

Т.Т. Турдиев^{1*}, И.Ю. Ковальчук¹, Б.Ж. Кабылбекова², А. Толеген¹,
Н.В. Михайленко¹, И.Р. Рахимбаев¹

¹Институт биологии и биотехнологии растений, Алматы, Казахстан;

²Казахский научно-исследовательский институт плодовоощеводства, Алматы, Казахстан

*Автор для корреспонденции: turdievtt@mail.ru

Восстановление регрессирующих популяций *Populus diversifolia* Schrenk в поймах рек Или и Сырдарья с применением клонирования *in vitro*

Восстановление регрессирующих популяций *Populus diversifolia* Schrenk эффективно проводить с применением клонирования *in vitro*, что позволяет ускоренно и в массовом количестве получать посадочный материал в контейнерах с закрытой корневой системой и высадить растения в естественную среду обитания. Введение *P. diversifolia* в культуру *in vitro* эффективно проводить в зимний период после завершения физиологического покоя. Однолетние одревесневшие черенки длиной 6–7 см с 2–3 почками из отобранных плюсовых деревьев стерилизовали от сапрофитной микрофлоры обезвоживателем «Белизна» (1:1) 10 мин и раствором 0,1% $HgCl_2$ 5 мин и помещали на среду. Оптимальная среда для клonalного микроразмножения — МС, БАП-0,1 мг/л; ГК-0,02 мг/л; В₁-0,5 мг/л; глюкоза 20 г/л. Для перевода растений из *in vitro* в контейнерную культуру лучшим субстратом является торф + чернозем + песок, 50/40/10 соответственно. Для восстановления тугайных лесов, 225 шт саженцев в контейнерах (ЗКС) высадили на территории КГУ «Баканасское лесное хозяйство» в дельте р. Или, и 200 шт на территории КГУ «Отарское государственное учреждение по охране лесов и животного мира» в дельте реки Сырдарья. Приживаемость саженцев в дельте реки Или составила 95 %, в дельте реки Сырдарья 43 %.

Ключевые слова: *Populus diversifolia*, асептические растения, клональное микроразмножение, ризогенез, контейнерная культура.

Введение

Среди древесных пород турянговые тополя выделяются высокой солезасухоустойчивостью. Вид относится к числу незаменимых пород при закреплении песков, облесении засушливых районов Казахстана с засоленными почвами и озеленении промышленных центров и населенных мест. Это единственная высокоствольная древесная порода, способная произрастать в пустынных и полупустынных условиях Южного Казахстана. Турнга разнолистная (*Populus diversifolia* Schrenk) — дерево средней величины, с негустой раскидистой кроной. Достигает высоты 11–16 м. Большинство деревьев имеют хорошо выраженный центральный ствол, многоствольные экземпляры встречаются редко. Высота ствола до начала ветвлений варьирует от 30–40 см до 2,5–3 м. Диаметр ствола в среднем 35–45 см, у наиболее старых экземпляров достигает 90–100 см, в исключительно редких случаях — свыше 150 см [1, 2].

Тугай — это уникальные пойменные леса, распространенные в аридных регионах Средней Азии и произрастающие узкой лентой в долинах и дельтах рек, особый реликтовый тип растительности, сохранивший черты третичной флоры. В настоящее время тугайные леса составляют менее 10 % от площади, занимаемой ими в 60-х годах XX века. Главными причинами повсеместной деградации тугайных экосистем и прекращения естественного возобновления тугайных лесов являются антропогенные преобразования прямого (вырубки, пожары) и косвенного (зарегулирование стока рек) характера, а также климатические изменения — аридное потепление, приводящее к возрастанию иссушения пойменных и дельтовых территорий в вегетационный период. Следствием деградации тугайных экосистем является кардинальная смена типа растительности, что сопровождается образованием различных типов солончаков. Деградированные тугайные экосистемы отличаются меньшим видовым разнообразием и пониженной продуктивностью [3]. В сложившихся условиях необходимо приздание международного статуса всемирного культурного наследия и создание единого заповедного режима для всех тугайных экосистем. Поскольку в современный период стало невозможным естественное возобновление тугаев, в Средней Азии необходимо повсеместное развитие искусственного тугайного лесовосстановления [4–6].

