

Оптимизация питательных сред для клонального микроразмножения сорта-подвоя винограда Кобер 5ББ

Игорь Владимирович Гавриленко¹, инженер-исследователь лаборатории биоинженерии и функциональной геномики растений, salamprolam@bk.ru; <https://orcid.org/0000-0002-8284-5941>;

Юлия Сергеевна Матяш¹, инженер-исследователь лаборатории биоинженерии и функциональной геномики растений, yuliyasimfer@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-9724-9774>;

Ангела Владимировна Гавриленко¹, инженер-исследователь лаборатории биоинженерии и функциональной геномики растений; <https://orcid.org/0000-0002-6304-5914>;

Дмитрий Александрович Шанин¹, лаборант-исследователь лаборатории биоинженерии и функциональной геномики растений, dsanin97@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-0377-9323>;

Ирина Александровна Павлова², канд. биол. наук, ст. науч. сотр., вед. науч. сотр. лаборатории генетики, биотехнологий селекции и размножения винограда, pavlovairina1965@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-0818-8215>;

Владимир Владимирович Лиховской², д-р с.-х. наук, врио директора, director@magarach-institut.ru; <https://orcid.org/0000-0003-3879-0485>

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Никитский ботанический сад – Национальный научный центр» РАН», 298648, Россия, Республика Крым, г. Ялта, пгт. Никита, спуск Никитский, 52

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Всероссийский национальный научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия «Магарач» РАН», 298600, Россия, Республика Крым, г. Ялта, ул. Кирова, 31

Аннотация. Сорт винограда Кобер 5 ББ (Берландиери x Рипариа Кобер 5ББ) – один из основных подвоев, используемых в питомниководстве для получения привитых саженцев, поэтому в настоящее время крайне актуально создание маточников данного подвоя посадочным материалом категории «оригинальный». Это объясняет необходимость проведения исследований, связанных с оптимизацией условий культивирования сорта Кобер 5ББ, для повышения эффективности массового клонального микроразмножения с сохранением его генетической однородности и стабильности. Целью исследования являлась оптимизация и подбор питательных сред для клонального микроразмножения сорта-подвоя Кобер 5 ББ на этапе тиражирования (микрочеренкования). Материалом для исследований служили растения *in vitro* сорта подвоя Кобер 5ББ, свободные от основной патогенной инфекции (по результатам тестирования). Исследования проводили на средах: MS; WPM; DKW; PG (контроль). В качестве регуляторов роста использовали GA (гиббереллиновая кислота) в концентрациях: 0,2; 0,6; 1; 1,4 мг/л в сочетании с NAA (α-нафтилуксусная кислота) 0,05 мг/л. Показано, что растения на среде WPM, содержащей NAA-0,05 мг/л, по биометрическим показателям превосходили развившиеся на среде PG с аналогичным гормональным составом. Проведенные исследования по оптимизации среды культивирования для ускорения ростовых процессов позволили по результатам биометрических показателей выделить блок сред с основой WPM для размножения сорта-подвоя Кобер 5 ББ на этапе микрочеренкования. После проведения дополнительных исследований с расширенной выборкой среды WPM можно будет рекомендовать для клонального микроразмножения винограда на этапе микрочеренкования.

Ключевые слова: *in vitro*; питательная среда; эксплант; побег; гиббереллиновая кислота (GA); α-нафтилуксусная кислота (NAA); морфогенез; микрочеренкование.

ORIGINAL RESEARCH

Optimization of nutrient media for clonal micropropagation of the rootstock grape variety 'Kober 5BB'

Igor Vladimirovich Gavrilenko¹, Yulia Sergeevna Matyash¹, Angela Vladimirovna Gavrilenko¹, Dmitriy Alexandrovich Shanin¹, Irina Aleksandrovna Pavlova², Vladimir Vladimirovich Likhovskoi²

¹Federal State Budgetary Institution of Science Nikitsky Botanical Garden – National Scientific Center of the RAS, 52 Nikitskiy Spusk str., Nikita Settlement, 298648 Yalta, Republic of Crimea, Russian Federation

²Federal State Budget Scientific Institution All-Russian National Research Institute of Viticulture and Winemaking Magarach of the RAS, 31 Kirova Str., 298600 Yalta, Republic of Crimea, Russian Federation

