую этикетку. Этикетка должна быть на каждом саженце, это необходимо, если вдруг возникнут какие-либо проблемы в будущем [4].

В настоящее время в странах с развитым садоводством (Польша, Голландия, Италия, Великобритания, Франция, Германия и т.д.) по технологиям выращивания саженцы яблони разделяют на однолетку, разветвлённую однолетку, двухлетку, двухлетний саженец с однолетней кроной "книп баум".

Сады яблони интенсивного типа закладываются в основном саженцами, выращенными по технологии «книп-баум» (цветущее дерево), то есть двухлетними саженцами с однолетней кроной уже сформированной в питомнике [24]. По данным Ван ден Берга, почти 100% саженцев яблони, производимых в Нидерландах, выращиваются по этой технологии [4]. В Польше, Италии и других странах – в среднем 50-90%. Такие саженцы вступают в плодоношение на год-два раньше однолетних, и они более продуктивны. На третий год сады, посаженные такими саженцами, полностью себя окупают, принося урожай 12-18 килограмм с одного дерева.

Саженцы косточковых пород (слива, вишня, черешня, абрикос, персик) высаживают традиционно однолетками. Среди методов получения саженцев наиболее популярен метод «зимней прививки» и окулировка «спящим глазком».

В публикациях также есть работы по изучению влияния различных диаметров подвоя (М9 и ММ106) на рост и развитие саженцев. Например, по данным ученых из Косово, высокий эффект на рост и развитие саженца дает окулировка на подвой диаметром 9-11 мм, но показатели зависят от сорта яблони [25].

Для индукции боковых ветвей саженцев плодовых культур в зарубежных питомниках проводят как прищипывание, так и обработки регуляторами роста. Из химических препаратов наилучший результат в сочетании с прищипыванием дает препарат Promalin (смесь гибберреловой кислоты и бензиладенина), в концентрации 25-50 мл/л с добавлением сурфактантов (ПАВ – Citowett или Tween), а также 4-6 кратная обработка

патерилом (чистый бензиладенин) [4]. Литовский ученый Kviklys D. считает, что лучший результат по кронированию яблони дает комбинированная обработка препаратом Arbolin 36SL и прищипывание [26]. По мнению M. Doric, N. Magazin и др., трехкратная обработка смесью 6-бензиламинопурина и гибберреловой кислоты в концентрации 450 µl l-1 приводит к увеличению количества ветвей и их длины и расширяет зону ветвления [27]. Кронирование саженцев с помощью стимуляторов является перспективным направлением в западном и отечественном питомниководстве [4, 26, 27, 28].

Заключение. Как показывает опыт ведущих плодородных стран мира (США, Италия, Нидерланды, Германия, Бельгия, Польша и др.), использование оздоровленного посадочного материала позволило им обеспечить высокую эффективность производства плодов и ягод.

В связи с этим в настоящее время в России особую актуальность приобретает вопрос перевода отрасли на использование оздоровленного посадочного материала.

Литература

1. Куликов, И.М. Инновационные направления в производстве сертифицированного посадочного материала плодовых и ягодных культур / И.М. Куликов // Плодоводство и ягодоводство России. Сборник трудов науч.-практ. конф. «Состояние садовых растений после зимы 2006/07 г. и проблемы их зимостойкости» (13 июня 2007 г.) и международ. науч.-практич. конф. «Инновационные направления в питомниководстве плодовых культур» (14-15 июня 2007 г.); под общей редакцией И.М. Куликова. – 2007. – Т.18. – С. 3-7.
2. Бунцевич, Л.Л. Фитосанитарная ситуация и сортовая политика в питомниководстве Краснодарского края / Л.Л. Бунцевич, М.А. Костюк, Е.Н. Палецкая, М.В. Макаркина // Плодоводство и виноградарство Юга России.– [Электронный ресурс]. – Краснодар: СКЗНИИСиВ, 2013. – № 20 (2). – С. 47-55. – Режим доступа: <http://www.journal.kubansad.ru/pdf/13/02/05.pdf>.
3. <http://www.activestudy.info/vyrashhivanie-elitnogo-posadochnogo-materiala-i-ego-vliyanie-na-produktivnost-plodovykh-nasazhdenij/>
4. Van den Berg, Arie. Certified Nursery Tree Production in Holland / As presented to growers during his visit to Australia in April 2002; reprinted with permission from Technical Bulletin of the Northern Victoria Fruitgrowers' Association (June 2002). – Режим доступа: <http://www.virtualorchard.net/idfta/cft/2003/august/page43.pdf>