Поскольку туранга плохо размножается черенкованием [1], целесообразно выбрать лучшие по характеристикам деревья и размножить их методом клonalного микроразмножения, отличающимся высокой скоростью и эффективностью размножения, возможностью получения однородного посадочного материала в асептических условиях. В современном мире для вегетативного размножения методы биотехнологии становятся все более значимыми [7]. Особенно этот метод актуален для пород деревьев, трудно размножаемых традиционными способами [8]. Выращивание посадочного материала в контейнерах позволяет повышать приживаемость, сокращать срок выращивания до стандартных размеров, удлинять период посадки искусственных насаждений [9].

Следовательно, в сложившейся ситуации единственным решением задачи восстановление регрессирующих популяций туранги является увеличение ее численности путем искусственной посадки. В связи с этим для восстановления регрессирующих популяций *P. diversifolia* и дальнейшего естественного самовоспроизводства проведены эксперименты по оптимизации микроразмножения отобранных плюсовых деревьев, получения клоновых саженцев и их реинтродукции. Сохранение этого реликтового вида как уникального компонента фитоценоза является важной проблемой, отражённой в конвенции о биологическом разнообразии, которое ратифицировал Казахстан.

Объекты и методика

Для получения асептических растений *P. diversifolia* в зимний период после завершения физиологического покоя из отобранных плюсовых деревьев *P. diversifolia*, произрастающих в поймах реки Или, нарезали однолетние одревесневшие черенки длиной 20–25 см. Введение *in vitro* проводили двумя способами: 1) одревесневшие черенки нарезали на сегменты длиной 6–7 см с 2–3 почками, стерилизовали и высаживали на питательную среду; 2) проращивали побеги из одревесневших черенков, делили на сегменты с одной почкой, стерилизовали и высаживали на питательную среду. В обоих вариантах от сапрофитной микрофлоры стерилизовали отбеливателем «Белизна» (1:1) 10 мин и раствором 0,1 % $HgCl_2$ 5 мин, промывали 3 раза стерильной дистиллированной водой.

Для выявления внутренних системных инфекций базальную часть побегов высаживали на проквакционную питательную среду VISS (сахароза — 10,0 г/л, гидролизат казеина — 8,0 г/л, дрожжевой экстракт — 4,0 г/л, KH_2PO_4 — 2,0 г/л, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ — 15,0 г/л, джелрайт — 6,0 г/л). После чего содержали 1–3 недели в чашках Петри при температуре 23...25°C.

Для введения *in vitro* полученные асептические мини черенки помещали в пробирки с питательной средой Мурасиге и Скуга (МС) с регуляторами роста: 6-бензиламинопурин (БАП) в концентрации — 0,3 мг/л и β -индолил-3-масляная кислота (ИМК) — 0,01 мг/л. После формирования листьев мини-черенки пересаживали на питательные среды различного состава для роста и размножения:

1. МС, БАП — 0,1 мг/л; ГК — 0,01 мг/л; сахароза — 30 г/л; pH — 5,7.
2. МС, БАП — 0,1 мг/л; ГК — 0,01 мг/л; сахароза — 20 г/л; pH — 5,7.
3. МС, В₁ — 0,5 мг/л; БАП — 0,2 мг/л; ГК — 0,02 мг/л; сахароза — 20 г/л; pH — 5,7.
4. МС, В₁ — 0,5 мг/л; БАП — 0,1 мг/л; ГК — 0,02 мг/л; сахароза — 20 г/л; pH — 5,7.
5. МС, В₁ — 0,5 мг/л; БАП — 0,1 мг/л; ГК — 0,02 мг/л; глюкоза — 20 г/л; pH — 5,7.

