

УДК 581.8:58.085+582.734

**Анатомо-морфологические особенности организации побега
Filipendula camtschatica (Rosaceae) в культуре *in vitro***

**Anatomical and morphological features of the shoots structure of
Filipendula camtschatica (Rosaceae) in culture *in vitro***

Ю.А. Хроленко, Т.И. Музарок, Т.Ю. Горпенченко, Ю.Н. Журавлев

Yu.A. Khrolenko, T.I. Muzarok, T.Yu. Gorpenchenko, Yu.N. Zhuravlev

Биолого-почвенный институт ДВО РАН, пр. 100-летия Владивостока, 159, г. Владивосток, 690022, Россия
Institute of Biology and Soil Science, Far Eastern Branch of Russian Academy of Sciences,
159 Stoletiya Street, Vladivostok, 690022, Russia. E-mail: khrolenko@biosoil.ru

Ключевые слова: *Filipendula camtschatica*, морфогенез, размножение *in vitro*, рост на средах с гормонами, розеточный побег, вегетативные меристемы, мезоструктура листа.

Key words: *Filipendula camtschatica*, morphogenesis, micropropagation *in vitro*, growth by hormones, rosette shoots, vegetative meristems, leaf mesostructure.

Аннотация. Приведены результаты изучения морфогенеза у растений *Filipendula camtschatica* (Pall.) Maxim. при микроразмножении *in vitro*. На этапе размножения оптимальной оказалась среда ½MS, дополненная К 1 мг/л, ИУК 0,05 мг/л и ГК 2 мг/л. Микрорастения формировали розеточный побег. Подобраны питательные среды для культивирования вегетативных розеточных побегов, с дальнейшей пересадкой их в грунт.

Summary. The results of the study morphogenetic processes in plants of *Filipendula camtschatica* (Pall.) Maxim. under propagation *in vitro* are presented. ½MS medium supplemented Kn 1 mg/l, indolyl acetic acid 0,05 mg/l and Gb 2 mg/l provide a high multiplication rate. Micro plants formed a rosette shoots. Nutritional medium is selected for cultivation vegetative rosette shoots and further transfer micro plants into the ground.

Filipendula camtschatica (Pall.) Maxim. (*Spiraea camtschatica* Pall.) – лабазник камчатский из сем. Rosaceae – травянистый многолетник, один из наиболее характерных элементов камчатско-сахалинского крупнотравья (Vascular..., 1996). Многие представители р. *Filipendula* Mill. обладают лекарственными свойствами и используются в народной медицине (Lapin et al., 2008;

Maksimov et al., 2002). Лабазник камчатский обладает антибактериальными, противогрибковыми, антицинготными и ранозаживляющими свойствами (Rastitelnye..., 1987). В различных частях растения содержатся дубильные вещества, фенольные соединения, метилсалицилат, салициловый альдегид, гаультерин (монотриптитин), спиреин и флавоноиды (Maksimov et al., 2002). Это крупное растение с красивыми соцветиями с достаточно высоким баллом декоративности – 74 (Egorova, 1977), используется в декоративном садоводстве. Лабазник камчатский формирует крупнотравные высокопродуктивные по биомассе сообщества, но, несмотря на способность растений давать большую вегетативную массу, распространение растений ограничено жесткими условиями обитания. Основной способ размножения лабазника камчатского – вегетативный, поэтому в популяциях отсутствуют взрослые вегетативные особи семенного происхождения. Только на третий год вегетации небольшая часть растений сообщества достигает генеративной стадии и формирует соцветия. Редкие соцветия повреждаются тлями, и большая их часть погибает от грибковой инфекции (Biologicheskaya

produktivnost..., 1981). Как следствие, эти сообщества, по данным Н.Н. Качуры (Kachura, 1974), деградируют.

Таким образом, нужна альтернатива, и поэтому получение микрорастений *in vitro* из семян является высокоэффективным способом сохранения генетического разнообразия и биологического ресурса этого вида и актуально для получения сырья потенциально лекарственного растения. В работе представлены данные об эффективном микроразмножении *F. camtschatica*, с гистологическим анализом процесса формирования вегетативных почек микрорастений и показано влияние концентраций фитогормонов на мезоструктуру листа.

Объекты и методы, условия исследований

В качестве исходного материала для получения микрорастений использовали семена, собранные в сентябре 2006 года с растений в Сахалинском Ботаническом саду, а также корневища, выкопанные в окрестностях биостанции «Сокол» Долинского района Сахалинской области в августе того же года. Для введения в культуру *in vitro* семена и почки с участками корневища промывали в мыльном растворе 10 мин., затем в проточной воде в течение 10 мин., стерилизовали 12 мин. в 0,2 % растворе диацета с последующим трехкратным промыванием стерильной дистиллированной водой. Семена проращивали на среде содержащей половинную концентрацию солей по Мурасиге-Скуга (MS) (Murashige, Skoog, 1962) в темноте при температуре 25 °C. В качестве регуляторов роста использовали фитогормоны в разных концентрациях: индолил-3-масляную кислоту (ИМК), индолилуксусную кислоту (ИУК), кинетин (К), гибберелин (ГК) (табл. 1). После появления развернутых семядолей проростки переносили на свет и культивиро-

вали при фотопериоде 16/8 до развития корневой системы и 4–5 настоящих листьев.

