

DOI:10.30901/2227-8834-2018-3-293-300

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

УДК  
634.12:581.33:631.547.1:581.1.04:63  
1.8:631.563

А. В. Павлов,  
В. Г. Вержук,  
М. Н. Ситников,  
А. В. Шлявас

Федеральный исследовательский центр  
Всероссийский институт генетических  
ресурсов растений  
имени Н. И. Вавилова,  
190000 Россия, г. Санкт-Петербург,  
ул. Б. Морская, д. 42, 44  
e-mail: pavlov-al@bk.ru

**Ключевые слова:**  
пыльца яблони, фитогормоны,  
жизнеспособность пыльцы,  
процент прорастания

**Поступление:**  
20.09.2018

**Принято:**  
19.09.2018

## ВЛИЯНИЕ ФИТОГОРМОНОВ НА ПРОРАСТАНИЕ ПЫЛЬЦЫ ЯБЛОНИ В ПРОЦЕССЕ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОГО ХРАНЕНИЯ

**Актуальность.** В естественных условиях прорастающие пыльцевые зерна находятся в сложной многокомпонентной среде, включающей различные по химической природе соединения. Исследование действия фиторегуляторов на прорастание пыльцы актуально, так как позволяет усовершенствовать условия проращивания, приблизить их к естественным, в результате возрастет точность оценки ее жизнеспособности. **Материал и методы.** Объектом исследования является пыльца яблони образца Краснолистная (*Malus niedzwetzkyana* Dieck, syn. *M. sieversii* (Ledeb.) M. Roem. var. *niedzwetzkyana* Likh.). Исследовано влияние фитогормонов на прорастание пыльцы яблони на искусственной питательной среде. Жизнеспособность пыльцы определяли методом проращивания на искусственной питательной среде, содержащей 10% сахарозы и 0,8% агар-агара. Проросшей считали пыльцу с длиной пыльцевой трубки, превышающей диаметр пыльцевого зерна. На поверхность питательной среды наносили капли суспензии пыльцы в дистиллированной воде с добавлением фитогормонов в различных сочетаниях и концентрациях. **Результаты.** Результаты двухфакторного дисперсионного анализа исходных данных позволяют сделать вывод о том, что наибольший эффект на прорастание пыльцы оказывает совместное действие факторов «концентрация стимулятора + световой режим», при котором наблюдается повышенный процент прорастания пыльцы. Несколько меньшее влияние на число проросших пыльцевых зерен оказывают концентрация и тип стимулятора, которым обрабатывалась пыльца, по отдельности. Менее всего на жизнеспособность пыльцевых зерен оказывает влияние световой режим проращивания, хотя действие этого фактора также оказывается значимым:  $p = 0,00562$ . Выявлены эффективные концентрации и сочетания фитогормонов, повышающие процент прорастания пыльцы яблони по сравнению с контролем.

DOI:10.30901/2227-8834-2018-3-293-300

ORIGINAL ARTICLE

**A. V. Pavlov,  
V. G. Verzhuk,  
M. N. Sitnikov,  
A. V. Shlyavas**

N. I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources,  
42, 44, Bolshaya Morskaya St.,  
St. Petersburg, 190000, Russia,  
e-mail: pavlov-al@bk.ru

