

**ОПТИМИЗАЦИЯ СИСТЕМ РЕГЕНЕРАЦИИ МИКРОПОБЕГОВ  
ГЕНОТИПОВ *FRAGARIA* × *ANANASSA (ROSACEAE)*,  
ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ СИБИРСКОГО РЕГИОНА**

**Е.В. Амброс, Ю.Г. Зайцева, А.А. Красников, Т.И. Новикова**

Центральный сибирский ботанический сад СО РАН,  
630090, Новосибирск, Золотодолинская, 101, e-mail: ambros\_ev@mail.ru

Разработаны эффективные технологии введения в культуру *in vitro* и микроклонального размножения трех генотипов земляники крупноплодной (*Fragaria* × *ananassa* Duch.), адаптированных для сибирского региона ('Солнечная полянка', 'Улыбка июня' и отборного гибрида 5-90-21) с использованием в качестве эксплантов апикальных меристем столонов. Оптимизирована схема стерилизации эксплантов с применением в качестве стерилизующего агента 0.2%-го раствора нитрата серебра. Изучено влияние 6-бензил-аминопурина (БАП) в концентрациях 0.25–2.0 мг/л на регенерационный потенциал эксплантов в культуре *in vitro* на средах по прописям Мурасиге–Скуга (МС) и Гамборга–Эвелге (B<sub>5</sub>). Установлено, что для инициации органогенеза у эксплантов сорта 'Улыбка июня' наилучшей средой является МС, дополненная 1.0 мг/л БАП, тогда как для гибридного образца 5-90-21 и сорта 'Солнечная полянка' – среда B<sub>5</sub>, содержащая ту же концентрацию БАП. Последующее культивирование развившихся микропобегов на средах для собственно размножения показало эффективность применения питательной среды B<sub>5</sub> с 0.75 мг/л БАП для всех генотипов: максимальное число пазушных побегов на эксплант, полученных у гибридного образца 5-90-21, составило 4.90 ± 0.35, у сортов 'Солнечная полянка' – 7.16 ± 0.33 и 'Улыбка июня' – 5.93 ± 0.39. Полученные результаты могут быть использованы для разработки систем производства оздоровленного посадочного материала земляники крупноплодной с помощью биотехнологических подходов.

**Ключевые слова:** земляника крупноплодная, клональное микроразмножение, питательные среды Мурасиге–Скуга, Гамборга–Эвелге, 6-бензиламинопурина.

**OPTIMIZATION OF MICROSHOOTS REGENERATION SYSTEMS  
OF *FRAGARIA* × *ANANASSA (ROSACEAE)* GENOTYPES  
PERSPECTIVED FOR SIBERIAN REGION**

**E.V. Ambros, Yu.G. Zaytseva, A.A. Krasnikov, T.I. Novikova**

Central Siberian Botanical Garden, SB RAS,  
630090, Novosibirsk, Zolotodolinskaya str., 101, e-mail: ambros\_ev@mail.ru

The effective technologies of *in vitro* establishment and micropropagation of three cultivated strawberry genotypes (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) acclimatized for Siberian region ('Sunny Glade', 'June Smile' and the selected hybrid of 5-90-21) have been developed using the stolon apical meristems as explants. The sterilization of explants was optimized by application of 0.2 % silver nitrate solution as a sterilizing agent. The effects of various 6-benzyl-aminopurine (BAP) concentrations (0.25–2.0 mg/l) on *in vitro* explant regeneration potential on Murashige–Skoog (MS) and Gamborg–Eveleigh (B<sub>5</sub>) media were studied. The best medium variant to initiate the organogenesis from 'June Smile' cultivar was MC supplemented with 1.0 mg/l BAP, whereas for 5-90-21 hybrid and 'Sunny Glade' cultivar it was B<sub>5</sub> with the same BAP concentration. Subsequent cultivation of the developed microshoots on media for micropropagation has shown the effectiveness of B<sub>5</sub> medium supplemented with 0.75 mg/l BAP for all genotypes: maximum number of axillary microshoots per explant was amounted to 4.90 ± 0.35 for hybrid 5-90-21, 7.16 ± 0.33 – for 'Sunny Glade' and 5.93 ± 0.39 – for 'June Smile'. The obtained results can be used for development of production system of a healthy planting strawberry material through biotechnological approaches.

**Key words:** cultivated strawberry, micropropagation, Murashige–Skoog's medium, Gamborg–Eveleigh's medium, 6-benzylaminopurine.

**ВВЕДЕНИЕ**

Земляника крупноплодная (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) – одна из ведущих ягодных культур в мировом масштабе. Ее несомненные достоинства – это

раннеспелость, скороплодность, богатый биохимический состав, питательные и лечебно-профилактические свойства плодов. Высокий адаптив-

ный потенциал земляники (Hancock et al., 1991) позволяет успешно выращивать ее и в условиях Западной Сибири и рассматривать как основную ягодную культуру региона. Мировой и отечественный опыт возделывания земляники крупноплодной свидетельствует о четырех основных факторах, определяющих ее урожайность: оптимальном уровне агротехники, экологических условиях выращивания, использовании адаптированных высокопродуктивных сортов, закладке плантаций из здорового посадочного материала (Агафонова, Иванова, 2001). В связи с этим включение в производство высококачественного посадочного материала, свободного от вирусов, фитоплазменных патогенов, которые значительно снижают урожайность земляники крупноплодной, имеет особое значение. Для оздоровления растительного материала и ускоренного размножения растений широко применяются биотехнологические подходы. К преимуществам размножения растений *in vitro* относятся не только возможность размножения востребованных сортов за короткий период и длительное сохранение растительного материала в условиях *in vitro*, но и высокая экономическая эффективность метода (Mott, 1981; Chawla, 2002; Kaur et al., 2005; Mohan et al., 2005; Mercado et al., 2007). Кроме того, современными исследованиями показано, что растения, полученные с помощью