Abstract. The grape variety 'Kober 5 BB' ('Berlandieri x Riparia Kober 5BB') is one of the main rootstocks used in rootstock-growing farming to obtain grafted seedlings. Currently it is a hot issue to create nurseries for the rootstock grapevine with planting material of the "original" category. This explains the need for research related to optimization of cultivation conditions of the variety 'Kober 5BB' to increase the efficiency of mass clonal micropropagation while retaining its genetic homogeneity and stability. The aim of the study was to optimize and select nutrient media for clonal micropropagation of the rootstock variety 'Kober 5 BB' at the stage of tiraging (micropropagation by cutting). The material of research was the *in vitro* plants of 'Kober 5BB' rootstock variety, free from basic pathogenic infection (according to the test results). The studies were carried out on media: MS; WPM; DKW; PG (control). Gibberellic acid (GA) was used as a growth regulator at concentrations: 0.2; 0.6; 1; 1.4 mg/l in combination with NAA (α-naphthyl acetic acid) 0.05 mg/l. Plants on WPM medium containing NAA-0.05 mg/l in biometric parameters were superior to those grown on PG medium with a similar hormonal composition. According to the results of biometric parameters the studies on optimization of the culture medium for accelerating growth processes made it possible to isolate a group of media with a WPM base for propagation of the rootstock variety 'Kober 5 BB' at the stage of microcutting. After additional studies with expanded selection, the WPM medium can be recommended for clonal micropropagation of grapes at the stage of microcutting.

Key words: *in vitro*; nutrient medium; explant; shoot; gibberellic acid (GA); α-naphthyl acetic acid (NAA); morphogenesis; microcutting.

Как цитировать эту статью:

Гавриленко И.В., Матяш Ю.С., Гавриленко А.В., Шанин Д.А., Павлова И.А., Лиховской В.В. Оптимизация питательных сред для клонального микроразмножения сорта-подвоя винограда Кобер 5ББ // «Магарач». Виноградарство и виноделие, 2020; 22(4); С. 298-305. DOI 10.35547/IM.2020.19.99.002

How to cite this article:

Gavrilenko I.V., Matyash Yu.S., Gavrilenko A.V., Shanin D.A., Pavlova I.A., Likhovskoi V.V. Optimization of nutrient media for clonal micropropagation of the rootstock grape variety 'Kober 5BB'. Magarach. Viticulture and Winemaking, 2020; 22(4):298-305. DOI 10.35547/IM.2020.19.99.002 (in Russian)

УДК 634.8:581.16.04

Поступила 16.10.2020

Принята к публикации 19.11.2020

© Авторы, 2020

Введение. Современное питомниководство должно базироваться на производстве высококачественного посадочного материала, основываясь на применении наукоёмких, экологичных агробiotехнологий. Использование технологии клонального микроразмножения винограда *in vitro* позволяет провести оздоровление исходного первичного материала и за короткое время получить массив полноценных саженцев высоких категорий качества [1–5]. Производство такого посадочного материала возможно только в научных учреждениях или специализированных лабораториях, оснащенных соответствующим оборудованием, с использованием новейших методов биотехнологии. Показано, что закладка насаждений посадочным материалом, свободным от системных хронических заболеваний, значительно повышает продуктивность, долговечность, устойчивость к неблагоприятным факторам окружающей среды [1–7].

Для размножения сортов подвоев используют среды: B5 (Gamborg et al., 1968), MS (Murashige Skoog, 1962), WPM (Lloyd, McCown, 1981), DKW (Драйвер, Куниюки, 1984), PG (Zlenko, V.A. et al., 1995) [2, 7–12]. В Институте «Магарач» разработаны методические рекомендации по клональному микроразмножению винограда, универсальная среда PG (*plant growth*), на которой успешно размножаются сорта винограда различного происхождения, методика соматического эмбриогенеза из клеток суспензионных культур 6-ти сортов винограда [2, 13–15]. В научных учреждениях мира продолжают исследования по подбору и оптимизации сред культивирования для этапов размножения различных сортов винограда в условиях *in vitro* [16–26]. Это связано с генетической специфичностью морфогенеза у сортов винограда различного происхождения, что в конечном итоге влияет на эффективность технологии клонального микроразмножения. В связи с этим являются актуальными исследования по оптимизации питательных сред для массового размножения винограда в условиях *in vitro*.