Для гистологического анализа микрорастения на разных стадиях развития фиксировали в ФСУ (70 % этиловый спирт, 40 % формалин, ледяная уксусная кислота, в соотношении 72:14:14). Заливку побегов в парафиновые блоки и приготовление серийных срезов проводили по общепринятой методике (Pausheva, 1988). Окраску срезов проводили по Н.А. Жинкиной и О.Н. Вороновой (Zhinkina, Voronova, 2000). В качестве красителя использовали альциановый синий и ацетогематоксилин. Срезы побегов и листьев фотографировали под микроскопом Axioskop-40 с помощью встроенной видеокамеры AxioCam HRc (Zeiss, Germany).

Параметры ассимиляционного аппарата листа изучали у растений, выращенных на средах с разным содержанием гормонов, во всех вариантах опыта. Анатомические показатели определяли по модифицированной методике, разработанной А.Т. Мокроносовым и Р.А. Борзенковой (Mokronosov, Borzenkova, 1978). Количество хлоропластов в клетке и число клеток на единицу площади листа изучали на материале, фиксированном в 3,5 %-ном растворе глутарового альдегида в фосфатном буфере (pH 7,0), с последующей мацерацией тканей в 50 %-ном растворе КОН при нагревании (для подсчета числа клеток) и в 5 %-ном растворе оксида хрома в 1 н HCL (для определения числа хлоропластов в клетке). В соответствии с требованиями методики количество измерений числа хлоропластов в клетке – 50. Определение количества клеток в мацератах (для расчета числа клеток на единицу листовой поверхности) производили в 20-кратной повторности в 90 квадратах камеры Горьева. Предварительно к счетной камере притирали покровное стекло до появления ньютоновских колец, затем тщательно перемешивали пипетиро-

Таблица 1

Влияние компонентов питательных сред на морфогенез *Filipendula camtschatica* в культуре *in vitro*, n = 40 для каждого варианта, три повтора опыта

Питательная среда	Длина листьев, мм	Число листьев на экспланте	Образование листьев на экспланте, %	Число корней на экспланте	Образование корней на экспланте, %	Образование побегов на экспланте, %
0,05K+0,05ИУК+2 ГК	33,91 ± 12,22	7,5 ± 0,5	100 %	3,5 ± 0,5	95 %	30 %
0,2K+0,05ИУК+2 ГК	21,08 ± 2,96	7,5 ± 0,5	100 %	3 ± 1	70 %	50 %
1,0K+0,05ИУК+2 ГК	20,88 ± 3,77	13,6 ± 1,8	100 %	2,25 ± 0,25	60 %	80 %

ванием мацерат, чтобы получилась равномерная взвесь клеток, которой и заполняли камеру.

Результаты и обсуждение

Использование в качестве эксплантов корневищ лабазника не привело к положительному результату, так как почки и участки корневища погибали на второй неделе культивирования от внутренней инфекции. Семена лабазника, собранные в Сахалинском Ботаническом саду, показали низкую всхожесть $13,1 \pm 1,1$ % (суммарная выборка составила 800 семян). При проращивании семян на агаризованной среде формировались растения с розеточным побегом. После черенкования верхушки побега, участки побега с пазушными почками помещали на безгормональную агаризованную среду MS и на среды с различным соотношением фитогормонов. В случае пересадки вегетативных пазушных почек без участка побега происходило развитие только листьев, которые удлинялись и в дальнейшем засыхали, не давая каллусной массы.

Гистологический анализ побегов лабазника, используемых для микроклонирования и дальнейшей пересадки, не выявил наличия генеративных почек. При концентрациях кинетина