методов *in vitro*, характеризуются фено- и генотипической однородностью, высокой жизнеспособностью, адаптивностью и продуктивностью по сравнению с растениями, размноженными традиционными способами (Boxus et al., 1984; Cameron et al., 1989; Lopez-Aranda et al., 1994; Nehra et al., 1994; Karhu, Hakala, 2002; Zebrowska et al., 2003; Kikas et al., 2006; Debnath, 2009; Gantait et al., 2010).

Технологии клонального микроразмножения земляники крупноплодной детально разработаны и в настоящее время широко используются в практике (Высоцкий, 1998; Boxus, 1999; Kaur et al., 2005; Sakila et al., 2007; Debnath, Teixeira da Silva, 2007). Однако сибирский сортимент отличается от европейского, а морфогенетический потенциал культивируемых тканей во многом зависит от генотипа и условий культивирования. Следовательно, разработка эффективных и воспроизводимых систем регенерации растений в условиях *in vitro* для размножения сортов, адаптированных к биотическим и абиотическим факторам Западной Сибири, актуальна.

Цель настоящего исследования – введение в культуру *in vitro* и микрклональное размножение ценных сортов *F. × ananassa* для использования в системе производства оздоровленного посадочного материала в условиях Западной Сибири.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектами для исследований послужили сорта и отборный образец земляники крупноплодной (*F. × ananassa*): ‘Солнечная полянка’, ‘Улыбка июня’, гибрид 5-90-21 (“Юбилейная Лутова”), любезно предоставленные В.И. Лутовым (СХА “Сады Сибири”, Новосибирская обл., пос. Ленинский). Изучаемые сорта характеризуются высокими показателями основных хозяйственно ценных признаков в условиях Западной Сибири (Стольников, 2014). В качестве исходного растительного материала использовали столоны в начале их отрастания, которые брали с опытных растений, произрастающих в теплице с середины апреля по май.

На этапе введения в культуру *in vitro* проводили стерилизацию исходного материала четырьмя способами (табл. 1). Перед стерилизацией столоны отмывали в проточной воде с использованием моющего средства “Fairy” (Procter & Gamble). В качестве стерилизующих агентов использовали: этиловый спирт, гипохлорит натрия, нитрат серебра.

После стерилизации кончик побега помещали в чашку Петри с 0.25%-м раствором аскорбиновой кислоты, где под стереомикроскопом МСП-1 “Ломо” (Россия) освобождали апикальную меристему. Для культивирования *in vitro* брали экспланты длиной около 3–5 мм, включающие конус нарастания с двумя листовыми примордиями. За-

тем изолированные меристемы культивировали в течение 2–3 суток без доступа света на модифицированной безгормональной жидкой питательной среде Мурасиге–Скуга (МС) (Murashige, Skoog,

Таблица 1

Схемы стерилизации столонов *F. × ananassa* изучаемых генотипов

№ п/п	Способ стерилизации
1	70%-й раствор этилового спирта (2 с) 1.0%-й раствор гипохлорита натрия (15 мин) Стерильная дистиллированная вода (3-кратно по 10 мин)
2	70%-й раствор этилового спирта (2 с) 2.0%-й раствор гипохлорита натрия (15 мин) Стерильная дистиллированная вода (3-кратно по 10 мин)
3	1.0%-й раствор гипохлорита натрия (10 мин) Дистиллированная вода (2-кратно по 10 мин) 70%-й раствор этилового спирта (2 с) 0.1%-й раствор нитрата серебра (5 мин) Стерильная дистиллированная вода (3-кратно по 10 мин)
4	1.0%-й раствор гипохлорита натрия (10 мин) Дистиллированная вода (2-кратно по 10 мин) 70%-й раствор этилового спирта (2 с) 0.2%-й раствор нитрата серебра (3 мин) Стерильная дистиллированная вода (3-кратно по 10 мин)

1962) с половинным содержанием микро- и макроэлементов, 2 % сахарозы, дополненной антиоксидантом глутатионом в концентрации 100 мг/л.

Для инициации органогенеза использовали агаризованные среды по прописям МС и Гамборга-Эвелегга (B<sub>5</sub>) (Gamborg, Eveleigh, 1968), содержащие 100 мг/л глутатиона и цитокинин 6-бензил-аминопурин (БАП) в различных концентрациях (0.0; 0.25; 0.5; 0.75; 1.0; 2.0 мг/л). Через 6 недель культивирования подсчитывали долю стерильных жизнеспособных эксплантов и количество микропобегов, сформировавшихся на эксплант.

С целью оптимизации этапа собственно размножения микропобеги, полученные на стадии инициации культуры *in vitro*, отделяли от первичного экспланта и культивировали на питательных средах МС и B<sub>5</sub>, содержащих БАП в концентрациях: 0.0; 0.25; 0.5; 0.75; 1.0 мг/л. Подсчет числа микропобегов на эксплант, длину микропобегов и количество листьев, сформировавшихся на микропобег, проводили через 6 недель. Культуры содержали под люминесцентными лампами дневного света

с интенсивностью 3000 лк с периодом освещения 16 часов при температуре 23 ± 2 °С.