**Key words:**  
apple-tree pollen, phytohormones,  
pollen viability, germination  
percentage

**Received:**  
20.09.2018

**Accepted:**  
19.09.2018

## THE INFLUENCE OF PHYTOHORMONES ON THE GERMINATION OF APPLE POLLEN IN THE PROCESS OF LOW-TEMPERATURE STORAGE

**Background.** Under natural conditions, germinating pollen grains are in a complex multicomponent environment, including compounds of different chemical nature. The study of the action of phytoregulators on pollen germination is relevant, since in the long term it will help to improve the conditions of the germination medium, bring them closer to the natural ones and, as a result, increase the accuracy of the assessment of pollen viability. **Materials and methods.** The object of the study is pollen of the apple-tree образца Krasnolistnaya (*Malus niedzwetzkyana* Dieck, syn. *M. sieversii* (Ledeb.) M. Roem. var. *niedzwetzkyana* Likh.). The effect of phytohormones on apple-tree pollen germination in artificial nutrient medium was studied. Viability of pollen was assessed by germinating it in an artificial nutrient medium containing 10% sucrose and 0.8% agar-agar. Pollen was considered sprouted if its pollen tube in length exceeded the diameter of the pollen grain. Drops of pollen suspension in distilled water with added phytohormones in various combinations and concentrations were applied to the surface of the nutrient medium. **Results.** Two-factor dispersion analysis of the initial data made it possible to conclude that the greatest effect on pollen germination was provided by a combined action of the factors "stimulator concentration + illumination mode", under which there was an increased percentage of germinated pollen. The effect of only the stimulator's concentration and type on the number of germinated pollen grains was slightly less. And the least of all was the effect of the illumination mode on pollen grain viability, although the influence of this factor was also significant:  $p = 0.00562$ . Effective concentrations and combinations of phytohormones have been identified to increase germination of apple-tree pollen.

## Введение

Жизнеспособность пыльцы можно определять различными методами: проращиванием на искусственной среде, окрашиванием ацетокармином, по активности пероксидазы и дегидрогеназ в пыльце (Golubinsky, 1971; Nesterov, 1986), а также наблюдением за ее прорастанием непосредственно на рыльцах пестиков по методике А. С. Татаринцева (Tatarinzev, 1959). Наиболее широко распространено определение жизнеспособности пыльцы путем ее проращивания на искусственной среде. Основным компонентом большинства сред, используемых для проращивания пыльцы, является сахароза. Но не только от концентрации сахарозы зависят показатели жизнеспособности пыльцы. Так, в литературе мало сведений о влиянии света на прорастание пыльцы. По данным И. Н. Голубинского, пыльца отдельных видов растений по-разному относится к свету и его интенсивности во время прорастания, но в основном, по его данным, для прорастания пыльцы большинства видов свет не имеет значения. В то же время пыльца тыквенных, помидоров и особенно зверобоя гораздо лучше прорастает на свету, чем в темноте, а пыльца львиного зева, люпина многолетнего, ослинника двулетнего, наоборот, лучше прорастает в полной темноте. У гороха посевного, настурции большой, душистого горошка пыльца лучше всего прорастает не при ярком освещении или в полной темноте, а на несколько ослабленном свете (Golubinsky, 1971). В некоторых случаях авторы вообще не указывают условий освещенности при проращивании пыльцы (Reed, 2008). В методических указаниях Я. С. Нестерова рекомендуется проращивать пыльцу плодовых культур на рассеянном солнечном свету (Nesterov, 1986).

По данным Г. С. Муромцева и В. Н. Агнистиковой, гиббереллиновая кислота способствует прорастанию пыльцевых зерен и росту пыльцевых трубок (Miromzev, Agnistikova, 1984), то же самое отмечал и Голубинский в своем исследовании по фиторегуляторам (Golubinsky, 1974). Так же в работе Г. С. Муромцева и В. Н. Агнистиковой упоминается, что оптимальные концентрации гиббереллиновой кислоты для пыльцы растений разных видов отличаются. Отмечалось, что воздействие гиббереллинов менялось в зависимости от возраста пыльцы, так, для незрелой пыльцы винограда оно было губительным, в то время как на зрелую оказывала положительный эффект (Miromzev, Agnistikova, 1984). В работе Ковалевой говорится об участии фитогормонов в регуляции прорастания и роста мужского гаметофита и свидетельствует об изменении уровня эндогенных гормонов петунии (Kovaleva et al., 2016). В этой же работе упоминается о том, что ауксин вовлечен в поддержание полярного роста пыльцевой трубки, взаимодействуя с цитокинами и АБК, то есть ауксин и цитокинины играют важную роль в регуляции актинового цитоскелета пыльцевой трубки, влияя на полимеризацию актина. Гиббереллиновые кислоты стимулируют рост пыльцевой трубки, перераспределяя актин в апикальную зону, в то же время цитокинин, представленный кинетином, ингибирует рост пыльцевой трубки, снижая содержание актина во всех ее зонах.