5. Lenz, F. Certification scheme for fruit trees in Germany / F. Lenz, Chr. Lankes // *Agronomijas vēstis (Latvian Journal of Agronomy)*. - Jelgava, LLA, 2006. - No. 9. - P. 69-74.
6. Fallahpour, Maliheh. *In vitro* propagation of «Gisela 5» rootstock as affected by mineral composition of media and olant growth regulators / Maliheh Fallahpour, Seied Mehdi Miri, Naser Bouzari // *Journal of Horticultural Research*. – 2015. - Vol. 23 (1). – P. 57-64.
7. [Dobránszki](#), Judit. Micropropagation of apple — A review / [Judit Dobránszki](#), [Jaime A. Teixeira da Silva](#) // *Biotechnology Advances*. – July–August 2010. - Volume 28. - Issue 4. – P. 462-488.
8. Hauptmanová, A. The elimination of Plum pox virus in plum cv. Bluefree and apricot cv. Hanita by chemotherapy of *in vitro* cultures/ A. Hauptmanová, J. Polák // *Scientia Horticulturae*. (Prague). – 2011. – V.38. – №2. – P. 49-53.
9. Mohamed, Adel el-Sawy. Somaclonal Variation in Micro-propagated Strawberry Detected at the Molecular Level /Adel el-Sawy Mohamed // *International journal of Agriculture & Biology*. – 2007. - Vol. 9. - №. 5. – P. 721–725.
10. Nas, Mehmet Nuri. A hypothesis for the development of a defined tissue culture medium of higher plants and micropropagation of hazelnuts / Mehmet Nuri Nas, P.E. Read // *Scientia Horticulturae*. – 2004. –V. 101. – P. 189-200.
11. Nas, [Mehmet Nuri](#). The effects of explant and cytokinin type on regeneration of *Prunus microcarpa* / [Mehmet Nuri Nas](#), [Yuksel Bolek](#), [Nevzat Sevgin](#) // *Scientia Horticulturae*. - 13 September 2010. -Volume 126. - Issue 2. - Pages 88–94.
12. Magyar-Tábori, K. Effect of cytokinin content of the regeneration media on *in vitro* rooting ability of adventitious apple shoots /K. Magyar-Tábori, J. Dobránszki, I. Hudák // *Scientia Horticulturae*. - 2011. –V.129. - P. 910–913.
13. Fira, A. *In vitro* rooting and ex-vitro acclimation in apple (*Malus domestica*) / A. Fira, D. Clapa, C. Plopa. // *Cluj Napoca: Bul. Univ. Agr. Sci. and Vet. Med.* – 2010. – V. 67. – № 1. – P. 480.
14. Szczygieł Krystyna. Mikrorozmnażanie wisienki stepowej (*Cerasus fruticosa* Pallas) / Krystyna Szczygieł, Tomasz Wojda // *Lesne Prace Badawcze*. – 2010. – V. 71.– № 4. – P. 351-355.
15. Magyar-Tabori, K. Effect of cytokinin content of the regeneration media on *in vitro* rooting ability of adventitious apple shoots. / K. Magyar-Tabori, J. Dobranszki, I. Hudak // *Scientia Horticulturae*. – 2011. – № 129. – P. 910-913.
16. [Sadeghi](#), F. Optimizing culture media for *in vitro* proliferation and rooting of Tetra (*Prunus empyrean* 3) rootstock / [F. Sadeghi](#), [A. Yadollahi](#), [M. Jafarkhani Kermani](#), [M. Eftekhari](#) // [Journal of Genetic Engineering and Biotechnology](#). - June 2015. - [Volume 13](#). - [Issue 1](#). - Pages 19–23.
17. Zou, Ying-Ning. Micropropagation of Chinese plum (*Prunus salicina* Lindl.) using mature stem segments / Ying-Ning Zou. - *Cluj-Napoca: Not. bot. horti agrobot.* - 2010. – V. 38. - № 3. – P. 214-218.
18. Dennis Thomas, T. The role of activated charcoal in plant tissue culture / T. Dennis Thomas // *Biotechnology Advances*. – 2008. –V. 26. – P. 618–631.
19. Muleo, Rosario. Light quality regulates shoot cluster growth and development of MM106 apple genotype in *in vitro* culture / Rosario Muleo, Stefano Morini // *Scientia Horticulturae* - 2006. – V. 108. – P. 364–370.
20. Júnior, Donato Seidel. Ex vitro acclimatization of *Cattleya forbesii* and *Laelia purpurata* seedlings in a selection of substrates / Donato Seidel Júnior; Giorgini Augusto Venturieri // *Acta sci.Agron.* – 2011. – V. 33. - №1. – P. 97-103.
21. <http://www.vivaizanzi.it/>
22. <http://www.arno.agro.pl/>
23. Czynczyk, A. The polish system for the production of elite plants of pomological material / A. Czynczyk // *Agronomijas vēstis (Latvian Journal of Agronomy)*. - Jelgava, LLA, 2006. - No. 9. – P. 10-15.