Оценку внешней морфологии эксплантов с индуцированными побегами проводили в Центре коллективного пользования ЦСБС СО РАН с использованием стереомикроскопа Carl Zeiss Stereo Discovery. V 12 с цветной цифровой камерой Axio-Cam HRC и программой AxioVision 4.8 для получения, обработки и анализа изображений.

Эксперименты выполнены в трех повторностях по 20 эксплантов в каждом опыте. Статистическую обработку и анализ полученных данных проводили с помощью программ Microsoft Excel 7.0 и Statistica 8.0. Результаты представлены в виде средних значений и стандартных ошибок ( $M \pm m$ ). Для сравнения средних значений независимых выборок использовали многокритериальный тест Дункана. Взаимодействие между факторами “генотип”, “состав среды”, “концентрация БАП” оценивали с помощью многофакторного дисперсионного анализа. Различия считали достоверными при достигнутом уровне значимости  $p = 0.05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### Влияние способов стерилизации на стерильность и жизнеспособность эксплантов

Традиционно для клонального микроразмножения земляники крупноплодной в качестве эксплантов используют апикальные меристемы вегетативных побегов – столонов (Sowik et al., 2001). Апикальные меристемы – надежный тип эксплантов с точки зрения генетической стабильности образцов (Debnath, Teixeira da Silva, 2007). Кроме то-

го, использование апикальных меристем для размножения *in vitro* предпочтительно вследствие низкого инфекционного фона (Говорова, Говоров, 2004; Высоцкий, Алексеенко, 2005; Деменко, 2006). Сведения о приемах стерилизации различных культур представлены в ряде протоколов (Sathyanarayana, Varghese, 2007). При проведении стерилизации апикальных меристем земляники обычно используют 0.1–0.2%-й раствор хлорида ртути, который токсичен для растительных тканей и не безопасен в использовании. Поэтому необходимость подбора наименее токсичных реагентов, обеспечивающих быстрое разрушение и вывод из растительных тканей, является актуальной задачей. С этой целью в нашем эксперименте применялась ступенчатая стерилизация с использованием трех стерилизующих агентов: этилового спирта, гипохлорита натрия и азотно-кислого серебра в различных концентрациях и комбинациях. Результаты выполненных исследований показали различную эффективность обработок на стерильность и жизнеспособность эксплантов (табл. 2). Среди испытанных стерилизаторов растворы этилового спирта и гипохлорита натрия обладали наименьшим стерилизующим эффектом, а также не оказали положительного действия на жизнеспособность растительного материала. Применение этих растворов в сочетании с азотно-кислым серебром значительно увеличило выход жизнеспособных эксплантов, свободных от контаминации в условиях *in vitro* (способы № 3, 4). Максимальный эффект (до 99.7 %) получен при стерилизации, где в качестве основного стерилизующего агента использован 0.2%-й раствор нитрата серебра (способ № 4).

Таблица 2

### Влияние способов стерилизации на стерильность и жизнеспособность эксплантов *F. × ananassa* при введении в культуру *in vitro*

Сорт	Способ стерилизации*, № п/п	Экспланты, %	
		стерильные	жизнеспособные
‘Солнечная полянка’	1	46.33 ± 1.86 <sup>c</sup>	17.33 ± 0.88 <sup>b</sup>
	2	51.67 ± 1.76 <sup>c</sup>	15.00 ± 0.58 <sup>b</sup>
	3	66.33 ± 3.71 <sup>b</sup>	65.00 ± 3.00 <sup>a</sup>
	4	79.67 ± 0.88 <sup>a</sup>	66.00 ± 3.61 <sup>a</sup>
Гибрид 5-90-24	1	27.00 ± 0.58 <sup>c</sup>	9.00 ± 0.58 <sup>c</sup>
	2	30.67 ± 0.88 <sup>c</sup>	12.67 ± 1.21 <sup>c</sup>
	3	69.33 ± 0.88 <sup>b</sup>	39.67 ± 2.91 <sup>b</sup>
	4	97.00 ± 2.52 <sup>a</sup>	92.67 ± 1.86 <sup>a</sup>
‘Улыбка июня’	1	10.67 ± 0.88 <sup>d</sup>	5.00 ± 0.58 <sup>d</sup>
	2	29.00 ± 1.00 <sup>c</sup>	7.33 ± 0.88 <sup>c</sup>
	3	71.33 ± 1.86 <sup>b</sup>	69.00 ± 0.58 <sup>b</sup>
	4	99.67 ± 0.33 <sup>a</sup>	99.67 ± 0.33 <sup>a</sup>