Результаты эксперимента оценивали после 3-го пассажа. Коэффициент размножения средний за 1 пассаж для каждого генотипа, высчитывали по формуле: $R=a/10b^*c$; (где a — количество вновь образовавшихся побегов; b — количество побегов, высаженных для размножения; c — количество пассажей).

Размноженные мини черенки пересаживали на питательные среды для ризогенеза — МСИМК — 0,5 мг/л и МС ½ + ИМК — 0,5 мг/л.

Среды стерилизовали в автоклаве (ВК-75-01) при давлении 0,8–1,0 атмосфер в течение 25 мин. Растения *in vitro* выращивали при температуре +23–25°C, освещённости 40 $\mu mol\ m^{-2}s^{-1}$, 16-часовом фотопериоде. Растения с корневой системой пересаживали в контейнеры с различным соотношением компонентов субстрата: чернозем + песок, 80/20; торф + чернозем, 50/50; торф + песок, 80/20; торф + чернозем + песок, 50/40/10 и выращивали в условиях теплицы.

Для восстановления тугайных лесов и лесоразведения в южных регионах Казахстана полученные саженцы *P. diversifolia* в контейнерах с закрытой корневой системой (ЗКС) были высажены на двух участках. 1. На территории КГУ «Баканасское лесное хозяйство» ГУ «Управление природных ресурсов и регулирования природопользования Алматинской области» (GPS координаты: высота над уровнем моря — 383 м; N 44,45455; E 76,20147). Растительность, произрастающая на участке: Туранга разнолистная (*Populus diversifolia*), Барбарис илийский (*Berberis iliensis*), Тамарикс ветвистый

(*Tamarix ramosissima*), Лох узколистный (*Elaeagnus angustifolia*), Чингиль серебристый (*Halimodendron halodendron*), Ива джунгарская (*Salix songarica*), Солодка гладкая (*Glycyrrhiza glabra*), единично встречается Ирис злаковидный (*Iris graminea*). Почва на участке супесчаная, местами встречаются солевые выпады. 2. На территории КГУ «Отарское государственное учреждение по охране лесов и животного мира» ГУ «Управление природных ресурсов и регулирования природопользования Туркестанской области». (GPS координаты: высота над уровнем моря — 190 м; N 42,58502; E 68,01143). Растительность, произрастающая на участке: Тамарикс ветвистый (*Tamarix ramosissima*), Лох узколистный (*Elaeagnus angustifolia*), Туранга Литвинова (*Turanga Litwinowiana*), Чингиль серебристый (*Halimodendron halodendron*), Ива джунгарская (*Salix songarica*), верблюжья колючка (*Alhagi*). Почва на участке глинисто-песчаная.

Результаты и их обсуждение

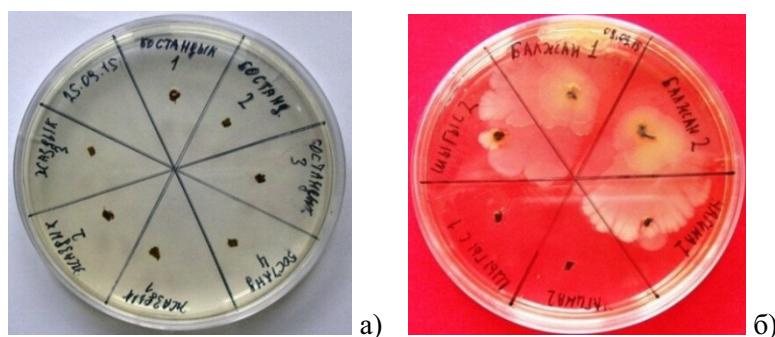
Изучение различных способов введения *in vitro* показало, что для получения асептических растений *P. diversifolia* наиболее эффективно использование одревесневших черенков длиной 6–7 см с 2–3 почками и стерилизация от сапрофитной микрофлоры отбелителем «Белизна» (1:1) 10 мин и раствором 0,1 % HgCl₂ 5 мин с последующей 3-кратной промывкой стерильной дистиллированной водой. При использовании такого варианта регенерация в условиях *in vitro* составляет 60–68 %. Растения, как видно на рисунке 1, имели активный рост и развитие, а листья — ярко-зеленый цвет.



