

Krystyna Szczygiel¹ ✉, Tomasz Wojda¹

Mikrorozmnażanie wisienki stepowej (*Cerasus fruticosa* Pallas)

Micropropagation of sour cherry (*Cerasus fruticosa* Pallas)

Abstract. The aim of this study was to apply the micropropagation method via organogenesis to an endangered species, *Cerasus fruticosa* Pallas. This species is classified as rare and endangered according to the Polish Plants Red Book. The explants – winter-dormant apical and axillary buds from plants growing in Prof. S. Białobok's Forest Arboretum in Forest District Syców – were used for culture initiation. Two basal media were applied for adventitious bud and shoot multiplication: WPM and MS supplemented with 0–2 mg·l⁻¹ BAP, 0.1 mg·l⁻¹ IBA, 10–30 g·l⁻¹ sucrose and 200 mg·l⁻¹ both glutamine and casein hydrolysate. The best results of adventitious shoot multiplication were achieved on WPM medium supplemented with 1 mg·l⁻¹ BAP, 0.1 mg·l⁻¹ IBA and 10–20 g·l⁻¹ sucrose. The addition of 5 g·l⁻¹ activated charcoal to WPM medium (without growth regulators) for one month improved adventitious shoot elongation. The half strength MS medium with 2 mg·l⁻¹ of IBA was the most favourable for microshoot rooting. The acclimatized plants survived two winters and flowered. The micropropagation applied method makes it possible to preserve ‘clean’ genotypes of this endangered species.

Key words: endangered species, organogenesis, adventitious shoots, BAP-6-benzylaminopurine, IBA-indole-3-butyric acid

1. Wstęp

Wiśnia karłowata (wisienka stepowa) *Cerasus fruticosa* Pallas (synonim *Prunus fruticosa* Pallas) została ujęta w „Polskiej Czerwonej Księdze Roślin” jako gatunek chroniony i zagrożony wyginięciem (Wójcicki 2001). Wieloletnie badania (1981–2002) nad biologią i ekologią *C. fruticosa* Pall. prowadzone są w Arboretum w Bolestraszczykach, gdzie znajdują się bogate kolekcje tego gatunku (Piórecki 1982; Wójcicki 2001). *Cerasus fruticosa* Pallas jest krzewem rosnącym do 1,3 m wysokości, o gałązkach wzniesionych lub zwisających. Wykształca liczne odrośla korzeniowe, za pomocą których się rozkrzewia. Często tworzy populacje o stosunkowo dużej liczebności. Jest to gatunek niżowy, na terenie Polski występuje do wysokości 300 m n.p.m. Występuje na Kujawach i w południowo-wschodniej części kraju, a na zachodzie tylko w rezerwacie Bielinek. Rośnie na odsłoniętych wzgórzach, na zboczach jarów i krawędziach dolin rzecznych. Preferuje gleby o odczy-

nie obojętnym lub zasadowym. Ze względu jednak na postępującą degradację jej naturalnych siedlisk, obszar jej występowania coraz bardziej się zmniejsza. Największym zagrożeniem dla wisienki stepowej jest wiśnia pospolita (*Cerasus vulgaris* Mill.). Oba te gatunki krzyżują się ze sobą, tworząc płodne mieszańce, co w konsekwencji doprowadzić może do całkowitego wyginięcia wisienki stepowej. Według Wójcickiego (2001), obecnie na wielu stanowiskach występują tylko mieszańce z niewielką ilością „czystej” *C. fruticosa* Pallas. Dlatego wskazana jest ochrona naturalnych stanowisk tego gatunku i usunięcie z ich sąsiedztwa upraw wiśni pospolitej oraz mieszańców obu gatunków. Skuteczną ochroną zachowania zasobów genowych wisienki stepowej jest zastosowanie metod mikrorozmnażania wyselekcjonowanych „czystych” genotypów, a następnie założenie z nich archiwum klonów oraz w przyszłości reintrodukcja na naturalne siedliska. Próby rozmnażania *in vitro* tego chronionego i zagrożonego wyginięciem gatunku podjęto w Instytucie Badawczym

¹ Instytut Badawczy Leśnictwa, Zakład Hodowli Lasu i Genetyki Drzew Leśnych, Sękocin Stary, ul. Braci Leśnej 3, 05–090 Raszyn; ✉ Fax +48 227200397, e-mail: szczygik@ibles.waw.pl

Leśnictwa, w Zakładzie Genetyki i Fizjologii Drzew Leśnych (od 2010 r. Zakład Hodowli Lasu i Genetyki Drzew Leśnych).