С целью установления стимулирующего действия активных веществ при проращивании пыльцы на искусственных средах, И. Н. Голубинским было изучено действие различных физиологически активных веществ, в том числе гиббереллина и гетераауксина (Golubinsky, 1974). В качестве исходных растворов использовались растворы сахарозы в концентрациях от 10 до 15% с добавлением 0,003% борной кислоты. В опытный состав добавляли активное вещество. Как показали результаты исследований, физиологически активные вещества дают

заметное повышение как процента прорастания, так и длины пыльцевых трубок. Все опытные активные вещества, кроме рибофлавина, математически достоверно стимулировали прорастание пыльцы. В число наиболее эффективных физиологически активных веществ для проращивания пыльцы на искусственных средах вошли никотиновая кислота,  $\alpha$ -нафтилуксусная кислота, гетероауксин, гиббереллин. Был сделан вывод, что физиологически активные вещества, в том числе ауксины, заметно стимулируют прорастание пыльцы, как на искусственных средах, так и на рыльцах пестиков, особенно сильно увеличивая длину пыльцевых трубок.

Таким образом, из всего вышеописанного можно заключить, что исследование действия фиторегуляторов на прорастание пыльцы актуально, так как в перспективе позволяет усовершенствовать условия проращивания, приблизить их к естественным, в результате чего возрастет точность оценки жизнеспособности пыльцы. В естественных условиях прорастающие пыльцевые зерна находятся в сложной многокомпонентной среде, включающей различные по химической природе соединения и фитогормоны, результат влияния которых на прорастание в искусственной среде изменяет соотношение процента проросших зерен в разных по концентрации растворах.

Цель данной работы – выявить возможность повышения жизнеспособности пыльцы яблони сорта ‘Краснолистная’ под воздействием различных концентраций и сочетаний фитогормонов и установить влияние фактора освещенности на прорастание пыльцы.

### Материалы и методы исследования

Исследование проводилось на базе криокомплекса Всероссийского института генетических ресурсов растений им. Н. И. Вавилова. Объектом исследований являлась пыльца яблони (*Malus* Mill.) образец Краснолистная, (*Malus niedzwetzkyana* Dieck, syn. *M. sieversii* (Lebed.) M. Roem. var. *niedzwetzkyana* Likh.). Образец ‘Краснолистная’ взят как предполагаемый (Vitkovsky, 2003; Ponomarenko, 1992) хороший опылитель и источник антицианов для получения сортов с красной мякотью плодов и создания декоративных краснолистных форм яблони. Отбор пыльцы проводился на территории коллекционного сада филиала НПО «Пушкинские-Павловские лаборатории ВИР» в период с середины мая до середины июня 2016 г. В сухую погоду с деревьев одного сорта собирали от 150 до 250 шт. хорошо развитых бутонов накануне их раскрытия, после чего в лаборатории отделяли пыльники при помощи препаровальной иглы. Образцы пыльцы вместе с пыльниками после подсушивания в течение двух-трех суток при температуре +20°C до сыпучего состояния помещали на низкотемпературное (-18°C) хранение в герметичных криопробирках (Yushev et al., 2016).