Рисунок 1. Рост и развитие *P. diversifolia* в культуре *in vitro*

Способ введения *in vitro* проращиванием побегов из одревесневших черенков в лабораторных условиях, с последующей высадкой на питательную среду был не эффективен. Растения имели слабый рост и развитие, листья были светло-зелеными и витрифицированными, на верхушках побегов отмечен некроз, а у основания побегов образовался каллус. Количество полученных асептических растений составило 20–35 %.

Помимо сапрофитной микрофлоры, в растениях может развиваться патогенная микрофлора, которая не погибает при стерилизации. При посадке зараженных растений на питательную среду со временем патогенная микрофлора начнет развиваться и может погубить растения. Во избежание этого при посадке растений на питательную среду для клonalного микроразмножения, одновременно вычленяли базальную часть побегов и помещали на провокационную среду VISS [10] (рис. 2).



a — отсутствие инфекции; *б* — бактериальная инфекция

Рисунок 2. Проверка латентной инфицированности эксплантов на среде VISS

В некоторых случаях в различные сроки культивирования у части побегов проявились признаки бактериальной инфекции, выраженные в потемнении основания побега, листьев, а также помутнении питательной среды, что в итоге приводило их к гибели. Проверка на провокационной среде показала наличие бактериальной инфекции. Видимо, проведенная поверхностная стерилизация первичных эксплантов способствовала освобождению от грибной инфекции, но была малоэффективна против бактериальной. Заражённые растения были отбракованы.

После формирования листьев мини черенки пересаживали на питательные среды различного состава для установления оптимального состава для роста и микроразмножения (рис. 3).

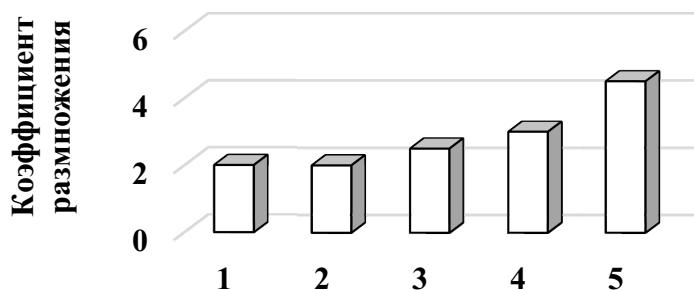


Рисунок 3. Влияние состава питательной среды на клональное микроразмножение *P. diversifolia* (среднее)

Результаты по оптимизации питательной среды для роста и размножения *P. diversifolia* показали, что при использовании сахарозы коэффициент размножения составляет менее 3, состояние растений было неудовлетворительным. Листья и стебли имели светло-зеленый цвет, 60 % растений были витрифицированы. Использование глюкозы привело к повышению коэффициента размножения растений выше 4. Так, на среде МС, БАП — 0,1 мг/л; ГК — 0,02 мг/л; В₁ — 0,5 мг/л; глюкоза — 20 г/л; pH — 5,7 этот показатель достиг в среднем — 4,5. Длина побегов за 4–6 недель составила в среднем 5,4–7,0 см, а количество новых образованных побегов до 4–6 шт.

