

УСКОРЕННОЕ ПОЛУЧЕНИЕ ОДНОГО ПОКОЛЕНИЯ ЛУКА ЗА ГОД ТЕХНОЛОГИЕЙ КУЛЬТУРЫ ЦВЕТОЧНЫХ БУТОНОВ *IN VITRO*

В.С. Романов*, О.В. Романова, В.В. Логунова, М.М. Тареева

ФГБНУ «Федеральный научный центр овощеводства» (ФГБНУ ФНЦО), Московская обл., Россия

*Эл. почта: romanov_valera@mail.ru

Статья поступила в редакцию 24.0.2022; принята к печати 02.12.2022

Лук репчатый (*A. cepa* L.) – многолетнее травянистое растение – можно выращивать от семени до семени в двух- или трехлетней культуре. Ускорить создания его селекционных форм можно получением гаплоидных и удвоено-гаплоидных растений, а также одного поколения использованием регулируемых условий фитотрона с защищенным грунтом. Мы использовали коллекционный растительный материал лука. У семенных растений бутоны высаживали на полужидкую питательную среду и для формирования каллуса культивировали при 25°C в темноте. Для индукции побегообразования после формирования каллуса культивировали проростки на фильтровальных мостиках в пробирках с жидкой питательной безгормональной средой на свету интенсивностью 5-8 тыс. люкс и фотопериодом 18 часов. Развитые растеньица лука высаживали в горшочки со стерильной почвенной смесью, накрывали сверху перфорированным пластиковым стаканчиком и помещали в климатическую камеру при освещении 10-15 тыс. люкс. Растения-регенеранты в фазу 3-4 настоящих листьев пересаживали в грунт для адаптации к фитотрону, а затем в пленочную теплицу для возделывания по общепринятой технологии выращивания лука репчатого. По такой технологии культуры цветочных бутонов *in vitro* удалось вырастить за год одно поколение растений лука (от бутона до бутона). Время образования каллуса, формирования проростков и выращивания их на фильтровальных мостиках составило 120 суток. В условиях фитотрона растения выращивали 120 суток. В пленочной теплице 60 суток возделывали растения до формирования луковицы, стрелкование –30 суток, бутонизации и цветения – 30 суток. Созревание и подсушивание семян – ещё 60 суток. Определена выравненность растений лука по морфологическим признакам луковицы в потомствах после самоопыления, полученных по технологии культуры цветочных бутонов *in vitro*. Эти растения являются исходным материалом для селекции лука репчатого.

Ключевые слова: лук репчатый, растение-регенерант, питательная среда, бутон, яровизация, стрелкование.

ACCELERATED PRODUCTION OF ONE GENERATION OF ALLIUMS PER YEAR BY THE TECHNOLOGY OF FLOWER BUD CULTURE *IN VITRO*

V.S. Romanov*, O.V. Romanova, V.V. Logunova, M.M. Tareeva

Federal Vegetable Research Center, Moscow Region, Russia

*E-mail: romanov_valera@mail.ru

Onion (*A. cepa* L.) is a perennial herbaceous plant, which may be grown from seed to seed in a two- or three-year culture. Acceleration of the creation of breeding forms of onion is possible by producing of haploid and doubled-haploid plants, as well as of a single generation using regulated phytotron conditions with protected soil. In our research, a collection of onion plants was used. Buds were planted on a nutritional medium. To form calluses, the buds were cultivated in a thermostat at 25°C in the dark. To induce shoot formation after callus formation, a modified nutrient medium was used. Then the seedlings were cultivated on filter bridges in test tubes with a liquid nutrient medium without hormonal supplements at a 5000-8000 lux illumination and a 18-h photoperiod. The developed onion plants were planted in pots with a sterile soil mixture, which were covered with perforated plastic cups and placed in a climatic chamber under a 10000-150000 lux illumination. Regenerating plants at the phase of 3-4 real leaves were transplanted into soil for adaptation to a phytotron, and then into a film greenhouse for cultivation according to the generally accepted technology of onion cultivation. Plants of the first year of vegetation were also obtained through seedlings. After the formation of 3-4 real leaves in onion plants, they were planted in a field where a morphological assessment was carried out. In this way it was possible to grow one generation of onion plants in one year (from bud to bud). The times of callus formation and the formation of seedlings and their cultivation on filter bridges was 120 days. Onion plants were grown in a phytotron for 120 days. In a film greenhouse, plants were cultivated for 60 days before the formation of bulbs, and for 30 days for each, bolting and budding and for flowering. The ripening and drying of the seeds took 60 days. The aligning of onion plants, which were obtained using the technology of flower bud culture *in vitro*, according to the morphological characteristics of their bulbs in the offspring after self-pollination was determined. These plants are the starting material for the selection of onions.