Жизнеспособность пыльцы определяли методом проращивания на искусственной питательной среде, содержащей 10% сахарозы и 0,8% агар-агара. Проросшей считали пыльцу с длиной пыльцевой трубки, превышающей диаметр пыльцевого зерна. На поверхность питательной среды наносили капли суспензии пыльцы в дистиллированной воде с добавлением фитогормонов в различных сочетаниях и концентрациях в соответствии с приведенными ниже вариантами опыта (капли объемом 100 микролитров). Исследовали следующие концентрации и сочетания фитогормонов:

1. Гиббереллин А3 1 (мг/л)
2. Кинетин 1 (мг/л)
3. ИМК 1 (мг/л)

4. Гиббереллин А3 + Кинетин 1 (мг/л)
5. Гиббереллин А3 + ИМК 1 (мг/л)
6. ИМК + Кинетин 1 (мг/л)
7. Гиббереллин А3 + ИМК + Кинетин 1(мг/л)
8. Гиббереллин А3 10 (мг/л)
9. Кинетин 10 (мг/л)
10. ИМК 10 (мг/л)
11. Гиббереллин А3 + Кинетин 10 (мг/л)
12. Гиббереллин А3 + ИМК 10 (мг/л)
13. Кинетин + ИМК 10 (мг/л)
14. Гиббереллин А3 + Кинетин + ИМК 10 (мг/л)

В контрольных вариантах пыльцу сусpenзировали в дистиллированной воде без добавления фитогормонов (кратковременное низкотемпературное хранение пыльцы образца Краснолистная практически не повлияло на ее исходную жизнеспособность). (Golubinsky, 1971).

Известно, что пыльца разных видов и даже сортов плодовых растений по-разному реагирует на проращивании на свету и в темноте. Поскольку ранее (Verzhuk, 2016) было установлено влияние света на прорастание некоторых сортов яблони, а данные для образца Краснолистная отсутствовали, исходную пыльцу проращивали на свету и в темноте. Для этого каждую исследуемую концентрацию фитогормонов рассматривали при двух режимах проращивания – на свету и в темноте. Проращивание на свету проводили в течение суток в термостатируемой световой установке при освещенности 7000-8000 люкс, при температуре  $21 \pm 1^{\circ}\text{C}$ , и соблюдался световой режим: 16 ч – день, 8 ч – ночь. Образцы, проращиваемые в темноте, помещались в термостат, где пыльца проращивалась также в течение суток при  $21 \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

Учет и фотофиксацию проросших пыльцевых зерен проводили через 24 ч. В каждой чашке проводили съемку 50-ти случайных полей зрения в пяти каплях сусpenзии (для проведения статистической обработки брали 30 случайных полей зрения). Математический анализ данных проводили стандартными методами вариационной статистики с помощью пакета программ BioStat 2.0.

## Результаты и обсуждение

Повышение жизнеспособности пыльцы С. С. Чумаков (Chumakov, 2012) связывал с высоким содержанием пролина в пыльцевых зернах. В его опытах было установлено, что эндогенный пролин пыльцевых зерен совместно с выделяемой рыльцем пестика аминокислотой триптофаном приводит к образованию ауксина, а именно индолилуксусной кислоты, благотворное влияние которой на прорастание пыльцы мы отмечали выше. Он также приходит к выводу, что ведущая роль в процессе оплодотворения принадлежит эндогенной индолилуксусной кислоте, поскольку она регулирует интенсивность прорастания пыльцы и рост пыльцевых трубок. В наших исследованиях использовались фиторегуляторы трех классов: ауксины, гиббереллины и цитокинины, которые влияют на жизнеспособность пыльцы.

В таблице приводится процент прорастания пыльцы с нормальной (исходной) жизнеспособностью яблони образца Краснолистная при проращивании *in vitro* на искусственной среде с добавлением фитогормонов и их сочетаний при двух режимах освещенности.

По полученным данным выявлено, что влияние фитогормонов оказывает достоверное (при  $P < 0,05$ ) воздействие на прорастание пыльцы ( $5,92 \times 10^{-8} < 0,05$ ).

Режим освещенности также достоверно влияет на прорастание пыльцы исследуемого сорта (при  $P < 0,05$ ), но в значительно меньшей степени ( $0,00562 < 0,05$ ). По отдельности наиболее эффективно при проращивании в темноте на процент прорастания пыльцы влияют кинетин (1 мг/л) и ГБА3 (1 мг/л) (см. таблицу; рисунок).