Размноженные растения пересаживали на питательные среды для ризогенеза — МС, ИМК — 0,5 мг/л и МС ½ + ИМК — 0,5 мг/л. На среде МС ½ + ИМК — 0,5 мг/л, через 2 недели у растений начала появляться и развиваться корневая система. Через 4–5 недель образование корневой системы у растений составило 91,1 % (рис. 4).



a — рост и микроразмножение на питательной среде МС, БАП — 0,1 мг/л; ГК — 0,02 мг/л;
В₁ — 0,5 мг/л; глюкоза — 20 г/л; pH — 5,7;
б — образование корневой системы на среде МС ½ + ИМК — 0,5 мг/л

Рисунок 4. Рост, микроразмножение и образование корневой системы у растений *P. diversifolia* *in vitro*

Растения с корневой системой пересаживали в контейнеры с разным соотношением компонентов субстрата (торф, чернозем, песок) и выращивали в условиях теплицы (рис. 5, 6). В течение 3–4 недель приживаемость растений в контейнерах с субстратом торф+чернозем+песок, 50/40/10 соответственно, составила 75,5 %. В остальных контейнерах приживаемость не превысила 53,3 %.

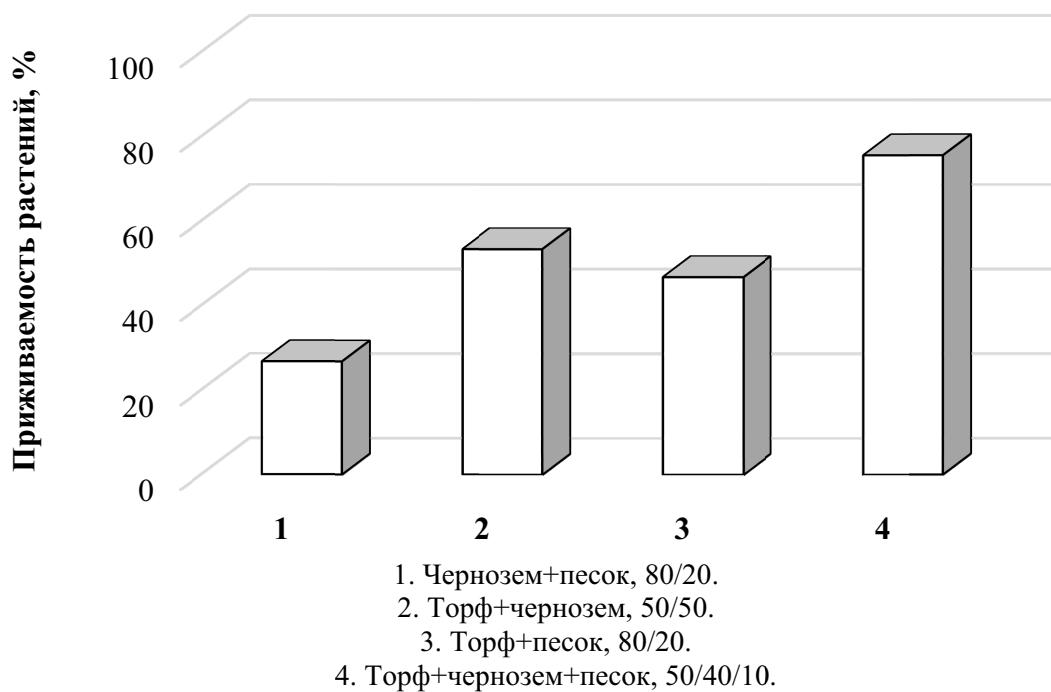


Рисунок 5. Влияние состава субстрата на приживаемость растений *P. diversifolia* (среднее)



Рисунок 6. Рост и развитие *P. DIVERSIFOLIA* в контейнерах с субстратом

Для восстановления тугайных лесов в осенний период высажено 225 штук саженцев *P. diversifolia* в контейнерах (ЗКС) на территории КГУ «Баканасское лесное хозяйство» в дельте р. Или, и 200 штук на территории КГУ «Отарское государственное учреждение по охране лесов и животного мира» в дельте реки Сырдарья (рис. 7).