Keywords: onion, regenerating plant, nutrient medium, bud, vernalization, bolting.

Введение

Среди луковых растений различают две жизненные формы со сходными приспособительными признаками, обусловленными сходством условий произрастания – корневищные и луковичные.

Растения корневищных форм имеют многолетнее корневище – стеблевое образование, несущее слабо развитые луковицы и выполняющее функции запасающего органа. У этой группы растений продолжительный период вегетации, одновременная сменяемость корневой системы и надземной части, отсутствие периода физиологического покоя.

Для луковичных форм характерно однолетнее стеблевое формирование (донце) и его слабая выраженность, сильное развитие запасающих сочных чешуй, сравнительно короткий вегетационный период, резкая и одновременная сменяемость корневой системы и надземной части.

Лук репчатый (*A. cepa* L.) – многолетнее травянистое растение, которое можно выращивать от семени до семени в двух- или трехлетней культуре. При двулетнем цикле растение в первый год образует настоящую луковицу, из которой на второй год развивается цветонос, заканчивающийся соцветием, в котором цветки расположены в виде зонтика, после цветения в зонтике завязываются семена. При трехлетнем цикле в первый год образуется мелкая луковичка (севок), на второй год из севка вырастает крупная луковица, из которой на третий год развивается цветонос и семена.

Цветки у лука репчатого расположены в виде шарообразного, густого, многоцветкового зонтика, на котором их число колеблется от 200 до 800. Цветок правильной симметричной формы. Цветоножки в несколько раз длиннее околоцветника. Завязь после опыления образует плод – трехгнездную коробочку, в которой попарно размещаются шесть семян. Семена трехгранные, черного цвета (реже коричневые), длиной 3,1 мм, шириной 2,1 мм, толщиной 1,8 мм. Масса 1000 семян 2,8-5,0 г [1].

В практике селекции и семеноводства существует ряд способов ускоренного выращивания сортовых семян однолетних, двулетних и трехлетних овощных культур [2]. Ускоренное размножение двух- и трехлетних культур возможно беспересадочным способом выращивания при осеннем посеве, ранним получением семян из маточников с оценкой по потомству в том же году, методом штеклингов, либо зимней посадкой яровизированных маточников в защищенный грунт, получение семян и их посев в защищенном грунте [3, 4]. У этих способов выращивания есть свои как достоинства, так и недостатки. Ускорить создание селекционных форм можно получением гаплоидов, как на луке репчатом [5, 6, 7, 8] и шнитт-луке [9], удвоенных гаплоидов [10, 11, 12, 13], так и получением одного поколения использованием регулируемых условий фитотрона с защищенным грунтом [14].

Цель исследования – ускорить создание селекционно-ценных форм лука применением технологии культуры цветочных бутонов *in vitro*.

Материалы и методы

В исследованиях представлен растительный материал лука из УНУ «Генетическая коллекция растительных ресурсов ВНИИССОК» Леон, Картье F1, Роухайд F1, форма $I_3BC_2F_5$ (*Allium cepa* × *A. fistulosum*), созданная на основе межвидовой гибридизации.

Леон – сорт лука с крупными бронзовыми луковичками. Отлично переносит засуху, поздний высокоурожайный. Vegetационный период: 115-120 дней. Листья темно-зелёного цвета с восковым налетом. Для сорта характерна отличная сдерживаемость верхних чешуй и высокая плотность лукович. Не подвержен пероноспорозу, корневой гнили, фузариозу (<https://www.bejo.ru/>).