(от 0,05 до 0,2 мг/л) из вегетативной почки с участком старого побега формировался новый побег, число вновь образованных листьев в области апикальной меристемы и число боковых почек на побеге не менялось (рис. 1, табл. 1). По-видимому, при постоянных концентрациях ГК 2 мг/л, ИУК 0,05 мг/л увеличение К до 0,2 мг/л полностью не снимало эффекта апикального доминирования, хотя и приводило к изменению морфологии эксплантов (рис. 1). Наибольшее число боковых почек формировалось на побеге при концентрации кинетина в среде 1,0 мг/л (рис. 1, табл. 1). У побега формируется уплощенная апикальная меристема (рис. 2а, б, в), вокруг центрального цилиндра, образованного пятью основными проводящими пучками (рис. 2г). Гистологический анализ показал, что боковые почки образовывались эндогенно из участков протомеристемы в субэпидермальной зоне побега в районе крупного сосудистого пучка листового следа пазухи листа (рис. 3а, б, в). Это подтверждает необходимость взятия в эксплант участка старого побега с протомеристемой вокруг сосудистого пучка в области листового прорыва. Позднее новая почка отделяется от этого листа в результате вставочного роста междоузлия между нею и этим листом. На сформированном

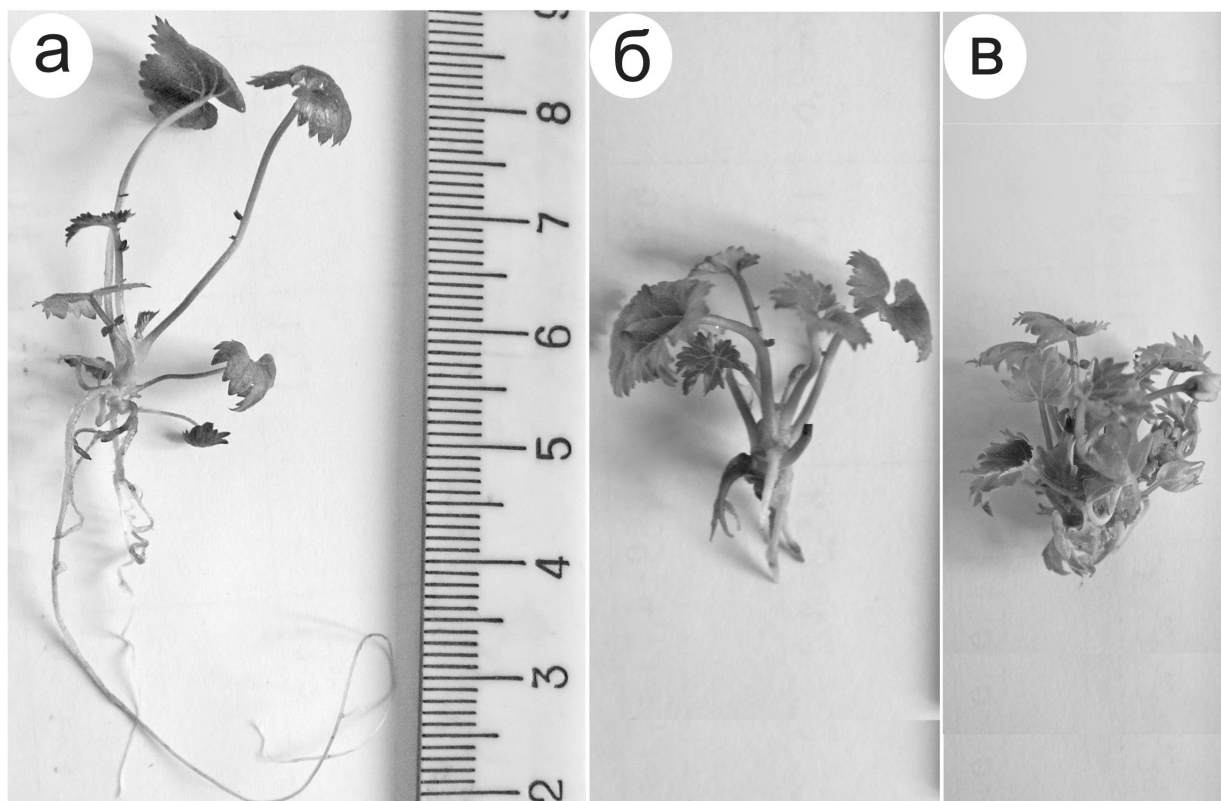


Рис. 1. Габитус микрорастений *Filipendula camtschatica*, выращенных на средах с различным содержанием кинетина (а – 0,05 мг/л; б – 0,2 мг/л; в – 1,0 мг/л; линейка соответствует всем растениям).