**Таблица. Влияние отдельных стимуляторов роста и их сочетаний на процент прорастания пыльцы яблони образца Краснолистная с исходной жизнеспособностью в условиях различного светового режима.**

**Table. The influence of individual growth promoters and their combinations on the percentage of Apple pollen germination cv. Krasnolistnaya initial viability in different light conditions.**

Сочетания фитогормонов	Концентрации фитогормонов	Условия проращивания Conditions of germination	
		Свет 16 ч, темнота 8 ч Light 16 h, Darkness 8 h	Темнота, 24 ч Darkness, 24 h
Контроль	—	18,0	24,3
ГБА3	1 мг/л	19,0	28,2
	10 мг/л	19,5	18,3
Кинетин	1 мг/л	15,7	30,9
	10 мг/л	28,5	22,7
ИМК	1 мг/л	11,4	9,5
	10 мг/л	12,6	15,5
ГБА3 + кин	1 мг/л	6,4	10,6
	10 мг/л	14,0	29,2
Кин. + ИМК	1 мг/л	33,1	40,5
	10 мг/л	18,5	26,3
ГБА3 + ИМК	1 мг/л	14,1	17,0
	10 мг/л	31,6	13,0
ГБА3 + ИМК + Кин.	1 мг/л	12,7	14,5
	10 мг/л	7,8	10,9

Наиболее эффективным сочетанием фитогормонов является сочетание кинетин + ИМК в концентрации 1 мг/л, которое при проращивании пыльцы на свету и в темноте приводит к наиболее существенному и достоверному (при  $P < 0,05$ ) увеличению показателей роста (в 1,6–1,8 раза) по сравнению с контролем (см. таблицу; рисунок).

На основе приведенных выше материалов можно сделать вывод, что сочетание кинетина и ИМК в концентрации 1 мг/л значительно повышает всхожесть пыльцы.

Во всех контрольных вариантах опыта пыльца изучаемого сорта лучше прорастала в темноте, в некоторых опытных вариантах, таких как ИМК + Гибберелин 10 мг/л, наблюдается обратная картина, что можно объяснить ингибирующим действием данного сочетания фитогормонов в указанной концентрации. Такое же действие в высокой концентрации 10 мг/л отмечается у кинетина. Результаты двухфакторного дисперсионного анализа исходных данных позволяют сделать вывод о том, что наибольший эффект на прорастание пыльцы оказывает совместное действие факторов «концентрация стимулятора + световой режим», при котором наблюдается повышенный процент прорастания пыльцы. Несколько меньшее влияние на число проросших пыльцевых зерен оказывает только концентрация и тип стимулятора, которым обрабатывалась пыльца. И менее всего на жизнеспособность пыльцевых зерен оказывает влияние световой режим проращивания, хотя действие этого фактора также оказывается значимым:  $p = 0,00562$ .