Картье F1 – лук длинного дня. Цвет покровных чешуй желтый, высокое качество чешуи, луковичка округлая, плотная, шейка тонкая. Содержание сухих веществ 10,2%. Луковички раздвигаются в рядке. Лежкость средняя. Vegetационный период: 100 дней (<https://www.bejo.ru/luk-zheltyy/karte-f1>).

Роухайд F1 – лук длинного дня. Окрас рубашки – бронзовая. Лук длительного хранения. Содержание сухих веществ 11,6%. Отлично раздвигается в рядке. Vegetационный период: 100 дней. (<https://www.bejo.ru/luk-zheltyy/roukhayd-f1>).

Форма $I_3BC_2F_5$ (*Allium cepa* × *A. fistulosum*) – лук длинного дня. Цвет покровных чешуй желтый, высокое качество чешуи, луковичка округлая, плотная, шейка тонкая. Содержание сухих веществ 15,1%. Лежкость высокая. Высокая устойчивость к пероноспорозу. Vegetационный период: 110-120 дней [15].

У семенных растений лука брали бутоны из соцветий, их стерилизовали и в ламинарном боксе высаживали на среду В5 2 мг/л БАП + 1 мг/л 2,4 Д. Дважды пересаживали на свежую питательную среду, а затем бутоны переносили на среду БДС + 3% сахара с добавлением 0,1 мг/л БАП + 0,05 мг/л НУК и помещали в термостат при 25°C в темноту. Для индукции побегообразования после формирования каллуса его переносили дважды на свежую питательную среду БДС + 3% сахара с добавлением 0,1 мг/л БАП + 0,05 мг/л НУК и культивировали на свету интенсивностью 5-8 тыс. ЛК 18 часов. Затем проростки переносили на фильтровальные мостики в пробирки с жидкой питательной безгормональной средой. Культивировали на свету интенсивностью 5-8 тыс. люкс с фотопериодом 18 часов.

После двух пересадок хорошо развитые растения лука высаживали в горшочки со стерильной почвенной смесью, накрывали сверху перфорированным пластиковым стаканчиком и помещали в климатическую камеру при освещении 10-15 тыс. люкс (в случае появления грибной инфекции почву и растения припудривают фундазолом).

Растения-регенеранты в фазу 3-4 настоящих листьев пересаживали в грунт для адаптации при контролируемых условиях фитотрона. Затем их высадили в пленочную теплицу и возделывали по общепринятой технологии выращивания лука репчатого (Рис. 1) [16].

Растения первого года вегетации получали через рассаду, выращенную в зимней остекленной теплице при температуре 18...20°C днем и 8...10°C ночью в период с 25 марта по 5 мая. Высевали по 2-3 семени в кассеты для рассады 8×8 (64-Ф, объём ячейки 80 см³), в которых находилась заранее приготовленная и увлажнённая торфо-почвенная смесь, дополненная перлитом в соотношении 4:2:1, и присыпали торфом. Затем дополнительно увлажняли и накрывали рассадные кассеты плёнкой во избежание пересыхания торфосмеси и для создания микроклимата при прорастании семян. По мере прорастания семян (от 7 до 10 суток) и перехода растений в фазу «петельки» с рассадных кассет убирали плёнку и культивировали до образования 3-4 настоящих листьев по технологии возделывания рассадной культуры лука репчатого. После образования 3-4 настоящих листьев у растений лука их высаживали в поле.

Биометрическую оценку проводили согласно указаниям [17]. Статистическую обработку результатов проводили по [18] с помощью MS Excel. Рассчитывали среднее и ошибку среднего



Рис. 1. Растения лука первого года вегетации

Результаты

Для ускорения создания селекционных форм лука в качестве исходного объекта использовали бутоны, собранные в III декаде июня с семенных растений из открытого грунта.