Рисунок 7. Закладка опытов по восстановлению тугайных лесов

Весной следующего года в фенологической фазе — начало вегетации, в стадии разверзания почек проведен мониторинг посадок саженцев туранги в дельте реки Или. Приживаемость саженцев составила 95 % (рис. 8). Мониторинг приживаемости саженцев в дельте реки Сырдарья проводили осенью следующего года в начале вступления растений в фазу покоя, приживаемость составила лишь 43 %. Низкая выживаемость в последнем случае связана с потравой скотом и дикими животными.



Рисунок 8. Мониторинг осенней посадки саженцев туранги на территории КГУ «Баканасское лесное хозяйство» на дельте реки Или

Заключение

Восстановление регрессирующих популяций *Populus diversifolia* эффективно проводить с применением клонирования *in vitro*, что позволяет ускоренно и в массовом количестве получать посадочный материал в контейнерах с закрытой корневой системой и высадить растения в естественную среду обитания.

Введение *P. diversifolia* в культуру *in vitro* эффективно проводить в зимний период после завершения физиологического покоя из отобранных плюсовых деревьев *P. diversifolia*. Для введения эффективно использовать одревесневшие черенки длиной 6–7 см с 2–3 почками и стерилизация от са-

профитной микрофлоры отбеливателем «Белизна» (1:1) 10 мин и раствором 0,1 % $HgCl_2$ 5 мин с последующей 3-кратной промывкой стерильной дистиллированной водой.

Оптимальная среда для клonalного размножения МС, БАП — 0,1 мг/л; ГК — 0,02 мг/л; В₁ — 0,5 мг/л; глюкоза — 20 г/л; pH — 5,7, где коэффициент размножения достигает в среднем — 4–5, а длина побегов за 4–6 недель в среднем 5,4–7,0 см, количество вновь образованных побегов 4–6 шт.

Для перевода растений из *in vitro* в контейнерную культуру оптимальным субстратом является торф+чернозем+песок, 50/40/10 соответственно.

Для восстановления тугайных лесов, 225 шт саженцев в контейнерах (закрытая корневая система) высажено на территории КГУ «Баканасское лесное хозяйство» в дельте р. Или, и 200 шт на территории КГУ «Отарское государственное учреждение по охране лесов и животного мира» в дельте реки Сырдарья. Приживаемость саженцев в дельте реки Или составила 95 %, в дельте реки Сырдарья 43 %.

Данное исследование выполнено при финансировании Министерства экологии, геологии и природных ресурсов Республики Казахстан (ИРН BR10263776).

Список литературы

- 1 Бессчетнов П.П. Туранговые тополя Казахстана / П.П. Бессчетнов, Л.М. Грудзинская. — Алма-Ата: Наука, 1981. — 152 с.
- 2 Скупченко Б.К. Семенное размножение туранговых тополей / Б.К. Скупченко // Вестн. АН КазССР. — 1950. — № 3. — С. 60.
- 3 Писаренко А.И. Перспективы развития лесных плантаций как основы лесовосстановления / А.И. Писаренко, В.В. Страхов // Лесное хозяйство. — 2014. — № 5. — С. 2–6.
- 4 Кузьмина Ж.В. Тугай и возможности их восстановления в современный период / Ж.В. Кузьмина, С.Е. Трешкин // Аридные экосистемы. — 2012. — Т. 18, № 3. — С. 44–59.
- 5 Оспанов С. Туранга / С. Оспанов // Индустримальная Караганда. — 2003. — С. 10.
- 6 Инелова З.А. Охрана редких и исчезающих видов долины среднего и нижнего течения р. Иле / З.А. Инелова // Вестн. Казах. нац. ун-та. Сер. экол. — 2016. — Т. 27, № 1. — С. 16–24.
- 7 Яблонская М.И. Биотизация растений *in vitro* / М.И. Яблонская, М.С. Гинс, М.А. Молчанова // Вестн. Рос. ун-та дружбы народов. Сер. Агрономия и животноводство. — 2016. — № 1. — С. 15–20.
- 8 Yasodha R. Microppropagation for quality propagule production in plantation forestry / R. Yasodha, R. Sumathi, K. Gurumuthi // Indian Journal of Biotechnology. — 2004. — Vol. 3. — P. 159–170.
- 9 Родин А.Р. Повышение результативности выращивания лесных культур посадочным материалом с закрытой корневой системой / А.Р. Родин, С.А. Родин // Лесной вестн. — 2010. — № 5. — С. 7–9.
- 10 Viss P.R. A simplified method for the control of bacterial contamination in woody plant tissue culture / P.R. Viss, E.M. Brooks, J.A. Driver // In Vitro Cell. Dev. Biol. — 1991. — Vol. 27. — P. 42.