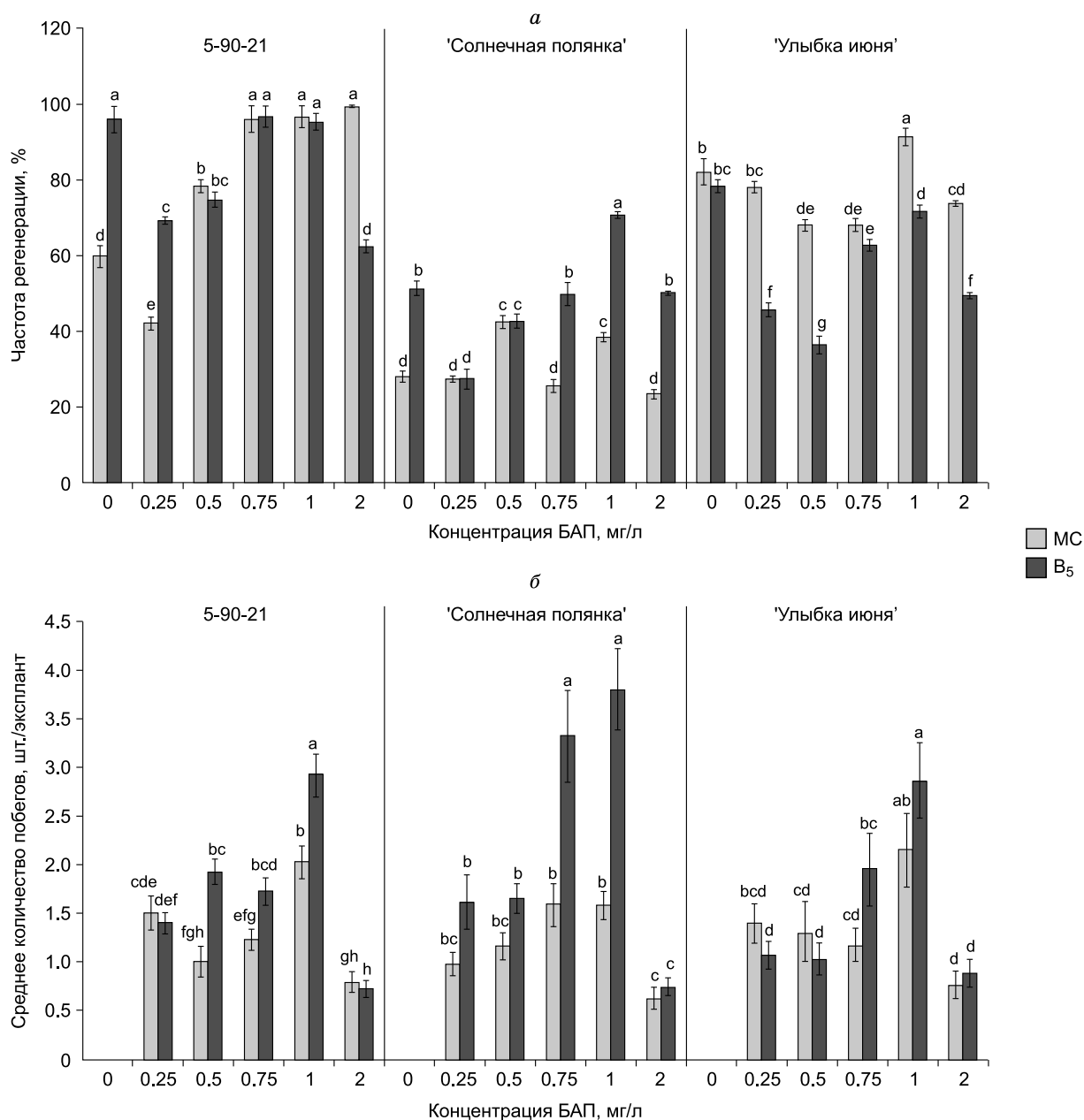
*Примечание.* Представлены средние значения ± стандартная ошибка; значения, за которыми следуют одинаковые буквы, не имеют значимого отличия друг от друга в соответствии с тестом Дункана.

\*Способы стерилизации приведены в табл. 1.

## РЕГЕНЕРАЦИОННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ЭКСПЛАНТОВ НА ЭТАПЕ ИНИЦИАЦИИ КУЛЬТУРЫ *IN VITRO*

Реализация морфогенетического потенциала растений в условиях *in vitro* зависит от генотипа, состава питательной среды и оптимальных концентраций экзогенных регуляторов роста. Известно, что основной проблемой на этапе инициации морфогенеза *in vitro* у земляники крупноплодной является угнетение ростовых процессов у растений продуктами фенольного окисления, которые обычно замедляют деление и рост клеток, что ве-

дет к гибели первичного экспланта или к уменьшению способности тканей к регенерации (EiKichaoui, 2014). Для снижения токсичного действия полифенолов на этапе введения в культуру *in vitro* апикальные меристемы земляники крупноплодной культивировали на жидкой питательной среде в темноте, дополненной антиоксидантом. Затем экспланты переносили на индукционные среды, содержащие регулятор роста БАП в различных



**Рис. 1.** Влияние компонентов питательной среды и концентрации БАП на частоту регенерации (а) и среднее число пазушных микропобегов  $F \times$  *ananassa* на этапе инициации *in vitro* через 6 недель культивирования (б).

Данные представлены в виде  $M \pm m$ ; значения, за которыми следуют одинаковые буквы, не имеют значимого отличия друг от друга в соответствии с тестом Дункана при  $p = 0.05$ . Взаимодействие между факторами "генотип", "состав среды", "концентрация БАП" оценено с помощью многофакторного дисперсионного анализа. Различия между факторами статистически достоверны при  $p = 0.05$ .