Бутоны стерилизовали в ламинарном боксе. Сначала их заворачивали в капроновую ткань и помещали в стеклянный сосуд с дезинфицирующим раствором коммерческого препарата «Белизна». Туда же добавляли на 100 мл раствора одну каплю Твина-20. Стерилизовали бутоны в течение 10 минут, затем многократно промывали в стерильной дистиллированной воде до исчезновения пены. В ламинарном боксе бутоны поместили в стерильные банки. Бутоны размером 2 мм сначала высадили на среду В5 2 мг/л БАП + 1 мг/л 2,4 Д, дважды через 20 суток пересаживали их на свежую питательную среду. Затем бутоны перенесли на среду БДС + 3% сахара с добавлением 0,1 мг/л БАП + 0,05 мг/л НУК. Банки с бутонами поставили в термостат в темноту при температуре 25 °C (Рис. 2). Через 40 суток у бутон стал формироваться каллус.



Рис. 2. Бутоны лука, высаженные на питательную среду (III декада июня 2019)

Для индукции побегообразования каллус переносили дважды на свежую питательную среду БДС + 3% сахара с добавлением 0,1 мг/л БАП + 0,05 мг/л НУК с интервалом в 20 суток и культивировали на свету (5-8 тыс. ЛК 18 часов) (Рис. 3). Спустя 20 суток образовавшиеся проростки переносили на фильтровальные мостики в пробирки с жидкой без гормональной питательной средой. Культивировали на свету интенсивностью 5-8 тыс. ЛК с фотопериодом 18 часов (Рис. 4).

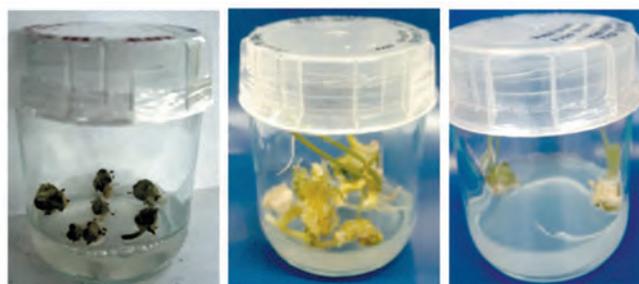


Рис. 3. Формирование каллуса у растений лука.

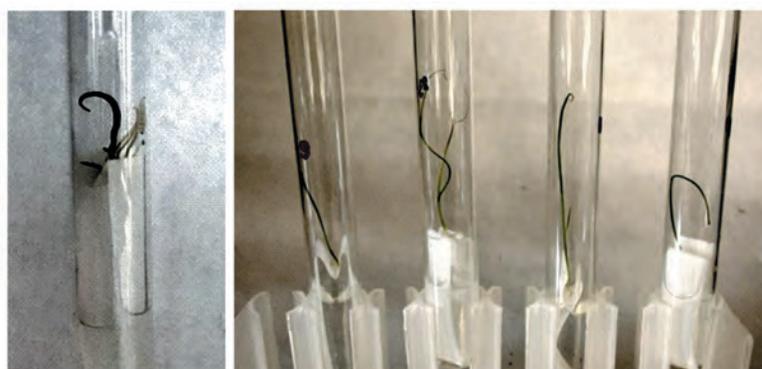


Рис. 4. Подращивание растений-регенерантов лука на фильтровальных мостиках.

Проведя две пересадки с интервалом в 20 суток, хорошо развитые растеньица лука высаживали в горшочки со стерильной почвенной смесью, накрывали сверху перфорированным пластиковым стаканчиком и помещали в климатическую камеру при освещении 10-15 тыс. ЛК (в случае появления грибной инфекции почву и растения припудривают фундазолом) (Рис. 5).



Рис. 5. Растеньица лука, высаженные на стерильную почвенную смесь и накрытые перфорированными стаканчиками (I декада января 2020 года).



Рис. 6. Растения-регенеранты, выращенные в нестерильной почве в контролируемых условиях фитотрона

Пластиковые стаканы убирали через 2 недели. Растения-регенеранты в фазу 3-4 настоящих листьев пересадили в нестерильные условия в грунт для адаптации в контролируемых условиях фитотрона ($t = +8-10^{\circ}\text{C}$). Спустя 3 месяца растения лука высадили в пленочную теплицу.