Т.Т. Турдиев, И.Ю. Ковальчук, Б.Ж. Кабылбекова, А. Толеген,
Н.В. Михайленко, И.Р. Рахимбаев

Іле және Сырдария өзендерінің алқаптарында жоғалу қаупі бар *Populus diversifolia* Schrenk популяциясын *in vitro* клондау арқылы қалпына келтіру

Регрессияға ұшырап жатқан *Populus diversifolia* Schrenk популяциясын қайта қалпына келтіруді *in vitro* жағдайында клондау арқылы жүргізген тиімді, себебі ол тамыр жүйесі жабық түрінде контейнерлік өсімдіктерді жылдам әрі жаппай алуға, сондай-ақ табиги мекендеу аумағына отырғызуға мүмкіндік береді. *P. diversifolia* өсімдіктерін *in vitro* жағдайына енгізуі қыс мезгілінде физиологиялық тыныштық күйі аяқталған соң жүргізген тиімді. Ирітелген плюс ағаштардан 2-3 бүршігі бар 6-7 см бір жылдық сүректелген қалемшелер жиналып, «Белизна» агартқышында (1:1) 10 минут және 0,1% $HgCl_2$ препаратында 5 мин сапрофитті микрофлорадан залалсыздандырылды және одан әрі коректік ортаға енгізілді. Клонды микрокөбейту үшін онтайлы коректік орта құрамы — МС, БАП-0,1 мг/л; ГК-0,02 мг/л; В₁-0,5 мг/л; глюкоза 20 г/л. Өсімдіктерді *in vitro* жағдайынан контейнер өсіндісіне ауыстыру үшін ең жақсы субстрат 50/40/10 мөлшеріндегі торф + қара топырақ + құм болып табылады. Тоғай ормандарын қалпына келтіру үшін контейнерлердегі 225 дана көшет (БКС) Иле

өзенінің алқабындағы «Бақанас орман шаруашылығы» КММ аумағында және 200 дана көшет Сырдария өзенінің алқабындағы «Отыrap орман және жануарлар дүниесін қорғау жөніндегі мемлекеттік мекемесі» КММ аумағына отырыпбылды. Іле өзенінің алқабындағы көштеттердің өміршендігі 95%, ал Сырдария өзенінің алқабында 43% құрады.

Kielt сөздер: *Populus diversifolia*, асептикалық өсімдіктер, клондық микрокөбейту, ризогенез, контейнер өсіндісі.

T.T. Turdiev, I.Yu. Kovalchuk, B.Zh. Kabylbekova, A. Tolegen,
N.V. Mikhailenko, I.R. Rakhimbaev

Restoration of endangered *Populus diversifolia* Schrenk population in the basins of the Ile and Syrdarya rivers by in vitro cloning