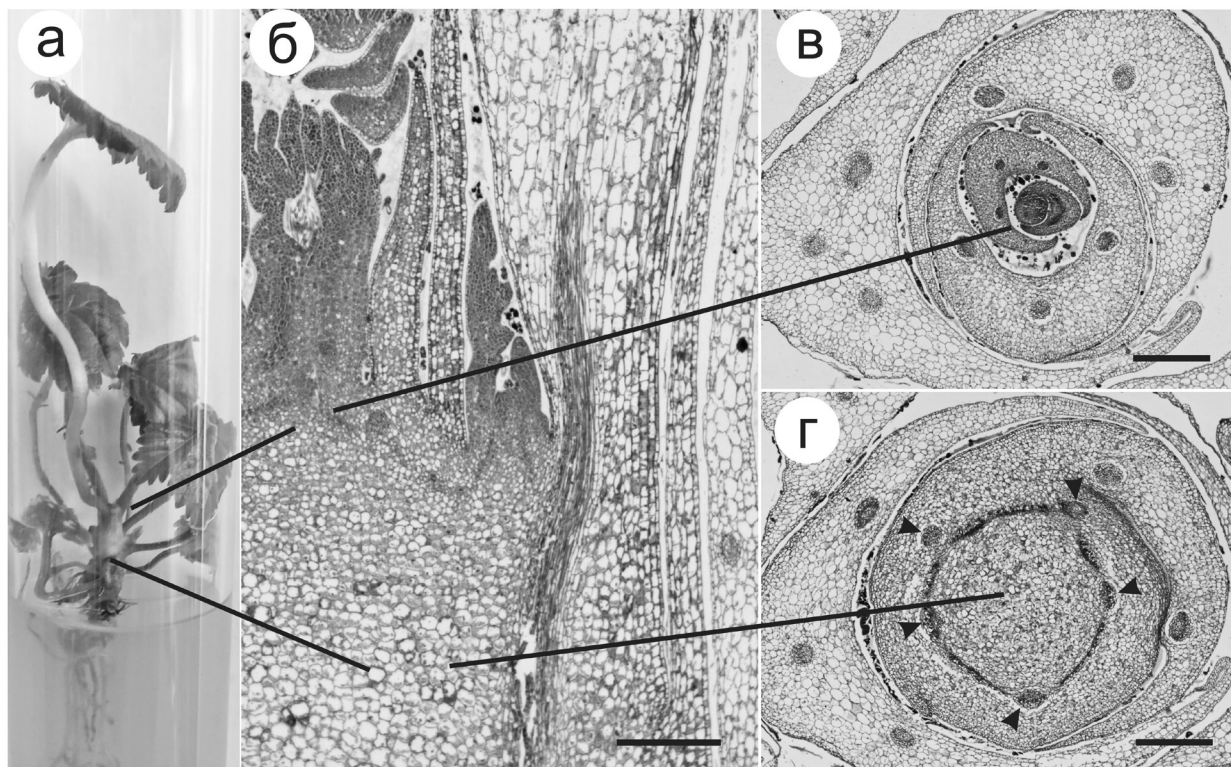


Рис. 2. Строение побега микрорастения *Filipendula camtschatica*: а – микрорастение в пробирке; б – продольный срез побега, линейка 200 мкм; в – поперечный срез побега в области апикальной меристемы; г – поперечный срез центральной части розеточного побега (стрелками показаны проводящие пучки), линейка 500 мкм.

розеточном побеге по мере роста одновременно с образованием боковых почек происходила закладка придаточных корней в субэпидермальной зоне междоузлия стебля (рис. 3г, д, е). Закладка придаточных корней формировалась из клеток, находящихся ближе к поверхности стебля, в отличие от боковых почек (рис. 3г, д). Укоренение побегов наблюдалось как на безгормональной среде, содержащей половинную концентрацию макросолей по MS с добавлением сахарозы 20 г/л, так и на средах, содержащих ИМК и ИУК. Однако, лучше переносили пересадку в грунт и приживались побеги, укоренившиеся на среде без добавления гормонов.

В онтогенезе лабазника камчатского наблюдается смена типов побегов: розеточные в виргинильном периоде сменяются удлиненными побегами в генеративном периоде и снова розеточными в сенильном периоде (Kachura, 1974). Структурным элементом растения является монокарпический трициклический побег. Полный цикл развития монокарпического побега делится на 3 этапа. Первый этап (1-й год жизни) – период заложения почки, второй этап (2-ой год жизни) – прорастание почки в подземный плагиотропный побег. К концу вегетации верхушечная часть побега возобновления изгибается к поверхности

почвы и становится ортотропной, на базальной части побега развиваются многочисленные придаточные корни, побег заканчивается верхушечной почкой с зачатками листьев и соцветиями. Следующей весной (3-й год жизни) происходит только вытягивание междоузлий надземного удлиненного побега. Сформированный удлиненный побег отцветает и с наступлением заморозков отмирает (Kachura, 1974).