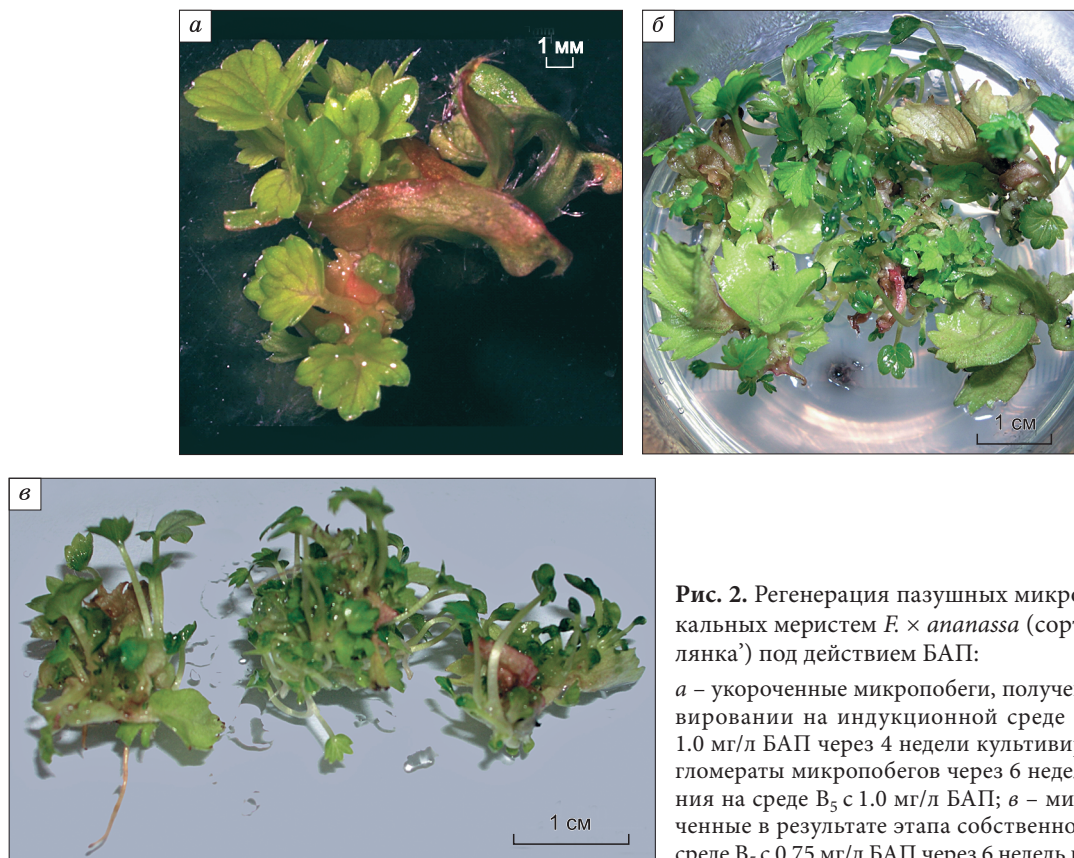
концентрациях, который чаще других цитокининов используется в качестве промотора пробуждения пазушных почек у земляники крупноплодной (Marcotrigiano et al., 1984; Simpson, Bell, 1989; Mahmood et al., 1994; Ashrafuzzaman et al., 2013; Поляков, Линник, 2014). Результаты нашего эксперимента показали, что использование питательных сред, содержащих БАП, стимулировало процессы регенерации и пролиферации в тканях эксплантов в сравнении с контрольной безгормональной средой, при этом регенерационный потенциал различался в зависимости от генотипа. Частота регенерации варьировала от 23 до 97 %, а среднее количество образовавшихся пазушных побегов составило от 0.63 до 3.81 шт. на эксплант (рис. 1, а, б). На данном этапе выявлено, что изолированные апексы сорта 'Солнечная полянка' обладали меньшим регенерационным потенциалом в условиях *in vitro* по сравнению с другими исследованными генотипами. Изменчивость частоты регенерации при введении апикальных меристем *in*

*vitro* обусловлена индивидуальными особенностями сортов, связанными с интенсивностью выделения фенолов в питательную среду, и как следствие, жизнеспособностью эксплантов при дальнейшем культивировании. В вариантах испытанных сред положительное влияние на индукцию органогенеза у всех генотипов отмечено при концентрации 1.0 мг/л БАП. Относительно высокая концентрация (2.0 мг/л) хотя и стимулировала регенерацию *in vitro*, но количество пазушных побегов на эксплант было 2.5–5.1 раза меньше в зависимости от генотипа и минерального состава питательной среды. Установлено, что изолированные апексы различных генотипов земляники крупноплодной по-разному реагировали на состав компонентов индукционной среды. Для гибридного образца 5-90-21 и сорта 'Солнечная полянка' оптимальной была среда В<sub>5</sub>, дополненная 1.0 мг/л цитокинина. Апикальные меристемы сорта 'Улыбка июня' активно пролиферировали на среде МС с 1.0 мг/л БАП.

#### ВЛИЯНИЕ СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ И КОНЦЕНТРАЦИИ БАП НА ИНТЕНСИВНОСТЬ МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ *F. × ANANASSA IN VITRO*

Установлено, что испытанные генотипы проявляли различную реакцию на состав компонентов питательной среды не только на этапе инициации, но и на этапе собственно размножения. Большинство работ по клональному микрораз-

множению земляники крупноплодной выполнено на основе питательной среды МС (Kyte, Kleyn, 2010). Однако для каждого сорта оптимальная среда должна подбираться индивидуально (Miller, Chandler, 1990; Nehra et al., 1994; Деменко, 2005).