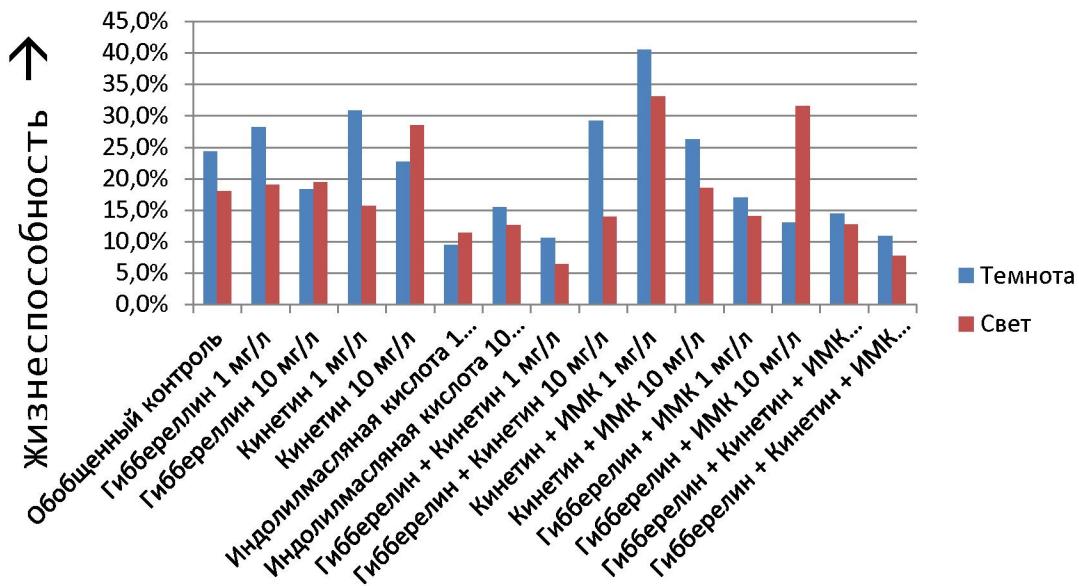


Рисунок. Процент прорастания пыльцы яблони образца Краснолистная под действием фитогормонов.

Figure. The percentage of apple pollen germination cv. Krasnolistnaya under the action of phytohormones

В заключение можно сказать, что ранее в основном было изучено влияние отдельных фитогормонов и отдельно светового фактора, в нашей работе исследовано влияние сочетаний фитогормонов и комплексное влияние света и сочетаний фитогормонов на жизнеспособность пыльцы яблони. Подтвердилось достоверное влияние светового фактора и фитогормонов на процент прорастания пыльцевых зерен, ранжировано по значимости влияние этих факторов. Выявлены оптимальные концентрации и сочетания фитогормонов, повышающие процент прорастания пыльцы по сравнению с контролем.

## Выводы

1. Методом двухфакторного дисперсионного анализа данных было установлено влияние фитогормонов на процент прорастания пыльцы образца Краснолистная при проращивании на искусственной питательной среде (достоверность  $5,92 \times 10^{-8} < 0,05$  после краткосрочного (менее 1 года) низкотемпературного хранения).

2. Фактор освещенности оказал незначительное ( $P = 0,0056$ ), в сравнении с действием фиторегуляторов ( $P = 5,92 \times 10^{-8}$ ), влияние на прорастание пыльцы образца Краснолистная при проращивании исходной пыльцы.

3. Лучшим сочетанием стимуляторов, оказавшим наиболее сильное влияние на исходную пыльцу яблони образца Краснолистная является кинетин + ИМК в концентрации 1 мг/л. Процент прорастания составил 40,5% в темноте (24,3% в контроле) и 33,1% на свету (18,0% в контроле). При повторной проверке проращивания в темноте результат составил 56,6% (26,6% в контроле)

Работа выполнена в рамках государственного задания согласно тематическому плану ВИР по теме № 0662-2018-0004 «Совершенствование стратегии, теории, методов и технологий *ex situ* хранения генетических ресурсов растений без потери их жизнеспособности», номер государственной регистрации ЕГИСУ НИОКР АААА-А16-116040710363-2.