В теплице высаженные растения лука сформировали луковицы, а затем растений застрелковали. Стрелки отрастали высотой от 95 до 110 см., у одного растения лука высота стрелки составила 35 см (Рис. 8).

В III декаде июня отмечали фазу бутонизации, а в I-II декаде июля началось цветение. Застрелковавшие растения лука, каждое отдельно, изолировали пергаментными изоляторами. Внутри изоляторов провели самоопыление цветков в соцветии с помощью мух. В III декаде августа соцветия срезали и собрали семена.

На следующий год в III декаде марта семена, собранные с растений, полученных по технологии культуры цветочных бутонов *in vitro*, высеяли в кассеты и выращивали в зимней остекленной теплице. После образования 3-4 настоящих листьев растения лука высаживали в поле и выращивали с целью определения выравненности по селекционным признакам луковицы.

В конце периода вегетации провели морфологическую оценку лука. Растения высеянных потомств *сформировали луковицы* массой от 64,3 до 70,1 г округлой формы желтой окраски с незначительной изменчивостью (Табл. 1). Отсутствовали недоразвитые и слабые растения (**недогоны**) (Рис. 10).



Рис. 7. Растения-регенеранты, высаженные в грунт пленочной теплицы (II декада апреля 2020 г.).



Рис. 8. Семенные растения лука в фазу бутонизации и начала цветения (III декада июня 2020 г.).



Рис. 9. Растения лука, выращиваемые через рассаду.

Оценка лука первого года вегетации по биометрическим показателям (2021 год).

Селекционная форма №	Окраска сухих покровных чешуй луковицы	Форма луковицы	Масса луковицы, г	Св, %
№3 (<i>Allium cepa</i> L.)	жёлтая	круглая	64,3±2,2	5,4
№4 (<i>Allium cepa</i> L.)	жёлтая	круглая	61,5±3,2	6,8
№5 (<i>Allium cepa</i> L.)	жёлтая	круглая	70,1±2,8	6,5
I ₃ BC ₂ F ₅ (<i>A. cepa</i> × <i>A. fistulosum</i>)	жёлтая	круглая	60,1±3,5	4,5
Роухайд F1 (<i>Allium cepa</i> L.) (st.)	жёлтая	круглая	65,1±2,5	7,5
НСР ₀₅			5,2	

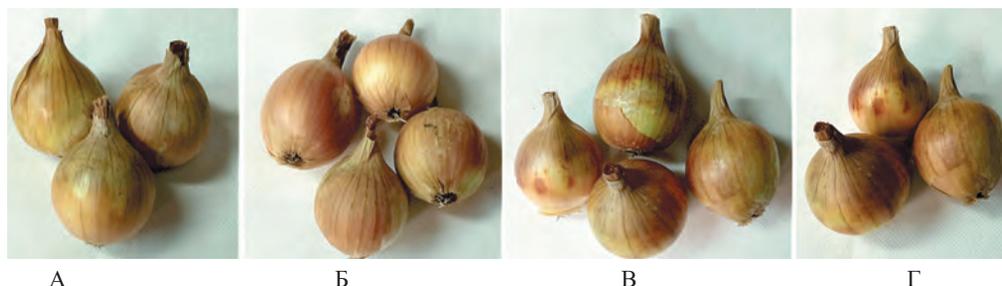


Рис. 10. Селекционные формы лука первого года вегетации от растений, полученных на основе технологии культуры цветочных бутонов *in vitro*: А) форма № 3, Б) форма № 4, В) форма № 5, Г) форма I₃BC₂F₅(*A. cepa* × *A. fistulosum*).

Обсуждение

Перед исследователями для ускорения селекционного процесса и создания исходного материала стоит задача в сокращении сроков вегетации двух-, трехлетних культур. Ранее разрабатывались способы получения одного поколения полуострых форм лука репчатого в год с использованием климатической камеры с заданными режимами освещенности и температуры [14]. Однако из-за сокращения периода прохождения яровизации луковиц небольшое число растений образует стрелку. В наших исследованиях, наряду с использованием контролируемых условий фитотрона, удалось совместить фазу прохождения яровизации на вегетирующих растениях. А также избежать затрат на хранение луковиц.