Celem badań prowadzonych w IBL było udoskonalenie metody rozmnażania wisienki stepowej *in vitro* metodą organogenezy. Efektywne rozmnażanie „czystych” genotypów wisienki pozwoliłoby na uzyskanie dużej liczby osobników potomnych, a w rezultacie ułatwiło zachowanie tego gatunku.

2. Materiał i metodyka badań

Materiał do rozmnażania pochodził z Arboretum Leśnego im. S. Białoboka w Nadleśnictwie Syców. Jako eksplantaty (materiał wyjściowy do mikrorozmnażania) zastosowano odcięte pędy (długości ok. 1 cm) z zimowymi pąkami szczytowymi i bocznymi. Pędy pozyskano w lutym 2007 r.

Steryлизację materiału przeprowadzono wieloetapowo: gałęzie z pąkami zimowymi umyto w wodzie z dodatkiem 2–3 kropli Tweenu 20, następnie włożono je do naczynia z wodą, spryskano fungicydem (0,2% Horizon) i nakryto torbą foliową. Tak przygotowane pędy przechowywano przez 7 dni w temperaturze pokojowej, aby uzyskać rozwój pąków. Następnie gałązki przepłukano w wodzie destylowanej i pocięto na odcinki 0,5–1 cm zawierające pąki. Moczone je przez 10 min w 0,1% roztworze Sekuseptu forte (środek do sterylizacji narzędzi chirurgicznych), po czym przepłukano sterylną wodą destylowaną. Wymyte odcinki pędów zanurzano w 0,1% roztworze HgCl₂ i wytrząsano przez 10 min, po czym (bez przepłukiwania w sterylnej wodzie destylowanej) wykładano na bibułę i suszono w warunkach sterylnych (w komorze z laminarnym przepływem powietrza).

W celu inicjacji kultur wysterylizowane eksplantaty (ogółem 40–90 szt., po 5 szt. w słoiku) wykładano na pożywki MS (Murashige, Skoog 1962) lub WPM – Woody Plant Medium (Lloyd, McCown 1981) uzupełnione hormonami wzrostu: 2 mg·l⁻¹ BAP (6-benzyloamino-puryna) z 0,1 mg·l⁻¹ IBA (kwas indolilomasłowy) oraz glutaminą i hydrolizatem kazeiny po 200 mg·l⁻¹. Pożywki utwardzono agarą (6,5 g·l⁻¹) i doprowadzono do pH 5,8. Kultury wykładano co 2–3 tygodnie na świeże pożywki.

W fazie namnażania pąków i wzrostu elongacyjnego pędów zastosowano ww. pożywki podstawowe, lecz uzupełnione różną ilością sacharozy i hormonów wzrostu.

W tej fazie hodowli zbadano:

– wpływ stężenia sacharozy (10–30 g·l⁻¹) oraz BAP (0,2–2 mg·l⁻¹) w pożywce podstawowej WPM na długość i liczbę nowopowstałych pędów,

– wpływ stężenia BAP (0–2 mg·l⁻¹) w pożywce podstawowej MS na liczbę i długość wykształconych pędów (stężenie sacharozy 30 g·l⁻¹).

Kultury hodowano w 16 godzinnym fotoperiodzie, w świetle o natężeniu 30 μmol·m⁻²·s⁻¹ i temperaturze 23°C. Temperatura w nocy wynosiła 15°C.

Ukorzenianie nowopowstałych pędów o długości 1–1,5 cm prowadzono:

– na pożywce podstawowej MS lub WPM bez hormonów wzrostu,

– na 50% pożywce podstawowej MS uzupełnionej IBA w ilościach 0,1; 1 i 2 mg·l⁻¹.

Kultury hodowano w świetle o niskim natężeniu 10 μmol·m⁻²·s⁻¹. Udatność ukorzeniania określano w procentach po 1 miesiącu hodowli.

W niektórych wariantach doświadczeń w celu wzrostu elongacyjnego pędów przed ukorzenianiem, wykładano je na 1 miesiąc na pożywkę bez hormonów wzrostu, ale uzupełnioną węglem aktywnym w ilości 5 g·l⁻¹.

Dla doświadczeń z pożywką WPM wykonano analizę wariancji w klasyfikacji dwuczynnikowej, a dla doświadczeń z pożywką MS analizę wariancji jedno-czynnikową. Szczegółowe testy post-hoc przeprowadzono stosując test HSD Tukeya przy stałym poziomie istotności α=0,05. Istotność różnic pomiędzy wartościami średnimi na wykresach zaznaczono małymi literami alfabetu (wartości oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie przy poziomie istotności α=0,05). Dodatkowo na słupkach wykresów zaznaczono błędy standardowe.