Сорт винограда Кобер 5 ББ (Берландиери х Рипариа Кобер 5ББ) – один из основных подвоев, используемых в питомниководстве для получения привитых саженцев, поэтому в настоящее время крайне актуально создание маточников данного подвоя посадочным материалом категории «оригинальный». Это объясняет необходимость проведения исследований, связанных с оптимизацией условий культивирования сорта Кобер 5ББ, для повышения эффективности массового клонального микроразмножения с сохранением его генетической однородности.

Целью исследования является оптимизация и подбор питательных сред для клонального микроразмножения сорта-подвоя Кобер 5 ББ на этапе тиражирования (микрочеренкования).

Материалы и методы исследования. Работа прово-

Таблица 1. Питательные среды для клонального микроразмножения винограда

Table 1. Nutrient media for clonal micropropagation of grapes

Компоненты среды Макроэлементы, мг/л	Питательные среды			
	MS*	WPM**	DKW***	PG****
NH ₄ NO ₃	1650	400	1416	308
KNO ₃	1900	-	-	922
MgSO ₄ ·7H ₂ O	370	370	741	597
KH ₂ PO ₄	170	170	265	82
CaCl ₂	300	300	300	300
K ₂ SO ₄	-	990	1560	-
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	-	236	236	-
Fe-хелат (г/л)				
FeSO ₄ ·7H ₂ O	28	28	28	28
Na ₂ ЭДТА·Н ₂ O	37,3	37,3	37,3	37,3
Микроэлементы	МС			
H ₃ BO ₃	6,2	6,2	4,8	3,2
MnSO ₄ ·H ₂ O	16,9	22,3	33,5	0,85
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8,6	8,6	0,7	4,3
KJ	0,83	-	-	0,42
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,25	0,25	0,39	0,125
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,025	0,25	0,25	0,013
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0,025	-	-	0,013
Витамины				
Мезо-инозит	100	100	100	20
Тиамин-HCl	0,1	1,0	2,0	0,1
Пиридоксин-HCl	0,5	0,5	2,0	0,2
Никотиновая кислота	0,5	0,5	1,0	0,5
Глицин	-	2,0	2,0	2,0
Другие вещества				
Сахароза, г	20	30	30	10
Агар-агар, г	7,5	7,5	7,5	7,5
Гумат Na	-	-	-	30
pH	5,6-5,8	5,6-5,8	5,6-5,8	5,6-5,8

Примечания:

*Murashige T. and Skoog F., *Physiol. Plant*, 1962;15:473.

**Lloyd G. and McCown. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. B., *Int. PlantProp. Soc. Proc.* 1981;30:421.

***Driver, J.A., Kuniyuki, A.H. *In Vitro Propagation of Paradox Walnut Rootstock*, *Hort. Science*, 1984;19(4)

****Zlenko, V.A., Troshin, L.P. and Kotikov, I.V. An optimized medium for clonal micropropagation of grapevine, *Vitis*. 1995;34:125-126.

дилась в лаборатории биоинженерии и функциональной геномики растений ФГБУН «Никитский ботанический сад – Национальный научный центр» РАН», отделение «Приморское».

Материалом для исследований служили растения *in vitro* сорта подвоя Кобер 5ББ, свободные от основной патогенной инфекции (по результатам тестирования). Количество эксплантов в эксперименте – 640 шт., на каждый вариант среды приходилось по 32 эксплантов.

В процессе исследований использовали как принятые в биотехнологии методы, так и методы, разработанные в отделе селекции Института «Магарач» [13, 14, 26].

Исследования проводили на средах: MS; WPM; DKW; PG (*plant growth*) (контроль, табл. 1). В качестве регуляторов роста использовали GA (гибберрелиновая кислота) в концентрациях: 0,2; 0,6; 1; 1,4 мг/л в сочетании с NAA (α -нафтилуксусная кислота) 0,05 мг/л.

В стерильных условиях двухглазковые экспланты побегов высаживали на питательную среду в культуральные сосуды объемом 0,5 л по 8 шт. Культивирование растений осуществлялось при 16-часовом фотопериоде, освещенности интенсивностью 2000 люкс, температуре +25°C.

Наблюдение и оценку биометрических показателей проводили спустя 30 дней и 50 дней после начала культивирования. Эффективность питательной среды оценивали по результатам укоренения и биометрическим показателям полученных растений. Рассматривали следующие показатели: длина побега, количество узлов на побег, количество корней, длина наибольшего корня.