Для систем *in vivo* свойственно вложение событий морфогенеза в события онтогенеза (Zhuravlev, Omelko, 2008), в большинстве случаев растения в культуре *in vitro* повторяют те же стадии развития, что и в естественных биотопах. Лабазник – многолетник, и чтобы ему перейти в генеративный период развития, необходимо пройти стадию яровизации. Для индукции формирования генеративных почек пробирочным растениям искусственно создавали период покоя при низких положительных температурах. Однако и эти растения при дальнейших пересадках *in vitro* оставались в виргинильном состоянии и формировали розеточный побег (рис. 3; 4а, б, в). Но, в то же время, микрорастения при пересадке в грунт на третий год формировали ортотропный удлиненный побег и зацветали (рис. 4г). Вероятно, добавление в среду кинетина усиливало ско-

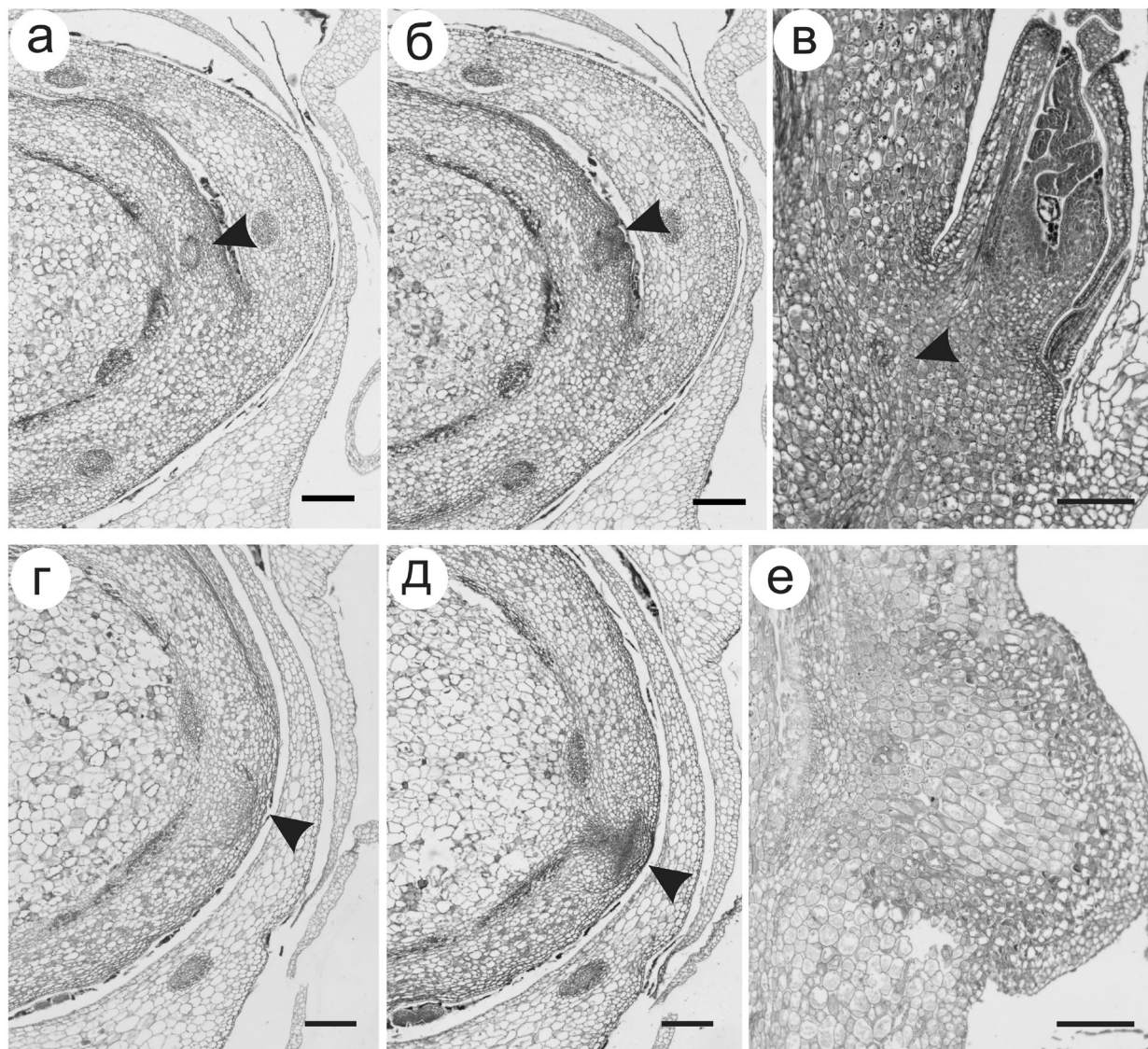


Рис. 3. Формирование боковой почки и придаточного корня *Filipendula camtschatica*: а – поперечный срез побега, стрелкой показан проводящий пучок с протомеристемой будущей почки в пазухе листа; б – поперечный срез побега в области формирующейся почки, стрелкой показана почка с апексом; в – продольный срез боковой почки, стрелкой показана листовая щель; г, д – этапы формирования придаточного корня, стрелкой показаны зоны придаточного корня; е – продольный срез молодого придаточного корня, линейка – 200 мкм.