The restoration of regressing populations of *Populus diversifolia* Schrenkis effectively carried out using in vitro cloning, which allows you to quickly and in large quantities obtain planting material in containers with a closed root system and plant in their natural habitat. The introduction of *P. diversifolia* into in vitro culture is effectively carried out in the winter period after the completion of physiological dormancy. Annual lignified cuttings 6-7 cm long with 2-3 buds from selected plus trees were sterilized from saprophytic microflora with Belizna bleach (1:1) for 10 minutes and a solution of 0.1% HgCl₂ for 5 minutes and placed on the medium. The optimal medium for clonal micropropagation is MS, BAP-0.1 mg/l; GA-0.02 mg/l; B1-0.5 mg/l; glucose 20 g/l. To transfer plants from in vitro to container culture, the best substrate is peat + chernozem + sand, 50/40/10, respectively. For restoration of forests 225 pcs. seedlings in containers were planted on the territory of the Bakanas Forestry in the delta of the river and 200 pcs. on the territory of Otrar State Institution for the Protection of Forests and Wildlife in the delta of the Syrdarya River. The survival rate of seedlings in the delta of the Ili River was 95% and in the delta of the Syrdarya River 43%.

Keywords: *Populus diversifolia*, aseptic plants, clonal micropropagation, rhizogenesis, container culture.

References

- 1 Besschetnov, P.P. & Grudzinskaia, L.M. (1981). *Turangovye topolia Kazakhstana [Turan poplars in Kazakhstan]*. Alma-Ata: Nauka [in Russian].
- 2 Skupchenko, B.K. (1950). Semennoe razmnozhenie turangovykh topolei [Seed reproduction of turan poplars]. *Vestnik Akademii nauk Kazakhskoi SSR — Bulletin of the Academy of Sciences of the Kazakh SSR*, 3, 60 [in Russian].
- 3 Pisarenko, A.I., & Strakhov, V.V. (2014). Perspektivnye razvitiia lesnykh plantatsii kak osnovy lesovosstanovleniya [Prospects for the development of forest plantations as the basis for reforestation]. *Lesnoe khoziaistvo — Forestry*, 5, 2–6 [in Russian].
- 4 Kuzmina, Zh.V., & Treshkin, S.E. (2012). Tugai i vozmozhnosti ikh vosstanovleniya v sovremenneyi period [Tugai and the possibilities of their restoration in the modern period]. *Aridnye ekosistemy — Arid ecosystems*, 18(3), 44–59 [in Russian].
- 5 Ospanov, S. (2003). Turanga [Turan poplars]. *Industrialnaia Karaganda — Industrian Karaganda*, 10 [in Russian].
- 6 Inelova, Z.A. (2016). Okhrana redkikh i ischezaishchikih vidov doliny srednego i nizhnego techenii r. Ile [Protection of rare and endangered species of the valley of the middle and lower reaches of the river Ile]. *Vestnik Kazakhskogo natsionalnogo universiteta. Seriia ekologicheskaia — Bulletin of the Kazakh National University. Ecological series*, 27(1), 16–24 [in Russian].
- 7 Yablonskaia, M.I., Gins, M.S., & Molchanova, M.A. (2016). Biotizatsiia rastenii in vitro [Biotization of plants in vitro]. *Vestnik Rossiiskogo universiteta druzhby narodov. Seriia Agronomii i zhivotnovodstvo — Bulletin of the Peoples' Friendship University of Russia. Agronomy and Animal Husbandry Series*, 1, 15–20 [in Russian].
- 8 Yasodha, R., Sumathi, R., & Gurumuthi, K. (2004). Micropropagation for quality propagule production in plantation forestry. *Indian Journal of Biotechnology*, 3, 159–170.
- 9 Rodin, A.R., & Rodin, S.A. (2010). Povyshenie rezul'tativnosti vyrashchivaniia lesnykh kultur posadochnym materialom s zakrytoi kornevoi sistemoi [Increasement of the efficiency of growing forest crops with planting material with a closed root system]. *Lesnoi vestnik — Forest Bulletin*, 5, 7–9 [in Russian].
- 10 Viss, P.R., Brooks, E.M., & Driver, J.A. (1991). A simplified method for the control of bacterial contamination in woody plant tissue culture. *In Vitro Cell. Dev. Biol.*, 27, 42.