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью программы Microsoft Excel.

Результаты и обсуждение. Первое обследование растений проводили через 30 дней после посадки. Существенных отличий в развитии растений на средах с различными основами и гормональными добавками не было выявлено. Доля укоренившихся побегов по средам с основами MS и DKW была невысокой и значительно варьировала по вариантам. По укоренению побегов на средах с PG и WPM разница была несущественна. На средах PG с НУК 0,05 мг/л и WPM с НУК 0,05 мг/л и GA 0,6 мг/л укоренение побегов достигало 100%. В среднем по средам укоренение было более высоким на среде WPM. По всем средам, не содержащим GA, укоренение было выше, чем в среднем по средам с одинаковой основой (рис. 1).

После 50 дней культивирования наблюдались значительные отличия по значению биометрических показателей растений, культивированных на средах с различным составом (табл. 2). Дополнение сред GA в разных концентрациях при постоянной концентрации NAA не показало положительного эффекта на ускорение ростовых процессов. На средах с основой DKW явно прослеживалась тенденция уменьшения значений биометрических показателей с увеличением концентрации GA. По всем средам укоренение и биометрические показатели были выше на средах, не содержащих GA. Существенная разница по всем средам была только по показателю "средняя длина побега".

На рис. 2 наглядно показаны образцы растений, полученные на разных средах. Растения на всех средах с основой WPM выделялись по своим морфологическим показателям. Самые низкие показатели отмечены на средах с основой

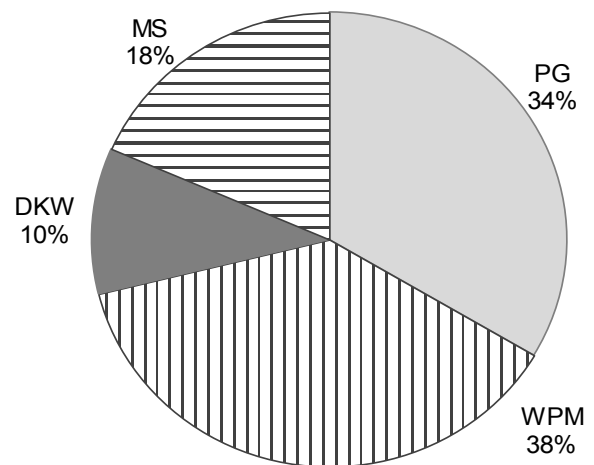


Рис. 1. Результаты укоренения растений на средах, содержащих 0,05 мг/л NAA

Figure 1. Results of rooting plants on media, containing 0,05 mg/l NAA

DKW.

На среде WPM биометрические показатели растений были выше, чем на средах с другими основами за аналогичный период культивирования (рис. 3).

Показано, что растения на среде WPM, содержащей NAA-0,05 мг/л, по биометрическим показателям

Таблица 2. Биометрические показатели растений винограда после 50 дней культивирования

Table 2. Biometric parameters of grape plants after 50 days of cultivation

Питательная среда	Концентрация гормонов, (мг/л)		Средняя длина побега, см	Среднее количество узлов, шт.	Процент укоренившихся растений, %	Среднее количество корней, шт.	Среднее значение длины главного корня, см
	GA	NAA					
PG	0	0,05	6,3	6,0	100	2,9	6,1
	0,2	0,05	5,1	5,0	90,6	1,4	5,3
	0,6	0,05	3,7	2,8	50	0,8	3,3
	1,0	0,05	5,6	4,3	96,9	1,2	6,3
	1,4	0,05	4,4	3,1	87,5	1,6	4,6
	Среднее значение			5,0	4,2	85,0	1,6
WPM	0	0,05	7,3	6,1	96,9	3,3	10,5
	0,2	0,05	6,3	4,9	90,6	2,2	10,8
	0,6	0,05	6,6	4,9	100	2,2	10,1
	1,0	0,05	6,3	4,0	93,8	2,1	8,9
	1,4	0,05	6,5	3,6	96,9	2,0	8,9
	Среднее значение			6,6	4,7	95,6	2,4
DKW	0	0,05	4,3	3,0	56,3	1,7	3,5
	0,2	0,05	3,0	2,0	43,8	0,8	2,1
	0,6	0,05	2,2	0,5	9,4	0,2	0,3
	1,0	0,05	1,9	0,1	6,3	0,3	0,3
	1,4	0,05	2,2	0,6	15,6	0,3	0,4
	Среднее значение			2,7	1,2	26,3	0,7
MS	0	0,05	5,7	5,1	84,4	1,9	4,0
	0,2	0,05	3,4	2,3	50	1,0	1,5
	0,6	0,05	3,3	2,1	46,9	0,8	1,7
	1,0	0,05	2,2	0,8	21,9	0,3	0,9
	1,4	0,05	3,3	1,4	31,3	1,0	2,4
	Среднее значение			3,6	2,3	46,9	1,0
НСР ₀₅			0,923	10,954	11,432	4,939	1,506
Относительная ошибка			7,37%	15,43%	7,13%	15,75%	11,93%
Стандартная ошибка			0,333	3,873	4,042	1,746	0,543