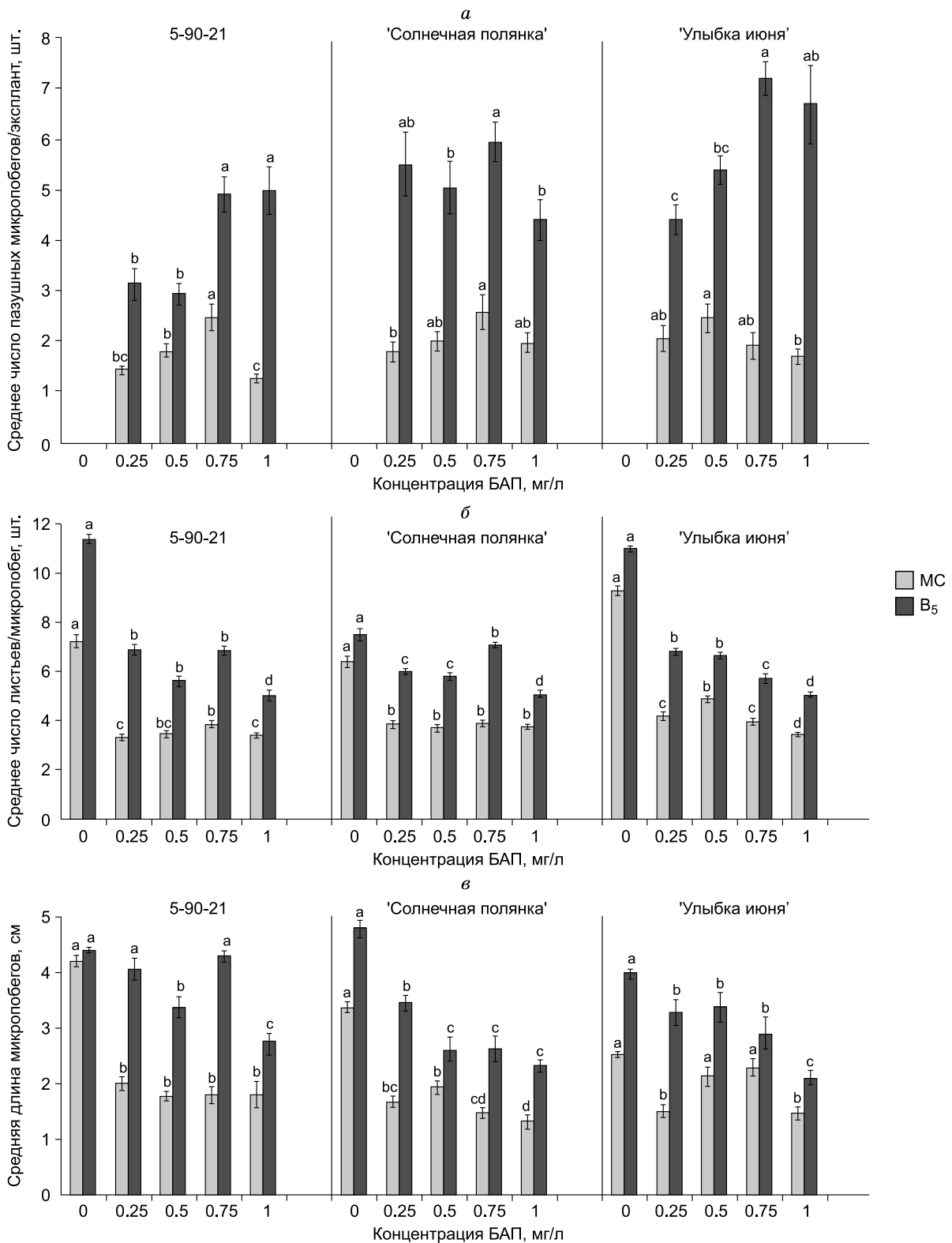


**Рис. 2.** Регенерация пазушных микропобегов из апикальных меристем *F. × ananassa* (сорт 'Солнечная полянка') под действием БАП:

а – укороченные микропобегов, полученные при культивировании на индукционной среде В<sub>5</sub>, дополненной 1.0 мг/л БАП через 4 недели культивирования; б – конгломераты микропобегов через 6 недель культивирования на среде В<sub>5</sub> с 1.0 мг/л БАП; в – микропобегов, полученные в результате этапа собственно размножения на среде В<sub>5</sub> с 0.75 мг/л БАП через 6 недель культивирования.

Наиболее высокую пролиферативную активность в нашем эксперименте обеспечивала среда с минеральной основой по прописи В<sub>5</sub>. Среда МС, хотя и

была пригодна для размножения, но в меньшей степени способствовала индукции развития пазушных микропобогов (рис. 2). Известно, что



**Рис. 3.** Влияние минерального состава питательной среды и концентрации БАП на пролиферацию и морфометрические параметры микропобогов *F. × ananassa* на этапе собственно размножения *in vitro* через 6 недель культивирования (а-в).

Остальные пояснения см. рис. 1.

реализация морфогенетического потенциала у растений в значительной степени определяется формой азота и его концентрацией (Катаева, Бутенко, 1983). Среда МС характеризуется повышенным содержанием неорганического азота в виде  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  (1650 мг/л) и  $\text{KNO}_3$  (1900 мг/л), в ряде случаев негативно влияя на клональное микро-размножение некоторых растений (Расторгуев, 2012). В опытах этого автора аммонийно-нитратная форма азота в виде добавления в среду  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  не оказывала значительного эффекта на пролиферацию побегов земляники. Уменьшение стандартного содержания  $\text{KNO}_3$  в среде в 8 раз существенно снижало побегообразовательную способность эксплантов, а также средний показатель длины сформировавшихся побегов – регенерантов. По мнению В.М. Тюленева (1996), ионы  $\text{NH}_4^+$  необходимы для закладки зачаточных структур, а ионы  $\text{NO}_3^-$  требуются для дальнейшего их развития.