рость деления меристематических клеток и не запускало программу перехода в генеративную фазу, в результате которой происходит развитие монокарпического побега, т. е. заложение генеративной почки, прорастание плагиотропного подземного побега. В условиях *in vitro* микро-растения были не способны перейти в генеративное состояние и сформировать удлинённый побег, но в грунте, при снятии гормонального давления и, пройдя несколько циклов деления меристематической ткани, микро-растения эти стадии благополучно реализовали (рис. 4).

Уровень жизнеспособности микро-растений в значительной степени определяется их фотосинтетической функцией. Последняя, в свою очередь, имеет положительную корреляцию с

такими показателями как число клеток и хлоропластов на единицу площади листа (Tselniker, 1978). Было проведено сравнение листьев микро-растений с листьями нативных растений. У нативных растений толщина листа в среднем $177,7 \pm 4,4$ мкм, наблюдается дифференциация мезофилла на столбчатую и губчатую ткани, столбчатая ткань представлена двумя, а губчатая 3–4 слоями (Khrolenko et al., 2013). Листья микро-растений имеют толщину в среднем $94,75 \pm 2,17$ мкм и мезофилл этих листьев содержит 1 слой палисадной ткани и 2–3 слоя губчатой. В таблице приведены мезоструктурные характеристики листьев микро-растений, выращенных на средах с разным соотношением гормонов, по сравнению с контролем (табл. 2).



Рис. 4. Укоренение микрорастений *Filipendula camtschatica*: а – микрорастение на агаре; б – микрорастение в горшке; в – пробирочные растения в грунте к концу 1 года культивирования; г – растения в генеративной фазе третьего года культивирования.

Известно, что фитогормоны инициируют рост клеток и тем самым нарушают соотношение между числом хлоропластов в клетке и объемом цитоплазмы, что в свою очередь служит сигналом к репликации хлоропластов. Далее через активацию цитоплазматических рибосом они способствуют синтезу хлорофилла и росту хлоропластов, действуя непосредственно в хлоропластах (Borzenkova, Mokronosov, 1976). Кинетин относится к классу гормонов (цитокинины),

стимулирующих деление клеток. ИМК и ИУК являются ауксинами, стимулирующими рост клеток растяжением (Butenko, 1984; Kataeva, Butenko, 1983; Kieber and Schaller, 2014). По нашим данным, при минимальной концентрации кинетина (0,05 мг/л) превалирует действие ауксинов, т. е. индуцируется растяжение клеток, и, следовательно, у образцов этого варианта самые толстые листья ($105,03 \pm 4,93$ мкм) за счет увеличения размеров клеток, т. к. число слоев

Таблица 2

Мезоструктурные характеристики листьев микрорастений *Filipendula camtschatica*

Параметры Условия питательной среды	Толщина листа, мкм	Объем хлоро- пласта, мкм ³	Число хлоропла- стов в клетках, шт. <u>палисадных</u> губчатых	Число клеток в 1 см ² листа, 10 ⁵ / см ²	Число хло- ропластов в 1 см ² листа, млн.
Без гормонов	90,57 ± 3,02	23,72 ± 1,46	$\frac{9,17 \pm 0,87}{10,0 \pm 0,58}$	12,02 ± 0,6	12,04 ± 1,16
0,05 К+0,05ИУК+2 ГК	105,03 ± 4,93	41,06 ± 4,52	$\frac{13,3 \pm 0,72}{15,64 \pm 1,67}$	6,96 ± 0,46	8,82 ± 0,75
0,2 К+0,05ИУК+2 ГК	97,51 ± 5,72	23,58 ± 3,52	$\frac{10,0 \pm 0,89}{12,17 \pm 1,22}$	7,6 ± 0,61	8,95 ± 0,53
1,0 К+0,05ИУК+2 ГК	92,28 ± 1,89	16,94 ± 1,87	$\frac{10,75 \pm 0,59}{12,22 \pm 0,94}$	6,73 ± 0,61	7,63 ± 0,8

мезофилла не менялось. Рост клеток послужил сигналом к делению хлоропластов и их росту, они крупнее и их больше в клетке (табл. 2). По-видимому, при концентрации кинетина 0,2 мг/л действие фитогормонов приходит в некоторый баланс, и показатели объема хлоропласта, толщины листа, числа хлоропластов в клетке приближаются к контролю. При концентрации кинетина 1 мг/л в большей степени стимулируется деление клеток, чем их рост. Но, несмотря на то, что в эксперименте состав сред различается в 5 и более раз по содержанию кинетина, листья микрорастений достоверно не различаются по числу клеток на единицу листовой поверхности, но все варианты опыта достоверно отличаются от контроля, т. е. от среды без гормонов. Вероятно, различия в концентрации клеток на единицу листовой поверхности в различных вариантах опыта могут наблюдаться только в апикальных и боковых меристемах, за счет чего и происходит увеличение числа листьев на верхушке микрорастения и числа боковых почек, а число дифференцированных клеток остается прежним. Более того, наблюдается тенденция уменьшения концентрации клеток и хлоропластов на единицу листовой поверхности и размера листьев по сравнению с контролем. Возможно, что скорость делений возрастает во времени, а ресурсов клеток, накопленных за период дифференцировки, не хватает. В дальнейшем это не сказывалось на укоренении микрорастений.