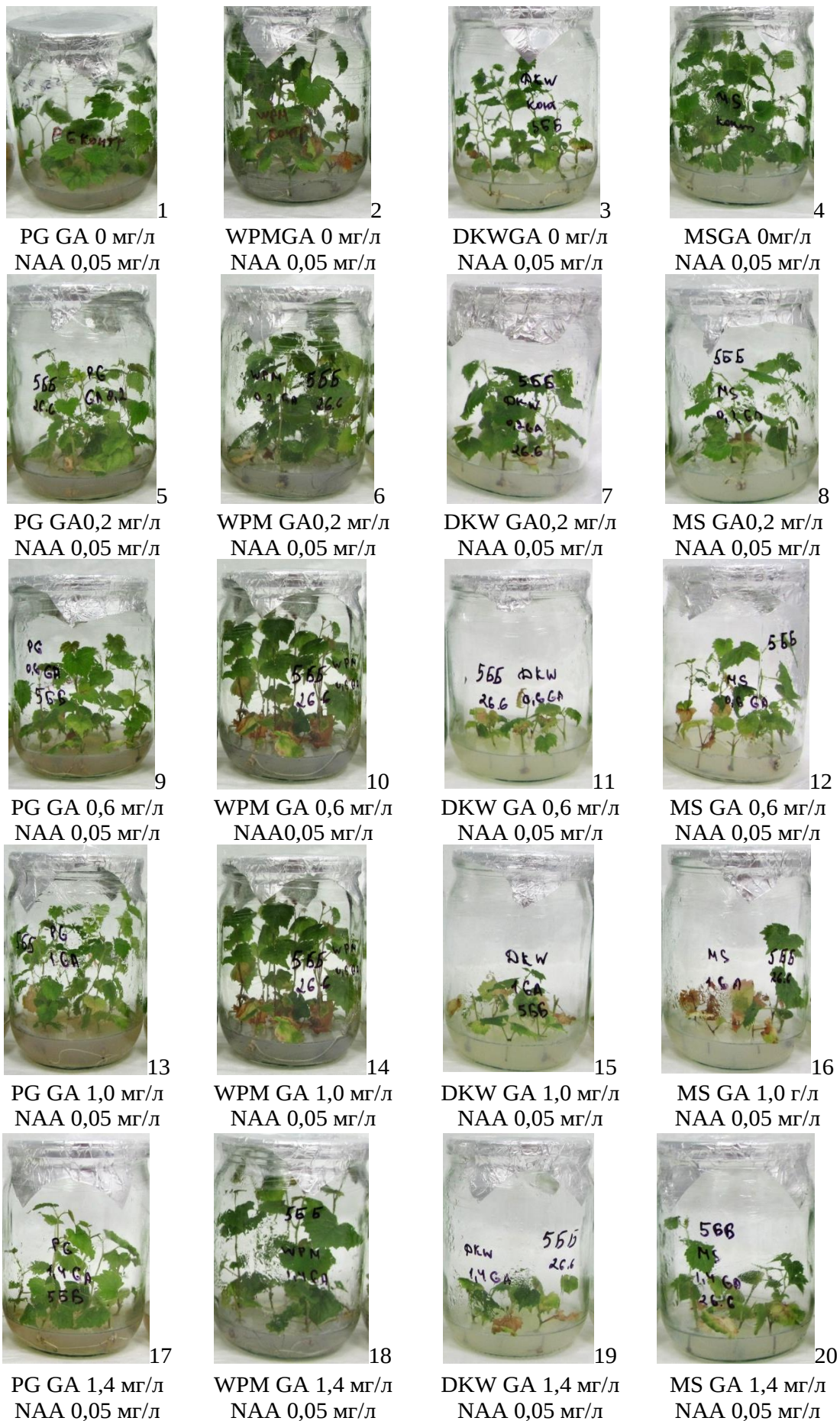


Рис. 2. Растения *in vitro* сорта-подвоя Кобер 5 ББ на средах разного состава после 50 дней культивирования
Figure. 2. Plants *in vitro* of the rootstock variety 'Kober 5 BB' on media of different composition after 50 days of cultivation

превосходили растения на среде PG с аналогичным гормональным составом.

Выводы. Таким образом, проведенные исследования по оптимизации среды культивирования для ускорения ростовых процессов позволили по результатам биометрических показателей выделить блок сред с основой WPM для размножения сорта-подвоя Кобер 5 ББ на этапе микрочеренкования. Проведение дополнительных исследований по культивированию растений *in vitro* с расширенным сортовым спектром и большей выборкой позволит рекомендовать среду WPM, содержащую НАА (α -нафтилуксусную кислоту) в концентрации 0,05 мг/л, для клонального микроразмножения винограда на этапе микрочеренкования. Среда WPM также может быть основой для проведения модификации с использованием разных регуляторов роста в определенных соотношениях и концентрациях с целью индукции морфогенеза на разных этапах клонального микроразмножения винограда.

Благодарность

Авторы выражают благодарность старшему научному сотруднику лаборатории биоинженерии растений ФГБУН «Орден Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад — Национальный научный центр РАН» Хваткову П.А. за консультационно-методическую помощь.

Источники финансирования

Работа выполнена в рамках поисковых исследований.

Financing source