Заключение

В результате проведенных исследований по ускорению получения растений лука с помощью технологии культуры цветочных бутонов *in vitro* удалось вырастить за один год одно поколение растений лука (от бутона – до бутона).

Время образования каллуса, формирование проростков и выращивания их на фильтровальных мостиках составило 120 суток. 120 суток растения лука выращивали в условиях фитотрона. В пленочной теплице 60 суток возделывали растения до формирования луковицы, в течение 30 суток – стрелкование, бутонизация и цветение – 30 суток. Созревание и подсушивание семян составило дополнительно ещё 60 суток.

Определена выравненность растений лука по морфологическим признакам луковицы в потомствах после самоопыления, полученных на основе технологии культуры цветочных бутонов *in vitro*. Эти растения являются исходным материалом для селекции лука репчатого.

Литература

1. Пивоваров ВФ, Ершов ИИ, Агафонов АФ. Луковые культуры. М.; 2001.
2. Кадиров УА. Ускоренный способ получения семян лука репчатого в условиях южного Узбекистана. Молодой ученый. 2018;26:83-6.
3. Ершов ИИ, Раджабов ФШ. Семеноводство репчатого лука. Картофель и овощи. 1968;7:21-3.
4. Мирзоев МШ. Беспересадочный способ выращивания семян лука репчатого во влажных субтропиках Азербайджана. В кн.: Селекция и семеноводства овощных и бахчевых культур. М.; 2000. С.151-4.
5. Bohanec B, Jakse M, Ihanb A, Javornik B. Studies of gynogenesis in onion (*Allium cepa* L.): induction procedures and genetic analysis of regenerants. Plant Sci. 1995;104:215-24.
6. Campion B, Bohanec B, Javornik B. Gynogenic lines of onion (*Allium cepa* L.): evidence of their homozygosity. Theor Appl Genet. 1995;91:598-602.
7. Musial K, Bohanec B, Przywara L. Embryological study on gynogenesis in onion (*Allium cepa* L.). Sex Plant Reprod. 2001;13: 335-341.
8. Sulistyaningsih E, Yamashita K, Tashiro Y. Haploid induction from F1 hybrids between CMS shallot with *Allium galanthum* cytoplasm and common onion by unpollinated flower culture. Euphytica. 2002;125:139-44.
9. Романова ОВ, Середин ТМ, Романов ВС. Гаплоидия на шнитт-луке (*Allium schoenoprasum* L.) через гиногенез. В кн.: Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и сельскохозяйственной микробиологии. М; 2020. С.:74-6.
10. Rabinowich HD, Currah L, eds. Allium Crop Science: Recent Advances. CABI.; 2002.
11. Musial K, Bohanec B, Jakse M, Przywara L. The development of onion (*Allium cepa* L.) embryo sacs *in vitro* and gynogenesis induction in relation to flower size. In Vitro Cell Dev Biol. Plant. 2005;41:446-52.
12. Bohanec B. Doubled haploids via gynogenesis. In: Advances in Haploid Productions in Higher Plants. Springer Science Business Media B.V.; 2009. P. 35-46.
13. Sulistyaningsih E, Aoyagi Y, Tashiro Y. Flower bud culture of shallot (*Allium cepa* L. Aggregatum group) with cytogenetic analysis of resulting gynogenic plants and somaclones. Plant Cell Tiss Organ Cult. 2006;86:249-55.
14. Логунов АН, Тимин НИ. Методика ускоренного получения одного поколения лука за один год. Картофель и овощи. 2011;(1):16-7.
15. Романов ВС, Молчанова АВ, Павлова ОВ, Тареева ММ. Селекционная и биохимическая характеристика форм лука, созданных на основе межвидовой гибридизации. Овощи России. 2018;(6):23-5.
16. Попков ВА. Лук в условиях Республики Беларусь: Биология, агротехника, экономика. Гомель: ГГТУ им. П.О. Сухого: 2001.
17. Методика проведения испытаний на отличимость, однородность и стабильность лук репчатый (*Allium cepa* L.) и лук шалот (*Allium ascalonicum* L.). RTG/46/2, УРОВ; 2000. С. 528-47.
18. Доспехов БА. Методика полевого опыта. М.: Агропромиздат, 1985. 351 с.