Заключение

Показана высокая эффективность размножения *Filipendula camtschatica* в культуре *in vitro*

для сохранения генетического разнообразия данного вида. Среды с добавлением 1,0 мг/л кинетина позволяют длительно поддерживать вид в культуре в виргинильном состоянии только при наличии в экспланте участка сформированного розеточного побега с боковой меристемой. Гистологический анализ участков формирования боковых почек выявил, что они развиваются в пазухах уже сформированных листьев, а не на укороченном междоузлии побега, как корни. Для целей микроразмножения оптимальна среда с содержанием К 1 мг/л, ИУК 0,05 мг/л, ГК 2 мг/л. Такое соотношение фитогормонов стимулирует формирование максимального числа листьев и пазушных почек. Снижение концентрации пластид и клеток на единицу листовой поверхности в этом варианте компенсируется увеличением числа листьев и, следовательно, площади фотосинтезирующей поверхности. Несмотря на редукцию числа слоев палисадной и губчатой ткани и уменьшение показателей пластидного и клеточного наполнения листа микрорастений во всех вариантах опыта (рост растений на средах с гормонами) в сравнении с интактными растениями, микрорастения успешно адаптировались при пересадке в грунт с последующей реализацией генеративного состояния и формированием семян.

Благодарности

Авторы благодарят к. б. н., ст. н. с. Сахалинского ботанического сада В.В. Шейко за любезно предоставленный семенной материал и ведущего инженера лаборатории биотехнологии Л.М. Тимашеву за помощь в проведении данного исследования.