Результаты нашего эксперимента показали, что среда  $\text{V}_5$ , содержащая  $\text{KNO}_3$  в количестве 2500 мг/л и  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  в концентрации 134 мг/л, является оптимальной на стадии собственно раз-

множения изучаемых сортов земляники. При этом интенсивная стимуляция образования микропобегов для всех генотипов отмечена при добавлении в среду концентрации 0.75 мг/л БАП, в среднем по 5–7 микропобегов на эксплант (рис. 3). Увеличение концентрации БАП до 1.0 мг/л приводило к уменьшению побегообразования.

Полученные нами результаты согласуются с данными работ (Marcotrigiano et al., 1984; Mahmood et al., 1994; Ashrafuzzaman et al., 2013), в которых наибольшая пролиферативная активность проявлялась на средах, дополненных 0.5 мг/л БАП, по сравнению с концентрациями 1.0–3.0 мг/л. Дисперсионный анализ показал значимое влияние факторов “генотип”, “концентрация БАП”, “состав среды” не только на среднее количество пазушных микропобегов, но и на морфометрические параметры регенерантов. Обнаружено, что длина пазушных микропобегов и число листьев на микропобег у всех исследованных сортов были достоверно выше при культивировании на среде с минеральным составом по прописи  $\text{V}_5$  (см. рис. 3).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате выполненных исследований нами разработаны технологические приемы получения жизнеспособного исходного материала *F. × ananassa*, свободного от контаминации из изолированных апикальных меристем, а также оптимизированы приемы размножения *in vitro* для трех сортов земляники крупноплодной, адаптированных для сибирского региона. Установлено, что на этапе инициации регенерационный потенциал апикальных меристем земляники крупноплодной зависит от генотипа, минерального состава питательной среды при оптимальной концентрации 1.0 мг/л БАП. На этапе собственно размножения изучаемых сортов *F. × ananassa* проявлялись генотипиче-

ские различия в интенсивности регенерационных процессов в ответ на минеральный состав среды и гормональное воздействие цитокинином БАП. При этом наиболее эффективно для исследованных генотипов использование питательной среды по прописи  $\text{V}_5$ , дополненной 0.75 мг/л БАП.

При подготовке публикации использовались материалы Биоресурсной научной коллекции ЦСБС СО РАН, УНУ “Коллекции живых растений в открытом и закрытом грунте”, USU 440534.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований и Правительства Новосибирской области в рамках научного проекта № 17-44-540339.*

## ЛИТЕРАТУРА

- Агафонова З.Я., Иванова К.А.** Выращивание здоровой рассады земляники в Северо-Западной зоне. М., 2001. 53 с.
- Высоцкий В.А.** Биотехнологические методы в системе производства оздоровленного посадочного материала и селекции плодовых и ягодных растений: Автореф. дис. ... д-ра с.-х. наук. М., 1998. 44 с.
- Высоцкий В.А., Алексеенко Л.В.** Становление и развитие биотехнологических исследований в садоводстве // Плодоводство и ягодоводство России. М., 2005. Т. XII. С. 337–342.
- Говорова Г.Ф., Говоров Д.Н.** Земляника: прошлое, настоящее, будущее. М., 2004. 348 с.
- Деменко В.И.** Проблемы и возможности микроклонального размножения садовых растений. Введение в культуру // Изв. ТСХА. 2005. Вып. 2. С. 48–58.
- Деменко В.И.** Биологические и технологические особенности вегетативного способа размножения в системе производства посадочного материала: Дис. ... д-ра с.-х. наук. М., 2006. 329 с.
- Катаева Н.В., Бутенко Р.Г.** Клональное микро-размножение растений. М., 1983. 96 с.
- Поляков А.В., Линник Т.А.** Производство оздоровленного посадочного материала сортов земляники садовой (*Fragaria × ananassa* Duch.) с низкой усообразующей способностью методом клонального микро-размножения *in vitro* // Вестн. МГОУ. 2014. № 3. С. 35–41.
- Расторгуев С.Л.** Разработка приемов размножения земляники в системе *in vitro* // Вестн. МичГАУ. 2012. Ч. 1, № 1. С. 10–13.