Ukorzenione pędy wysadzano do doniczek Jiffy. Przez 1 tydzień rośliny przechowywano w ciemności, w temperaturze 15°C. Przez następne 2 tygodnie rośliny znajdowały się w fitotronie w świetle o natężeniu 30 μmol·m⁻²·s⁻¹ i temp. 23°C w dzień, a w nocy 15°C. W tych warunkach wykształcały one nowe liście, wydłużały pędy i korzenie przerastające doniczki. Następnie przenoszono je do szklarni, gdzie przez 1 miesiąc hodowano bez doświetlania (zima), po czym zastosowano 16 godzinne doświetlenie lampami sodowymi o natężeniu 50 μmol·m⁻²·s⁻¹. Wiosną sadzonki wysadzano w skrzynkach z ziemią ogrodniczą i wyniesiono na zewnątrz szklarni. Po 2 latach hodowli sadzonki przesadzono do doniczek o poj. 2 l, a w następnym roku wysadzono w gruncie.

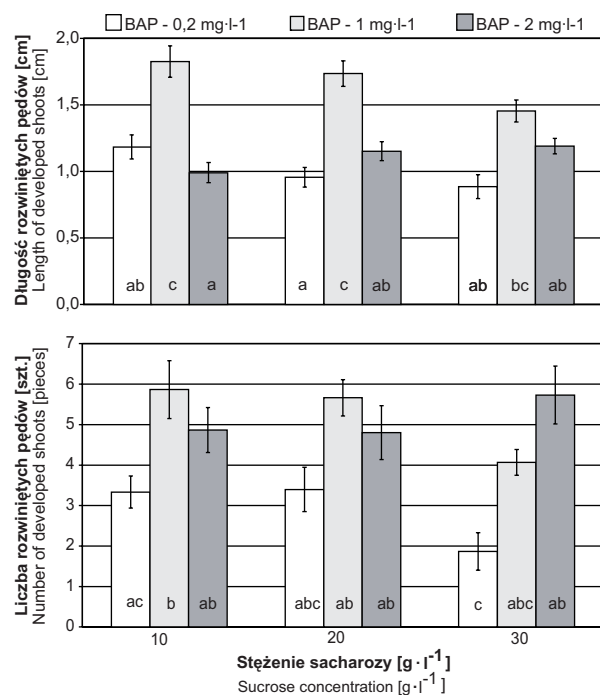
3. Wyniki

Znaczna liczba eksplantatów po rozwinięciu pąków okazała się nieprzydatna do inicjacji kultur, ponieważ wykształcała tylko pąki kwiatowe, a u podstawy pędów kalus. Pozostałe rozwinięte pąki pędowe, boczne i

wierzchołkowe wykorzystano do inicjacji kultur. Na odciętych pąkach, po ich wyłożeniu na pożywkę z $2 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ BAP, wykształciły się liczne, nowe pąki przybyszowe, z których wyrosły 1–2 cm pędy. Powstałe wielorośla dzielono co 2–3 tygodnie i przesadzano na świeżą pożywkę. W ten sposób z jednego pąka otrzymano dużą liczbę pędów przybyszowych – 20–50 szt. (fot. 1).

Analiza statystyczna wyników wykazała istotny wpływ stężenia BAP na długość wykształconych pędów ($p=0,000$). W przypadku uzupełnienia pożywki WPM $0,2 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ BAP średnia długość pędów była najmniejsza i wynosiła średnio $1,01 \text{ cm}$; natomiast dodanie $1 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ tej cytokininy umożliwiło wykształcenie najdłuższych pędów – średnio $1,67 \text{ cm}$ (ryc. 1). Analiza statystyczna nie wykazała natomiast istotnego wpływu stężenia sacharozy na długość wykształconych pędów ($p=0,156$). Średnie długości pędów przy stężeniu sacharozy 10 , 20 i $30 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ wynoszą odpowiednio: $1,33$; $1,28$ i $1,18 \text{ cm}$. Zaobserwowano wpływ interakcji stężenia BAP i sacharozy na długość wykształconych pędów. Najdłuższe pędy zostały wykształcone przy równoczesnym zastosowaniu w pożywce WPM $1 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ BAP z $10 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ sacharozy.

