

Научная статья

УДК 634.711:57.043

DOI: 10.30901/2658-6266-2022-1-02



Криоконсервация образцов сортов малины отечественной селекции из *in vitro* коллекции ВИР

А. М. Камнев, С. Е. Дунаева, Н. Н. Волкова, О. В. Лисицына, Т. А. Гавриленко

Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия

Автор, ответственный за переписку: Татьяна Андреевна Гавриленко, tatjana9972@yandex.ru

В генетических банках растений криоколлекции используются для длительного хранения культур, которые не могут сохраняться в семенных коллекциях. К ним относятся вегетативно размножаемые культуры, образцы видов, формирующих малое число семян или имеющих рекальцитрантные семена. Для криосохранения большинства ягодных культур используют апексы побегов проросточных растений, поэтому определяющим этапом для них является наличие *in vitro* коллекции. В *in vitro* коллекции ВИР сохраняется 150 образцов рода *Rubus* L., из них 85 сортов малины, в том числе 59 отечественной селекции. Эти сорта характеризуются широким эколого-географическим разнообразием. Среди них имеются сорта малины, созданные в конце XIX века – первой половине XX века, в том числе селекции И.В. Мичурина и основоположника северного садоводства В.В. Спирина. Более половины образцов отечественных сортов малины (33 сорта) числятся в Государственном реестре селекционных достижений, допущенных к использованию. Собранный в *in vitro* коллекции ВИР сортимент малины российской селекции ограниченно представлен в зарубежных генбанках. Задача данной работы заключалась в криоконсервации образцов сортов малины преимущественно народной и старой российской селекции, поступивших в ВИР в период с 1925 по 1950 год, а также мониторинг посткриогенной регенерационной способности у сортов малины, ранее заложенных в криобанк ВИР. Замораживание при сверхнизких температурах апексов микрорастений проводили у 10 сортов малины из *in vitro* коллекции ВИР (7 из которых относятся к сортам народной и старой российской селекции) с использованием ранее оптимизированного протокола дроплет-витрификации – «DV-biotech». В криобанк ВИР на длительное хранение передано 10 образцов сортов малины (900 апексов) со средним уровнем посткриогенной регенерации $38,2 \pm 3,0$, определенным в контрольных экспериментах перед закладкой на длительное хранение в криобанк. Отмечено статистически значимое влияние генотипа на жизнеспособность эксплантов после криоконсервации, в то время как статистически значимого влияния генотипа на посткриогенную регенерацию эксплантов не обнаружено. Дополнительно у 17 сортов малины, хранившихся в криобанке от одного до пяти лет, оценивали уровень посткриогенной регенерации. Из 17 проверенных образцов сортов малины (296 апексов) посткриогенная регенерация на уровне 20%–70% была выявлена у четырех сортов, сохраняемых в криобанке в течение одного года, и на уровне 10%–50% у восьми сортов с более длительным сроком криохранения в криобанке – от трёх до пяти лет. По результатам проведенного мониторинга отмечена регенерация у 12 сортов малины на уровне от 10% до 70%. Эти сорта можно считать надёжно сохраняемыми в парах жидкого азота в криобанке ВИР. Мониторинг посткриогенной регенерации образцов малины, хранящихся в криобанке ВИР, и криоконсервация новых сортов малины будут продолжены.

Ключевые слова: *Rubus idaeus* L., сорта, криоконсервация, посткриогенная регенерация, криобанк, криосохранение

Благодарности: Работа выполнена в рамках государственного задания ВИР согласно тематическому плану НИР по теме № 0481–2022–0004. Авторы выражают благодарность сотруднику ВИР к. б. н. П.В. Озерскому за консультацию и помощь при статистической обработке материала.

Для цитирования: Камнев А.М., Дунаева С.Е., Волкова Н.Н., Лисицына О.В., Гавриленко Т.А. Криоконсервация образцов сортов малины отечественной селекции из *in vitro* коллекции ВИР. *Биотехнология и селекция растений*. 2022;5(1):17-27. DOI: 10.30901/2658-6266-2022-1-02

Прозрачность финансовой деятельности. Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы. Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы.