References

1. Pivovarov VF, Yershov II, Agafonov AF. Lukovye Kultury. Moscow; 2001. (In Russ.)
2. Kadirov UA. [An accelerated method of producing onion deeds in South Uzbekistan conditions]. Molodoy Uchenui. 2018;26:83-6.
3. Yershov II, Radzhabov FSh. [Onion seeds production]. Kartofel i Ovoschi. 1968;7:21-3.
4. Mirzoyev MSh. [A method of onion seeds production without onion replanting in moist subtropics of Azerbaijan]. In: Seleksiya i Semenovodstvo Ovoschnykh I Bakhchevykh Kultur]. Moscow; 2000. P. 151-4.
5. Bohanec B, Jakse M, Ihanb A, Javornik B. Studies of gynogenesis in onion (*Allium cepa* L.): induction procedures and genetic analysis of regenerants. Plant Sci. 1995;104:215-24.
6. Campion B, Bohanec B, Javornik B. Gynogenic lines of onion (*Allium cepa* L.): evidence of their homozygosity. Theor Appl Genet. 1995;91:598-602.
7. Musial K, Bohanec B, Przywara L. Embryological study on gynogenesis in onion (*Allium cepa* L.). Sex Plant Reprod. 2001;13: 335-341.
8. Sulistyaningsih E, Yamashita K, Tashiro Y. Haploid induction from F1 hybrids between CMS shallot with *Allium galanthum* cytoplasm and common onion by unpollinated flower culture. Euphytica. 2002;125:139-44.
9. Romanova OV, Seredin TM, Romanov VS. [Haploid state of chive (*Allium schoenoprasum* L.) via gynogenesis]. Biotekhnologiya v Semenovodstve, Zhivotnovodstve i Selskokhoziaystvennoy Mikrobiologii. Moscow; 2000. P. 74-6
10. Rabinowich HD, Currah L, eds. Allium Crop Science: Recent Advances. CABI.; 2002.
11. Musial K, Bohanec B, Jakse M, Przywara L. The development of onion (*Allium cepa* L.) embryo sacs in vitro and gynogenesis induction in relation to flower size. In Vitro Cell Dev Biol. Plant. 2005;41:446-52.
12. Bohanec B. Doubled haploids via gynogenesis. In: Advances in Haploid Productions in Higher Plants. Springer Science Business Media B.V.; 2009. P. 35-46.
13. Sulistyaningsih E, Aoyagi Y, Tashiro Y. Flower bud culture of shallot (*Allium cepa* L. Aggregatum group) with cytogenetic analysis of resulting gynogenic plants and somaclones. Plant Cell Tiss Organ Cult. 2006;86:249-55.
14. Logunov AN, Timin NI. [A technique for accelerated production of a single generation of onions during a single year]. Kartofel i Ovoschi. 2011;(1):16-7.
15. Romanov VS, Molchanova AV, Pavlova OV, Tapeyeva MM. [Selection-related and biochemical characterization of onion forms obtained by interspecies hybridization]. Ovoschi Rossii. 2018;(6):23-5.
16. Popkov VA. Luk v Usloviyakh Respubliki Belarus: Biologiya, Agrotehnika, Tkonomika. Gomel: GGTU im. P.O. Sukhogo; 2001.
17. Anonimous. Metodika Provedeiya Ispytaniy na Ottlichimost', Odnorodnost' i Stabilnost' Luk Repachayi (*Allium cepa* L.) i Luk Shalot (*Allium ascalonicum* L.). RTG/46/2, UPOV; 2000. P. 528-47.
18. Dospekhov BA. Metodika Polevogo Opyta. Moscow: Agroproizdat\$ 1985.

⟷