The work was conducted within the framework of exploratory research.

Конфликт интересов

Не заявлен.

Conflict of interests

Not declared.

Список литературы/Reference

1. Бугаенко Л.А., Иванова-Ханина Л.В. Морфогенез винограда в культуре *in vitro* // Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского Серия «Биология, химия». Т. 24 (63). 2011. № 2. С. 73-82. Bugayenko L.A., Ivanova-Khanina L.V. Morphogenesis of grapes in culture *in vitro*. Scientific notes of the Tavricheskiy National University named after V.I. Vernadsky. Series "Biology, chemistry". 2011;24(63)-2:73-82 (in Russian).
2. Павлова И.А., Зленко В.А., Волынкин В.А. Применение методов биотехнологии для получения оздоровленного посадочного материала винограда // Сучасний стан та перспективи розвитку насінництва в Україні: Наукові праці Південного філіалу «Кримський Агротехнологічний університет» Національного аграрного університету. – Сімферополь, 2008. Вип. 107. С. 161-164. Pavlova I.A., Zlenko V.A., Volynkin V.A. Application of biotechnology methods for obtaining healthy planting material of grapes. Current state and prospects of development of seed production in Ukraine: scientific works of the southern

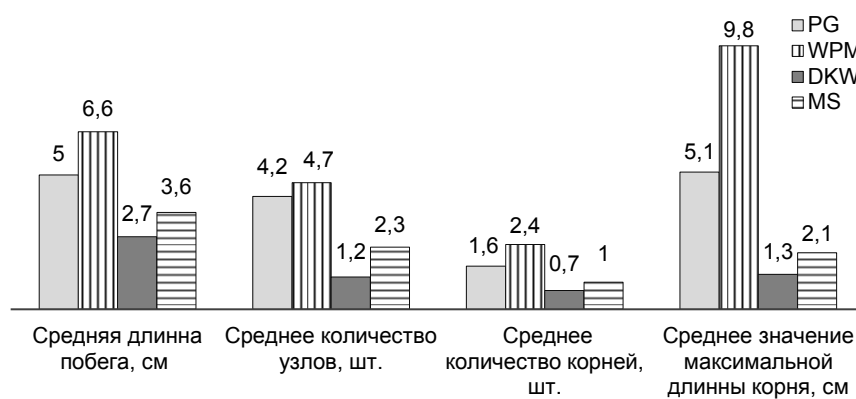


Рис. 3. Биометрические показатели растений, культивированных на средах с разными основами

Figure 3. Biometric parameters of plants cultivated on media with different bases

branch "Crimean Agrotechnological University" of the National Agrarian University. Simferopol. 2008;107:161-164 (in Russian).