Sacharoza i cytokinina, uzupełniające pożywkę WPM, w wyraźny sposób wpływają również na liczbę wykształconych pędów. Analiza statystyczna wyników



Rycina 1. Wpływ stężenia sacharozy ($\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$) oraz BAP ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$) na długość i liczbę wykształconych pędów *Cerasus fruticosa* Pall. Pożywka podstawowa WPM

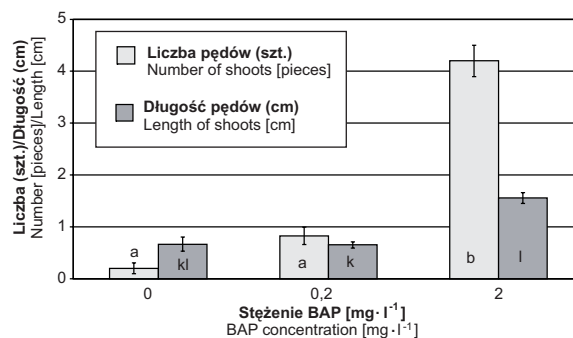
Figure 1. Influence of sucrose ($\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$) and BAP ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$) concentration on developing shoots length and number. WPM basal medium

wykazała istotny wpływ stężenia BAP, uzupełniającego pożywkę WPM, na liczbę wykształconych pędów ($p=0,000$). Mała dawka BAP w pożywce ($0,2 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$) negatywnie wpływa na liczbę pędów. Natomiast uzupełnienie podłoża $1 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ BAP wraz z obniżeniem stężenia cukru do $10\text{--}20 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ korzystnie wpływa na ten proces. Zaobserwowano wpływ interakcji między stężeniem BAP i sacharozy w pożywce WPM na liczbę wykształconych pędów przybyszowych (ryc. 1).

Wyraźny wpływ na liczbę wykształconych pędów miała zastosowana pożywka podstawowa. Na pożywce MS uzupełnionej sacharozą w ilości $30 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ wykształciły się pędy mniej liczne (ryc. 2) niż na na podłożu WPM (ryc. 1). Analiza statystyczna wyników wykazała istotny wpływ stężenia BAP zarówno na liczbę ($p=0,000$), jak i na długość wykształconych pędów ($p=0,000$). Najkorzystniejsze okazało się wzbogacenie pożywki MS o $2 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ BAP (grupa jednorodna *b*) – wykształciły się pędy najdłuższe i najliczniejsze. Natomiast nie ma statystycznie istotnych różnic w liczbie wytworzonych pędów na pożywce MS bez cytokininy (0) i uzupełnionej $0,2 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ BAP (grupa jednorodna *a*).

Zastosowanie w fazie wzrostu elongacyjnego pędów przybyszowych pożywki podstawowej WPM bez hormonów wzrostu, a uzupełnionej węglem aktywnym ($5 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$) w sposób widoczny wpłynęło na przyrost ich długości.

Nowopowstałe pędy o długości $1\text{--}1,5 \text{ cm}$ wykładano na okres 1 miesiąca na pożywkę do ukorzeniania. Zależnie od składu pożywki uzyskano różną udatność ukorzeniania pędów (tab. 1). Chociaż wzbogacając pożywkę 50% MS o $1 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ IBA uzyskano najwyższą udatność ukorzeniania pędów ($33,7\%$), to jednak najkorzystniejszą okazała się pożywka 50% MS uzupełniona $2 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ IBA (fot. 2). Hodowla pędów na tym podłożu dodatkowo przez 3 tygodnie spowodowała, że $51\text{--}71\%$ pędów wykształciło korzenie. Po 3 tygodniach adaptacji



Rycina 2. Wpływ stężenia BAP ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$) na liczbę i długość nowopowstałych pędów. Pożywka podstawowa MS uzupełniona sacharozą w ilości $30 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$

Figure 3. Influence of BAP ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$) concentration on adventitious shoots number and length. MS basal medium supply with $30 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ of sucrose.

Tabela 1. Udatność ukorzenia (%) pędów przybyszowych *Cerasus fruticosa* Pall.

Table 1. Percentage (%) of adventitious shoots rooting of *Cerasus fruticosa* Pall.