ЛИТЕРАТУРА

- Biologicheskaya produktivnost lugovukh soobshhestv Dalnego Vostoka (priokeanicheskie rayony)*. [Biological productivity of meadow communities of the Far East (seashore areas)]. – Moscow: Nauka, 1981. – 228 p. [in Russian]. (Биологическая продуктивность луговых сообществ Дальнего Востока (приокеанические районы). – М.: Наука, 1981. – 228 с.)
- Borzenkova R.A., Mokronosov A.T.** Role of phytohormones in biogenesis of chloroplasts // Russian journal of plant physiology, 1976. – Vol. 23, No. 3. – P. 490–496 [in Russian]. (**Борзенкова Р.А., Мокроносков А.Т.** Роль фитогормонов в биогенезе хлоропластов // Физиология растений, 1976. – Т. 23, № 3. – С. 490–496).
- Butenko R.G.** Induction of morphogenesis in the plant culture // Hormonal regulation of plant ontogenesis. – Moscow: Nauka, 1984. – P. 42–54 [in Russian]. (**Бутенко Р.Г.** Индукция морфогенеза в культуре тканей растений // Гормональная регуляция онтогенеза растений. – М.: Наука, 1984. – С. 42–54).
- Egorova E.M.** Dikorastuchie dekorativnyue rasteniya Sakhalina i Kurilskikh ostrovov. [Wild decorative plants of Sakhalin and the Kuril Islands] – Moscow: Nauka, 1977. – 254 p. [in Russian]. (**Егорова Е.М.** Дикорастущие декоративные растения Сахалина и Курильских островов. – М.: Наука, 1977. – 254 с.).
- Kachura N.N.** Specific features of development of *Filipendula camtschatica* (Pall.) Maxim. in Kamchatka // Bot. Zhurn. (Moscow, Leningrad), 1974. – Vol. 59, No. 9. – P. 1294–1302 [in Russian]. (**Качура Н.Н.** Особенности развития лабазника *Filipendula camtschatica* (Pall.) Maxim. на Камчатке // Бот. журн., 1974. – Т. 59, № 9. – С. 1294–1302).
- Kataeva N.V., Butenko R.G.** Klonal'noe mikrorazmnozhenie rastenij. [Clonal micropropagation of plants] – Moscow: Nauka, 1983. – 96 p. [in Russian]. (**Катаева Н.В., Бутенко Р.Г.** Клональное микроразмножение растений. – М.: Наука, 1983. – 96 с.).
- Khrolenko Yu.A., Muzarok T.I., Gorpenchenko T.Yu.** Development of rosette shoots *Filipendula camtschatica* (Rosaceae) *in vitro* // Proceed. VI sci. conf. Rasteniya v mussonnom klimate. – Vladivostok: Dalnauka, 2013. – P. 72–73. [in Russian]. (**Хроленко Ю.А., Музарок Т.И., Горпенченко Т.Ю.** Формирование розеточного побега *Filipendula camtschatica* (Rosaceae) в культуре *in vitro* // Растения в муссонном климате – VI: Тез. докл. науч. конф. – Владивосток, 2013. – С. 72–73).
- Kieber J.J., Schaller G.E.** Arabidopsis Book. 2014; 12: e0168. Published online 2014. – January 2. – doi: 10.1199/tab.0168. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3894907/pdf/tab.0168.pdf>
- Lapin A.A., Borisenkov M.F., Karmanov A.P., Berdnik I.V., Kocheva L.S., Musin R.Z., Magdeev I.M.** Estimation of antioxidant properties of water infusions of some medicinal plants and natural lignins // Rastitelnye resursy, 2008. – Vol. 44, iss. 1. – P. 136–141 [in Russian]. (**Лапин А.А., Борисенков М.Ф., Карманов А.П., Бердник И.В., Кочева Л.С., Мусин Р.З., Магдеев И.М.** Оценка антиоксидантных свойств водных настоев некоторых лекарственных растений // Растительные ресурсы, 2008. – Т. 44, вып. 1. – С. 136–141).
- Maksimov O.B., Kulesh N.I., Gorovoj P.G.** Polifenoly dalnevostochnyh rastenij. [Polyphenols of Far eastern plants]. – Vladivostok: Dalnauka, 2002. – 332 p. [in Russian]. (**Максимов О.Б., Кулеш Н.И., Горовой П.Г.** Полифенолы дальневосточных растений. – Владивосток: Дальнаука, 2002. – 332 с.).
- Mokronosov A.T., Borzenkova R.A.** Procedure of quantitative estimation of the structure and functional activity of photosynthesizing tissues and organs // Bulletin of applied botany, genetics and plant breeding. – Leningrad, 1978. – Vol. 61, iss. 3. – P. 119–133 [in Russian]. (**Мокроносков А.Т., Борзенкова Р.А.** Методика количественной оценки структуры и функциональной активности фотосинтезирующих тканей и органов // Тр. по прикладной ботанике, генетике и селекции. – Л., 1978. – Т. 61, вып. 3. – С. 119–133).
- Murashige T., Skoog F.** A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture // Physiol. Plant., 1962. – Vol. 15, No. 13. – P. 473–497.
- Pausheva Z.P.** Praktikum po citologii rastenij. [Practicum on plant cytology] – Moscow: Agropromizdat, 1988. – 271 p. [in Russian]. (**Паушева З.П.** Практикум по цитологии растений. – М.: Агропромиздат, 1988. – 271 с.).
- Rastitel'nye resursy SSSR: Cvetkovye rasteniya, ih himicheskij sostav, ispol'zovanie; Semejstva Hydrangeaceae – Haloragaceae*. [Plant resources of the USSR: Flowering plants, their chemical composition and use; Family Hydrangeaceae – Haloragaceae]. – Leningrad: Nauka, 1987. – 326 p. [in Russian]. (*Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства Hydrangeaceae – Haloragaceae*. – Л.: Наука, 1987. – 326 с.).
- Tselniker Yu.L.** Fiziologicheskie osnovy tenevynoslivosti drevesnyh rasteniy [Physiological basis of shade tolerant woody plants]. – Moscow: Nauka, 1978. – 215 p. [in Russian]. (**Цельникер Ю.Л.** Физиологические основы теневыносливости древесных растений. – М.: Наука, 1978. – 215 с.).
- Vascular plants of the Soviet Far East* / Ed. by S.S. Kharkevich. – St. Petersburg: Nauka, 1996. – Vol. 8. – 383 p. [in Russian]. (Сосудистые растения советского Дальнего Востока. В 8 т. / Отв. ред. С.С. Харкевич. – СПб.: Наука, 1996. – Т. 8. – 383 с.).

Zhinkina N.A., Voronova O.N. On staining technique of embryological slides // Bot. Zhurn. (Moscow, St. Petersburg), 2000. – Vol. 85, No. 6. – P. 168–171 [in Russian]. (**Жинкина Н.А., Воронова О.Н.** К методике окраски эмбриологических препаратов // Бот. журн., 2000. – Т. 85, № 6. – С. 168–171).

Zhuravlev Yu.N., Omelko A.M. Plant morphogenesis *in vitro* // Russian journal of plant physiology, 2008. – Vol. 55, No. 5. – P. 579–596 [in Russian]. (**Журавлев Ю.Н., Омелько А.М.** Морфогенез у растений *in vitro* // Физиология растений, 2008. – Т. 55, № 5. – С. 643–664).