24. Babuc, V. Planting stock production for the superintensive apple trees orchards / V. Babuc, E. Gudumac, O. Gudumac // Bulletin UASVM, Horticulture. – 2008. –V. 65(1). – P. 264-269.
25. Avdiu, Vahid. Effect of rootstock diameter on apple saplings growth / Vahid Avdiu, Fadil Thomaj, Sylë Sylanaj, Endrit Kullaj // Albanian j. agric. sci. – 2014. –V.13 (1). –P. 48-52.
26. Kviklys, D. Induction of feathering of apple planting material / D. Kviklys // Agronomijas vēstis (Latvian Journal of Agronomy). - Jelgava, LLA, 2006. - No. 9. – P. 58-63.
27. Doric, M. Enhancing feathering of one-year-old Gala and Jonagold apple trees through application of 6-benzylaminopurine and gibberellins / M. Doric, N. Magazin, B. Milic, Z. Keserovic // Bulg. J. Agric. Sci. - 2015. – V. 21. – P. 631-637.
28. Ненько, Н.И. Применение регуляторов роста в питомниководстве косточковых и семечковых культур / Н.И. Ненько, А.П. Кузнецова, А.А. Воронов, А.Н. Стародубцев, Л.А. Бадовская, В.П. Посконин // Садоводство и виноградарство. – 2009. – № 4. – С. 6-9.

References

1. Kulikov, I.M. Innovacionnye napravlenija v proizvodstve certificirovannogo posadochnogo materiala plodovyh i jagodnyh kul'tur / I.M. Kulikov // Plodovodstvo i jagodovodstvo Rossii. Sbornik trudov nauch.-prakt. konf. «Sostojanie sadovyh rastenij posle zimy 2006/07 g. i problemy ih zimostojkosti» (13 ijunja 2007 g.) i mezhdunarod. nauch.-praktich. konf. «Innovacionnye napravlenija v pitomnikovodstve plodovyh kul'tur» (14-15 ijunja 2007 g.): pod obshhej redakciej I.M. Kulikova. – 2007. – T.18. – S. 3-7.
2. Bunceвич, L.L. Fitosanitarnaja situacija i sortovaja politika v pitomnikovodstve Krasnodarskogo kraja / L.L. Bunceвич, M.A. Kostjuk, E.N. Paleckaja, M.V. Makarkina // Plodovodstvo i vinogradarstvo Juga Rossii.– [Elektronnyj resurs]. – Krasnodar: SKZNIISiV, 2013. – № 20 (2). – S. 47-55. – Rezhim dostupa: <http://www.journal.kubansad.ru/pdf/13/02/05.pdf>.
3. <http://www.activestudy.info/vyrashhivanie-ELITNOGO-posadochnogo-materiala-i-ego-vliyanie-na-produktivnost-plodovyx-nasazhdenij/>
4. Van den Berg, Arie. Certified Nursery Tree Production in Holland / As presented to growers during his visit to Australia in April 2002; reprinted with permission from Technical Bulletin of the Northern Victoria Fruitgrowers' Association (June 2002). – Rezhim dostupa: <http://www.virtualorchard.net/idfta/cft/2003/august/page43.pdf>
5. Lenz, F. Certification scheme for fruit trees in Germany / F. Lenz, Chr. Lankes // Agronomijas vēstis (Latvian Journal of Agronomy). - Jelgava, LLA, 2006. - No. 9. - P. 69-74.
6. Fallahpour, Maliheh. In vitro propagation of «Gisela 5» rootstock as affected by mineral composition of media and olant growth regulators / Maliheh Fallahpour, Seied Mehdi Miri, Naser Bouzari // Journal of Horticultural Research. – 2015. - Vol. 23 (1). – P. 57-64.
7. Dobránszki, Judit. Micropropagation of apple — A review /Judit Dobránszki, Jaime A. Teixeira da Silva //Biotechnology Advances. – July–August 2010. – Volume 28. – Issue 4. – P. 462-488.
8. Hauptmanová, A. The elimination of Plum pox virus in plum cv. Bluefree and apricot cv. Hanita by chemotherapy of in vitro cultures/ A. Hauptmanová, J. Polák // Scientia Horticulturae. (Prague). – 2011. – V.38. – №2. – P. 49-53.
9. Mohamed, Adel el-Sawy. Somaclonal Variation in Micro-propagated Strawberry Detected at the Molecular Level /Adel el-Sawy Mohamed // International journal of Agriculture & Biology. – 2007. - Vol. 9. – №. 5. – P. 721–725.
10. Nas, Mehmet Nuri. A hypothesis for the development of a defined tissue culture medium of higher plants and micropropagation of hazelnuts / Mehmet Nuri Nas, P.E. Read // Scientia Horticulturae. – 2004. –V. 101. – P. 189-200.