3. Клименко В.П., Павлова И.А. Оптимизация условий для оздоровления роста и развития растений, полученных с помощью биотехнологических методов // Наукові праці Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН України. Київ, 2012. Вип. 16. С. 261-264. Klimenko V.P., Pavlova I.A. Optimization of conditions for the improvement of the growth and development of plants obtained with the help of biotechnological methods. Scientific works of the Institute of Bioenergetic Cultures and Sugar Beets of the NAAS of Ukraine. Kiev. 2012;16:261-264 (in Russian).
4. Мулюкина Н.А., Зеленианская Н.Н., Джабурия Л.В. Применение методов культуры тканей и органов *in vitro* для размножения исходного клонового материала винограда // Садоводство и виноградарство. 2013. № 2. С. 36-40. Mulyukina N.A., Zelenyanskaya N.N., Dzhaburiya L.V. Application of methods of tissues culture and organs *in vitro* for propagation of the original clonal material of grapes. Horticulture and viticulture. 2013;2:36-40 (in Russian).
5. Дорошенко Н.П. Оздоровление, клональное микроразмножение и депонирование винограда в культуре *in vitro* // «Магарах». Виноградарство и виноделие. 2015. № 3. С.49-51. Doroshenko N.P. Sanitation, clonal micropropagation and deponition of grapes in culture *in vitro*. Magarach. Viticulture and Winemaking. 2015;3:49-51 (in Russian).
6. Батукаев А.А., Эдиева Х., Батукаев М.С. Биотехнологические методы оздоровления и ускоренного размножения винограда // Научные труды ГНУ СКЗНИИ СиВ РАН, 2013. Т.1. С.271-275. Batukayev A.A., Ediyeva H., Batukayev M.S. Biotechnological methods of healing and accelerated reproduction of grapes. Scientific works of the FSBSI North Caucasian Federal Scientific Center for Horticulture, Viticulture and Winemaking of the RAS. 2013;1:271-275 (in Russian).
7. Yancheva S., Marchev P., Yaneva V., Roichev V., Tsvetkov I. *In vitro* propagation of grape cultivars and rootstocks for production of pre-basic planting material. Bulgarian Journal of Agricultural Science. 2018;24(5):801-806.
8. Баматов И.М., Собралиева Э. А., Сибиряткин С. В. Использование питательной среды драйвера кунжуки в процессе микроразмножения подвоев косточковых плодовых культур ЛЦ-52 и Гизела 6 // Актуальные проблемы биотехнологии: оздоровление и размножение плодовых, ягодных, дикорастущих культур и винограда. –