Zastosowane pożywki podstawowe Applied basal media	Stężenie IBA IBA concentration	Udatność ukorzenia Share of rooting
	mg·l ⁻¹	%
50% MS	0	8,6
50% MS	1	33,7
50% MS*	2	29,0
MS	0,1	26,8
WPM	0	0,0

* ukorzenianie pędów kontynuowano przez 3 tygodnie, co zwiększyło udział pędów ukorzenionych od 57 do 71%
rooting of shoots continued for three weeks, which increased the share of rooted shoots from 57 to 71%



Fotografia 1. Pędy przybyszowe wiesienki stepowej (fot. W. Janiszewski)

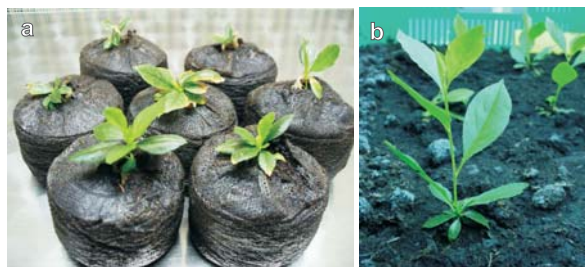
Photo 1. Sour cherry (*Cerasus fruticosa*) adventitious shoots



Fotografia 2. Ukorzenione pędy przybyszowe wiesienki (fot. J. Kowalczyk)

Photo 2. Sour cherry rooted adventitious shoots

do wzrostu w warunkach niesterylnych w fitotronie, mikrosadzonki wykształciły nowe liście i wydłużyły pędy (fot. 3a). Następnie przesadzono je do skrzynek z glebą ogrodniczą (fot. 3b), a po 2 latach do doniczek. Sadzonki przeżyły 2 zimy, po czym wiosną zakwitły (fot. 4). Ogółem wyhodowano ok. 400 szt. sadzonek.



Fotografia 3. Sadzonki po 3 tygodniach po wysadzeniu do doniczek Jiffy (a) i po 3 miesiącach hodowli w glebie ogrodniczej (b) (fot. J. Kowalczyk)

Photo 3. Three old week seedlings in Jiffy pots (a) and after 3 months in soil substrate (b)



Fotografia 4. Dwuletnia sadzonka *C. fruticosa* Pall. wyhodowana *in vitro* (fot. J. Kowalczyk)

Photo 4. Two years old flowering seedling of *C. fruticosa* Pall.

Reasumując, w celu uzyskania metodą organogenezy sadzonek *Cerasus fruticosa* Pall. wskazane jest zastosowanie pożywki podstawowej WPM (w fazach inicjacji i namnażania kultur). Inicjację pędów przybyszowych uzyskano uzupełniając ją 2 mg·l⁻¹ BAP z 0,1 mg·l⁻¹ IBA i sacharozą – 30 g·l⁻¹. Celem uzyskania dużej wydajności namnażania i wzrostu elongacyjnego korzystne jest dodanie do podłoża 1 mg·l⁻¹ BAP z 0,1 mg·l⁻¹ IBA i sacharozę w ilości 10–20 g·l⁻¹. Najwyższą udatność ukorzenia nowopowstałych pędów uzyskano na pożywce MS rozcieńczonej do połowy i wzbogaconej o auksynę – 2 mg·l⁻¹ IBA.

4. Dyskusja

Przedstawiona wyżej metoda rozmnażania *in vitro* wiesienki stepowej umożliwia produkcję sadzonek z wyselekcjonowanych „czystych” genotypów, które stanowiłyby materiał roślinny, w celu zakładania kolekcji tego gatunku, przeznaczonych do upraw ogrodniczych, a także do nasadzeń w lasach.

Chociaż różne gatunki czereśni są rozmnażane *in vitro* od ponad 20 lat, to literatura poświęca *C. fruticosa* mało uwagi. W celu uzyskania osobników potomnych stosowana jest głównie metoda organogenezy, a jako