## References/Литература

- Golubinsky I. N. Biology of pollen germination : abstract diss. ... Dr. Biol. Sciences // Khar'kov, 1971. 68 p. [in Russian] (Голубинский И. Н. Биология прорастания пыльцы : автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Харьков, 1971. 68 с.).
- Golubinsky I. N. Biology of pollen germination. Kiev : "Naukova Dumka", 1974. P. 88–107 [in Russian] (Голубинский И. Н. Биология прорастания пыльцы. Киев : «Наукова думка», 1974. С. 88–107).
- Verzhuk V. G., Filipenko G. I., Pavlov A. V., Porotnikov I. V., Bondaruk D. D. The Effect of light and sucrose concentration in the germination medium on the germination of Apple pollen // Bulletin of agricultural science. 2016. No. 3. P. 14. [in Russian] (Вержук В. Г., Филипенко Г. И., Павлов А. В., Поротников И. В., Бондарук Д. Д. Влияние света и концентрации сахарозы в среде проращивания на прорастание пыльцы яблони // Вестник сельскохозяйственной науки. 2016. № 3. С. 14).
- Nesterov Ya. S. The study of the collection of pome crops and identification of varieties of intensive type // Guidelines. Leningrad : VIR, 1986. C. 69–75 [in Russian] (Нестеров Я. С. Изучение коллекции семечковых культур и выявление сортов интенсивного типа. Методические указания. Л.: ВИР, 1986. С. 69–75).
- Tatarintsev A. S. Improving the accuracy of the experiments to identify the mutual varieties of fruit plants // Proceedings of the fruit and vegetable Institute them I. V. Michurin. 1959. Vol. 10. P. 71–75 [in Russian] (Татаринцев А. С. Повышение точности опытов по выявлению взаимоопыляемости сортов плодовых растений // Труды плодовоощнного института им. И. В. Мичурина. 1959. Т. 10. С. 71–75).
- Reed Barbara M. Plant Cryopreservation: A Practical Guide New York : Springer, 2008. P. 513.
- Chumakov S. S. On the possible mechanisms of the stimulation of the fertilization of fruit plants // Scientific journal of KubGau, 2012, no. 83. Access mode <http://ej.kubagro.ru/2012/09/pdf/61.pdf> (accessed 30:05: 2017). (Чумаков С. С. О возможных механизмах стимуляции оплодотворения плодовых растений // Научный журнал КубГАУ, 2012. № 83. Режим доступа <http://ej.kubagro.ru/2012/09/pdf/61.pdf>) (Дата обращения: 30:05:2017).
- Vitkovsky V. L. Fruit plants of the world. St. Petersburg ; Moscow ; Krasnodar, 2003. P. 17–33 [in Russian] (Витковский В. Л. Плодовые растения мира. СПб. ; Москва ; Краснодар, 2003 С. 17–33).
- Ponomarenko V. V. Wild species of the genus *Malus* Mill. Europe, Caucasus, Siberia and Central Asia: biology, systematics: source material for breeding: Abstract. diss. Dr. Biol. Sciences. St. Petersburg : VIR, 1992, 39 p. [in Russian] (Пономаренко В. В. Дикорастущие виды рода *Malus* Mill. Европы, Кавказа, Сибири и Средней Азии : биология, систематика: исходный материал для селекции: автореф. дисс. д-ра биол. наук. СПб.: ВИР, 1992. 39 с.).
- Muromtsev G. S., Agnisticova V. N. The gibberellins. Moscow : Nauka, 1984. 209 p. [in Russian] (Муромцев Г. С., Агнистикова В. Н. Гиббереллины. М. : Наука, 1984. 209 с.).
- Kovaleva L. V., Zakhарова Е. В., Voronkov A. S., Timofeeva G. V., Phytohormones and polar growth of pollen tube // V Int. School for Young Scientists. "Embryology, Genetics and Biotechnology", 2016, St. Petersburg, pp. 106–107 [in Russian] (Ковалева Л. В., Захарова Е. В., Воронков А. С., Тимофеева Г. В., Фитогормоны и полярный рост пыльцевой трубки // V Межд. школа для молодых ученых. «Эмбриология, генетика и биотехнология», СПб., 2016. С. 106–107).
- Yushev A. A., Sorokin A. A., Tikhonova O. A., Orlova S. Yu., Kislin E. N., Radchenko O. E., Pupkova N. A., Shlyavas A. V. Collection of genetic resources of fruit and berry plants: preservation, replenishment, study. Guidelines., St. Petersburg : VIR, 2016, 27 p. [in Russian] (Юшев А. А., Сорокин А. А., Тихонова О. А., Орлова С. Ю., Кислин Е. Н., Радченко О. Е., Пупкова Н. А., Шляvas А. В. Коллекция генетических ресурсов плодовых и ягодных растений: сохранение, пополнение, изучение. Методические указания. СПб. : ВИР, 2016. 27 с.).