- Махачкала: АЛЕФ, 2019. С.3–13.
- Vamatov I.M., Sobraliyeva E.A., Sibiryatkin S.V. The use of the nutrient medium of the kunzhuka driver in the process of microclonal propagation of rootstocks of stone fruit crops LC-52 and Gizela 6. Actual problems of biotechnology: health-improvement and propagation of fruit, berry, wild-growing crops and grapes. Makhachkala: ALEF. 2019:3-13 (in Russian).
9. El-Agamy S.Z., El-Mahdy T.K., Mohamed A.A. In vitro propagation of some grape rootstocks. *Acta Horticulturae*. 2009;839:125–131.
10. Křížan B., Ondrušiková, E., Moudrá, J. The effect of media composition on multiplication of grape rootstocks in vitro. *Acta univ. agric. et silvic. Mendel. Brun.* 2012;LX(8):141–144.
11. Aazami M.A. Effect of some growth regulators on “in vitro” culture of two *Vitis vinifera* L. cultivars. *Romanian Biotechnological Letters*. 2010;15:3.
12. Alizadeh M., Singh S.K. and Patel V.B. Comparative performance of in vitro multiplication in four grape (*Vitis* spp.) rootstock genotypes. *International J. Plant Product*. 2010;4:41–50.
13. Голодрига П.Я., Зленко В.А., Чекмарев Л.А., Бутенко Р.Г., Левенко В.А., Пилин Н.М. Методические рекомендации по клональному микроразмножению винограда. Ялта: «Магарач», 1986. 56 с.
- Golodriga P.Ya., Zlenko V.A., Chekmarev L.A., Butenko R.G., Levenko V.A., Pilin N.M. Guidelines for clonal micropropagation of grapes. Yalta: VNIIViV Magarach. 1986:56 p. (in Russian).
14. Zlenko V.A., Troshin L.P. and Kotikov I.V. An optimized medium for clonal micropropagation of grapevine. *Vitis* 1995;34:125–126.
15. Зленко В.А., Лиховской В.В., Волынкин В.А., Васылык И.А., Долгов С.В. Оптимизация методологии получения полиплоидных растений из почек винограда в культуре тканей in vitro // «Магарач». Виноградарство и виноделие. 2017. №1. С. 3–5.
- Zlenko V.A., Likhovskoi V.V., Volynkin V.A., Vasylyk I.A., Dolgov S.V. Methodology optimization for obtaining polyploid grape plants from buds in tissue culture in vitro. *Magarach. Viticulture and Winemaking*. 2017;1:3–5 (in Russian).
16. Зленко В.В., Павлова И.А., Зленко В.А. Оптимизация концентраций регуляторов роста для развития растений винограда in vitro на основе уравнений регрессии // Сборник Научных трудов Международной научно-практической конференции, посвященной 90-летию чл.-корр. РАСХН, профессора М.М. Джамбулатова. Махачкала. 2016. Т.2. С.417–424.
- Zlenko V.V., Pavlova I.A., Zlenko V.A. Optimization of concentrations of growth regulators for the development of grape plants in vitro based on regression equations. *Collection of Scientific Works of the International Scientific and Practical Conference dedicated to the 90th anniversary of corresponding member of the RAS, prof. M.M. Dzhambulatov*. Makhachkala. 2016;2:417-424 (in Russian).
17. Alizadeh M., Singh S.K., Patel V.B. Comparative performance of in vitro multiplication in four grape (*Vitis* spp.) rootstock genotypes. *International Journal of Plant Production*. 2010;4(1):41–50.
18. Beza Kinfe1, Tileye Feyssa and Girma Bedada. In vitro micropropagation of grape vine (*Vitis vinifera* L.) from nodal culture. *African Journal of Biotechnology*. 2017;16(43):2083–2091.
19. Yerbolova L.S., Ryabushkina N.A., Oleichen S.N. The Effect of Growth Regulators on in vitro Culture of Some *Vitis vinifera* L. Cultivars. *World Appl. Sci. J.* 2013;23(1):76–80.
20. Melyan G., Sahakyan A., Harutyunyan A. Micropropagation of grapevine (*Vitis vinifera* L.) seedless cultivar 'Parvana' through lateral bud development. *Vitis*. 2017;54:253–255.
21. Rahul Dev, S.K. Singh, Vishambhar Dayal, Kamlesh Kumar and Traloki Singh. Standardization of in vitro Hardening Strategies for Tissue Cultured Wine Grape (*Vitis vinifera* L) Genotypes. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 2019;8(02):2108–2117.
22. Abido A.I.A., Aly M.A.M., Sabah, Hassanen A. and Rayan G.A. In vitro Propagation of Grapevine (*Vitis vinifera* L.) cv. Muscat of Alexandria for conservation of endangerment. *Middle-East J. Scient. Res.* 2013;13(3):328–337.
23. Jamwal M., Barinder S., Nirmal S. and Kumar R. In vitro Regeneration of Grape (*Vitis vinifera* L.) cv. Perlette. *W. J. Agric. Sci.* 2013;9(2):161–166.
24. Mostafa F.M.A.; Shaaban M.M., Doaa S. Elazab, Kamel M.T. In vitro propagation of four grape cultivars. *Assiut J. Agric. Sci.*, 2015;46(4):65–76.
25. Anupa T., Sahijram L., Samarth R., Rao B.M. In Vitro shoot induction of three grape (*Vitis vinifera* L.) varieties using nodal and axillary explants. *Bioscan*. 2016;11(1):201–204.
26. Tehrim S., Mirza M.Y., Sajid G.M. Comparative study of different growth regulators for efficient plant regeneration in grapes. *Pak. J. Agric.* 2013;26:275–289.
27. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений in vitro и биотехнология на их основе. – М., 1999. 159 с.
- Butenko R.G. *Biology of cells of higher plants in vitro and biotechnology based on them*. М., 1999:159 p. (in Russian).