- Стольников Н.П.** Культура земляники в Западной Сибири. ФГБНУ "НИИСС". Барнаул, 2014. 182 с.
- Тюленев В.М.** Индукция морфогенеза из изолированных соматических тканей яблони и груши // Индукция морфогенеза и тканевая селекция плодовых и ягодных культур: Метод. рекомендации. Мичуринск, 1996. С. 4–23.
- Ashrafuzzaman M., Faisal S.M., Yadav D., Khanam D., Raihan F.** Micropropagation of strawberry (*Fragaria ananassa*) through runner culture // Bangladesh J. Agril. Res. 2013. V. 38, No. 3. P. 467–472.
- Boxus P.** Micropropagation of strawberry via axillary shoot proliferation // (Ed.) R.D. Hall. Plant cell culture protocols. Methods in molecular biology. Pt III. Plant propagation *in vitro*. Totowa NJ, 1999. P. 103–114.
- Boxus P., Damiano C., Brasseur E.** Strawberry // (Eds.) D.A. Amirato, P.V. Evans, W.R. Sharp, Y. Yamada. V. 3. Crop species. N.Y., 1984. P. 453–486.
- Cameron J.S., Hancock J.F., Flore J.A.** The influence of micropropagation on yield components, dry matter partitioning and gas exchange characteristics of strawberry // Sci. Hort. 1989. V. 38. P. 61–67.
- Chawla H.S.** Introduction to plant biotechnology. New Delhi, India, 2002. P. 39.
- Debnath S.C.** Characteristics of strawberry plants propagated by *in vitro* bioreactor culture and *ex vitro* propagation method // Eng. Life Sci. 2009. V. 9, No. 3. P. 239–246.
- Debnath S.C., Teixeira da Silva J.A.** Strawberry culture *in vitro*: applications in genetic transformation and biotechnology // Fruit, Veg. Cereal Sci. Biotech. 2007. V. 1, No. 1. P. 1–12.
- ElKichaoui A.Y.** *In vitro*, propagation of strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) through organogenesis via runner tips // Ann. Plant Sci. 2014. V. 3, No. 3. P. 619–627.
- Gamborg O.L., Eveleigh D.E.** Culture methods and detection of glucanases in suspension cultures of wheat and barley // Can. J. Biochem. 1968. V. 46, No. 5. P. 417–421.
- Gantait S., Mandal N., Bhattacharyya S., Das P.K.** Field performance and molecular evaluation of micropropagated strawberry // Rec. Res. Sci. Tech. 2010. V. 2, No. 5. P. 12–16.
- Hancock J.F., Maas J.L., Shanks C.H., Breen P.J., Luby J.J.** Strawberries (*Fragaria*) // Acta Hort. 1991. V. 290. P. 491–548.
- Karhu S., Hakala K.** Micropropagated strawberries on the field // Acta Hort. 2002. V. 567. P. 321–324.
- Kaur R., Goutam H., Sharma D.R.** A low cost strategy for micropropagation of strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) cv. Chandler // Acta Hort. 2005. V. 696. P. 129–133.
- Kikas A., Libek A., Vasar V.** Influence of micropropagation on the production of strawberry runner plants, yield and quality // Acta Hort. 2006. V. 708. P. 241–244.
- Kyte L., Kleyn J.** Plants from test tubes: an introduction to micropropagation (third edition). Portland, London, 2010. 240 p.
- Lopez-Aranda J.M., Pliego-Alfaro E., Lopez-Navidad I., Barceló-Muñoz E.** Micropropagation of strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.). Effect of mineral salts, benzyladenine levels and number of subcultures on the *in vitro* and field behavior of the obtained microplants and the fruiting capacity of their progeny // J. Hort. Sci. 1994. V. 69, No. 4. P. 625–637.
- Mahmood S., Rashid H., Quraishi A., Iqbal N., Arjuman S.S.** Clonal propagation of strawberry through tissue culture // Pakistan J. Agric Res. 1994. V. 15, No. 1. P. 54–59.
- Marcotrigiano M., Swartz H.J., Gray S.E., Tokaricky D., Popenoe J.** The effect of benzylaminopurine on the *in vitro* multiplication rate and subsequent field performance of tissue culture propagation strawberry plant // Adv. Strawberry Prod. 1984. V. 3. P. 23–25.
- Mercado J.A., Pliego-Alfaro E., Quesada M.A.** Strawberry / (Eds.) E.C. Pua, M.R. Davey // Biotechnology in agriculture and forestry. V. 60. Transgenic Crops V. Berlin; Heidelberg, 2007. P. 309–328.
- Miller A.R., Chandler C.K.** Plant regeneration from excised cotyledons of mature strawberry achenes // HortScience. 1990. V. 25, No. 5. P. 569–571.
- Mohan R., Chui E.A., Biasi L.A., Soccol C.R.** Alternative *in vitro* propagation: use of sugarcane bagasse as a low cost support material during rooting stage of strawberry cv. Dover // Braz. Arch. Biol. Tech. 2005. V. 48. P. 37–42.
- Mott R.L.** Trees / (Ed.) B.V. Conger // Cloning agricultural plants via *in vitro* techniques. Boca Ratan, 1981. P. 217–254.
- Murashige T., Skoog F.A.** Revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plant. 1962. V. 15, No. 13. P. 473–497.
- Nehra N.S., Kartha K.K., Stushnoff C., Giles K.L.** Effect of *in vitro* propagation methods on field performance of two strawberry cultivars // Euphytica. 1994. V. 76. P. 107–115.
- Sakila S., Ahmed M.B., Roy U.K., Biswas M.K., Karim R., Razvy M.A., Hossain M., Islam R., Hoque A.** Micropropagation of strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) a newly introduced crop in Bangladesh // American-Eurasian J. Sci. Res. 2007. V. 2. P. 151–154.
- Sathyanarayana B.N., Varghese D.B.** Plant tissue culture: practices and new experimental protocols // Chapter 5. Sterilization techniques. New Delhi, India, 2007. P. 54–63.
- Simpson D.W., Bell J.A.** The response of different genotypes of *Fragaria × ananassa* and their seedling progenies to *in vitro* micropropagation and the effects of varying the concentration of 6-benzylaminopurine in the proliferation medium // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 1989. V. 17. P. 225–234.
- Sowik I., Bielenin A., Michalczyk L.** *In vitro* testing of strawberry resistance to *Verticillium dahliae* and *Phytophthora cactorum* // Sci. Hort. 2001. V. 88. P. 31–40.
- Zebrowska J.I., Czernas J., Gawronski J., Hortynski J.A.** Suitability of strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) microplants to the field cultivation // Food Agr. Environ. 2003. V. 1. P. 190–193.