eksplantaty wierzchołki pędów z pąkami (HanPing et al. 2001). Do regeneracji *Cerasus avium* L. i *C. vulgaris* Mill. jako eksplantaty zastosowano również liście sadzonek wyhodowanych *in vitro* (Tang et al. 2002). Pruski i inni (2005) do inicjacji kultur wisienki wykorzystali pąki w stanie spoczynku zimowego, podobnie jak w naszych doświadczeniach. Udatność inicjacji kultur zimą była stosunkowo niska. Bardziej korzystne wydaje się zastosowanie wiosną jako eksplantatów rozwiniętych pąków lub tegorocznych pędów. Do inicjacji kultur oraz ich namnażania na ogół stosowana jest cytokinina BAP wraz z auksyną, głównie IBA w stężeniu $0,1 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$. Najczęściej pożywki podstawowe WPM lub MS uzupełniane są BAP w stężeniu $1\text{--}2 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (Tang et al. 2002; Pruski et al. 2005) lub $0,5 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (HanPing et al. 2001). W naszych doświadczeniach większość kultur hodowana była przez 2 lata na pożywce WPM wzbogaconej o $2 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ BAP z $0,1 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ IBA i $30 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ sacharozy. Jednak z przeprowadzonych badań wynika, że korzystniejsze jest uzupełnienie pożywki WPM $1 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ BAP z $0,1 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ IBA, przy zawartości sacharozy w podłożu $10\text{--}20 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$. W tych warunkach hodowli wykształciło się najwięcej i najdłuższych pędów przybyszowych. Podobnie jak w badaniach Tang i inni (2002) w celu ukorzenienia nowopowstałych pędów najkorzystniejsza okazała się pożywka podstawowa MS, rozcieńczona do połowy i uzupełniona $2 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ IBA. Bijelić ze współpracownikami (2002, 2005; Bijelić 2006) przeprowadziła obszerne badania nad rozmnażaniem *in vitro* podkładek różnych genotypów *C. fruticosa* i *C. avium* L. Eksplantaty stanowiły wierzchołki pędów. Jako pożywkę podstawową zastosowano MS, uzupełnioną różnymi regulatorami wzrostu, w różnych stężeniach. Stwierdzono, że zdolność do mikrorozmnażania podkładek zależy przede wszystkim od genotypu eksplantatu oraz składu pożywek. Z naszych badań również wynika, że w celu uzyskania wydajnego namnażania pąków, dla badanego przez nas genotypu *C. fruticosa* i w rezultacie uzyskania sadzonek, niezbędne jest uzupełnienie pożywki podstawowej o odpowiednią dawkę hormonów wzrostu.

Od 2006 r. nowoczesna pracownia kultur tkankowych Arboretum Leśnego im. Prof. S. Białoboka w Nadleśnictwie Syców, podlegająca Lasom Państwowym, wdraża metody mikrorozmnażania niektórych gatun-

ków roślin zagrożonych wyginieciem m.in. wiśni karłowatej, wawrzynka główkowego, cisa pospolitego oraz długosza królewskiego. Wisienkę stepową rozmnażano metodą organogenezy według podobnej metodyki jak w IBL, uzyskano również liczne sadzonki (Sęktas 2008). Autor wskazuje na możliwość wdrożenia zastosowanych metod mikrorozmnażania i wykorzystania ich na szerszą skalę, dla celów gospodarczych Lasów Państwowych.

Literatura

- Bijelić S. 2006. Micropropagation of different genotypes of steppe cherry (*Prunus fruticosa* Pall.). *Journal of Agricultural Research*, 67, 2: 91–96.
- Bijelić S., Gološin B., Cerović S. 2002. In vitro propagation of *Prunus fruticosa* and Gisela 5. *Letopis naučnih radova*, 26, 1: 191–195.
- Bijelić S., Gološin B., Cerović S., Ognjanov V. 2005. Effect of TDZ on *in vitro* propagation of steppe cherry *Prunus fruticosa* Pall. *Voćarstvo*, 39, 152: 461–468.
- HanPing D., BaoJiang L., LiHua L., FengJun L. 2001. Techniques of tip tissue culture for Prairie sour cherry. *China Fruits*, 6: 19–21.
- Lloyd G., McCown B. 1981. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. *Proceedings – International Plant Propagators Society*, 30: 421–427.
- Murashige T., Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum*, 15: 473–497.
- Piórecki J. 1982. Badania nad biologią i ekologią rzadkich i ginących roślin. *Arboretum Bolestraszyce*, 1.
- Pruski K., Astatkie T., Nowak J. 2005. Tissue culture propagation of Mongolia cherry (*Prunus fruticosa*) and Nanking cherry (*Prunus tomentosa*). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 82: 207–211.
- Sęktas S. 2008. Hodowla sadzonek z wykorzystaniem kultur tkankowych. *Postępy Techniki w Leśnictwie*, 104: 22–27.
- Tang H., Zhenglong Ren Z., Reustle G., Krczal G. 2002. Plant regeneration from leaves of sweet and sour cherry cultivars. *Scientia Horticulturae*, 93: 235–244.
- Wójcicki J. J. 2001. *Cerasus fruticosa* – wiśnia karłowata (wisienka stepowa), w: Polska Czerwona Księga Roślin: paprotniki i rośliny kwiatowe (red. Kaźmierczakowa R., Zarzycki K.). Kraków, Instytut Botaniki im. W. Szafera, PAN: 209–211.