11. Nas, Mehmet Nuri. The effects of explant and cytokinin type on regeneration of *Prunus microcarpa* / Mehmet Nuri Nas, Yuksel Bolek, Nevzat Sevgin // *Scientia Horticulturae*. - 13 September 2010. - Volume 126. - Issue 2. - Pages 88–94.
12. Magyar-Tábori, K. Effect of cytokinin content of the regeneration media on in vitro rooting ability of adventitious apple shoots / K. Magyar-Tábori, J. Dobránszki, I. Hudák // *Scientia Horticulturae*. - 2011. – V.129. - P. 910–913.
13. Fira, A. In vitro rooting and ex-vitro acclimation in apple (*Malus domestica*) / A. Fira, D. Clapa, C. Plopa. // *Cluj Napoca: Bul. Univ. Agr. Sci. and Vet. Med.* – 2010. – V. 67. – № 1. – P. 480.
14. Szczygieł Krystyna. Mikrorozmnażanie wisienki stepowej (*Cerasus fruticosa* Pallas) / Krystyna Szczygieł, Tomasz Wojda // *Lesne Prace Badawcze*. – 2010. – V. 71.– № 4. – P. 351-355.
15. Magyar-Tabori, K. Effect of cytokinin content of the regeneration media on in vitro rooting ability of adventitious apple shoots. / K. Magyar-Tabori, J. Dobranszki, I. Hudak // *Scientia Horticulturae*. – 2011. – № 129. – P. 910-913.
16. Sadeghi, F. Optimizing culture media for in vitro proliferation and rooting of Tetra (*Prunus empyrean* 3) rootstock / F. Sadeghi, A. Yadollahi, M. Jafarkhani Kermani, M. Eftekhari // *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. - June 2015. - Volume 13. - Issue 1. - Pages 19–23.
17. Zou, Ying-Ning. Micropropagation of Chinese plum (*Prunus salicina* Lindl.) using mature stem segments / Ying-Ning Zou. - *Cluj-Napoca: Not. bot. horti agrobot.* - 2010. – V. 38. - № 3. – P. 214-218.
18. Dennis Thomas, T. The role of activated charcoal in plant tissue culture / T. Dennis Thomas // *Biotechnology Advances*. – 2008. –V. 26. – P. 618–631.
19. Muleo, Rosario. Light quality regulates shoot cluster growth and development of MM106 apple genotype in in vitro culture / Rosario Muleo, Stefano Morini // *Scientia Horticulturae* - 2006. – V. 108. – P. 364–370.
20. Júnior, Donato Seidel. Ex vitro acclimatization of *Cattleya forbesii* and *Laelia purpurata* seedlings in a selection of substrates / Donato Seidel Júnior; Giorgini Augusto Venturieri // *Acta sci.Agron.* – 2011. – V. 33. - №1. – R. 97-103.
21. <http://www.vivaizanzi.it/>
22. <http://www.arno.agro.pl/>
23. Czynczyk, A. The polish system for the production of elite plants of pomological material / A. Czynczyk // *Agronomijas vēstis (Latvian Journal of Agronomy)*. - Jelgava, LLA, 2006. - No. 9. – P. 10-15.
24. Babuc, V. Planting stock production for the superintensive apple trees orchards / V. Babuc, E. Gudumac, O. Gudumac // *Bulletin UASVM, Horticulture*. – 2008. –V. 65(1). – P. 264-269.
25. Avdiu, Vahid. Effect of rootstock diameter on apple saplings growth / Vahid Avdiu, Fadil Thomaj, Syljo Sylanaj, Endrit Kullaj // *Albanian j. agric. sci.* – 2014. –V.13 (1). –P. 48-52.
26. Kviklys, D. Induction of feathering of apple planting material / D. Kviklys // *Agronomijas vēstis (Latvian Journal of Agronomy)*. - Jelgava, LLA, 2006. – No. 9. – P. 58-63.
27. Doric, M. Enhancing feathering of one-year-old Gala and Jonagold apple trees through application of 6-benzylaminopurine and gibberellins / M. Doric, N. Magazin, B. Milic, Z. Keserovic // *Bulg. J. Agric. Sci.* – 2015. – V. 21. – P. 631-637.
28. Nen'ko, N.I. Primenenie reguljatorov rosta v pitomnikovodstve kostochkovyh i semechkovyh kul'tur / N.I. Nen'ko, A.P. Kuznecova, A.A. Voronov, A.N. Starodubcev, L.A. Badovskaja, V.P. Poskonin // *Sadovodstvo i vinogradarstvo*. – 2009. – № 4. – S. 6-9.