© Камнев А.М., Дунаева С.Е., Волкова Н.Н., Лисицына О. В., Гавриленко Т.А., 2022

Original article

DOI: 10.30901/2658-6266-2022-1-o2

Cryopreservation of raspberry cultivar accessions bred in Russia from the VIR *in vitro* collection

A. M. Kamnev, S. E. Dunaeva, N. N. Volkova, O. V. Lisitsyna, T. A. Gavrilenko

N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, St. Petersburg, Russia

Corresponding author: Tatjana A. Gavrilenko, tatjana9972@yandex.ru

Cryobanks use plant cryocollections for long-term preservation of crops which cannot be preserved in seed collections. These are vegetatively propagated crops, accessions of species which form either a small amount of seeds, or recalcitrant seeds. Shoot tips (apexes) of *in vitro* plants are used for cryopreservation for most berry crops, therefore maintenance of *in vitro* collections is very important. The VIR *in vitro* collection includes 150 accessions of *Rubus* L. species, 85 of them are raspberry cultivars, 59 of which were bred in Russia. These cultivars reflect a wide ecogeographic diversity. Among them, there are raspberry cultivars created at the end of the 19th – first half of the 20th centuries, including cultivars bred by I.V. Michurin and by the pioneer of northern horticulture V.V. Spirin. More than half of national raspberry varieties (33) are listed in the State Register for Selection Achievements Admitted for Usage. Raspberry cultivars from Russian breeding programs have a very limited representation in foreign genebanks. The first aim of the present work was cryopreservation of mostly folk and old Russian raspberry cultivars received by VIR from 1925 till 1950 and their transfer into the cryobank. The second aim of the work was to monitor post-cryogenic regeneration of raspberry cultivars transferred to the cryobank earlier. A modified protocol of the droplet vitrification method by “DV-biotech” was used for cryopreservation of shoot tips of *in vitro* plants of 10 raspberry cultivars (7 of which are folk and old Russian ones) from the VIR *in vitro* collection. Post-cryogenic regeneration was evaluated for 17 raspberry cultivars preserved in the cryobank from one to five years. Ten raspberry cultivars (900 apexes) with an average mean post-cryogenic regeneration value of 38.2±3.0% determined in control tests, were placed in the cryobank for long-term storage. A statistically significant effect of the genotype on the viability of explants after cryopreservation was noted, while the post-cryogenic regeneration was genotype insensitive. Additionally, levels of post-cryogenic regeneration were evaluated for 17 raspberry cultivars (296 apexes) preserved in the cryobank from one to five years. Post-cryogenic regeneration within the 20-70% range was displayed by four raspberry cultivars preserved in the cryobank for one year, and for 8 cultivars conserved there from three to five years post-cryogenic regeneration was within the 10-50% range. According to the results of monitoring, regeneration displayed by 12 raspberry cultivars was within the 10-70% range, which can be considered as a reliable rate of apex preservation in liquid nitrogen vapors in the VIR cryobank. Monitoring of the post-cryogenic regeneration of the raspberry accessions preserved in the VIR cryobank and cryopreservation of new raspberry cultivars will be continued.

Keywords: *Rubus idaeus* L., cultivars, cryobank, post cryogenic regeneration, cryopreservation

Acknowledgments: The article was prepared as part of the VIR State Assignment in accordance with the R&D Thematic Plan, Topic No. 0481–2022–0004 “The study of genetic resources of cultivated plants, their wild relatives and created forms using a complex of modern methods of DNA diagnostics” and No. 0662-2019-0004 “VIR Collections of vegetatively propagated crops (potatoes, fruits, berries, ornamental crops, grapes) and their wild relatives; their study and rational use”. The authors express gratitude to research scientist PhD P.V. Ozerskiy for his advice and assistance in statistical data analysis.

For citation: Kamnev A.M., Dunaeva S.E., Volkova N.N., Lisitsyna O.V., Gavrilenko T.A. Cryopreservation of raspberry cultivar accessions bred in Russia from the VIR *in vitro* collection. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2022;5(1):17-27. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2022-1-o2

Financial transparency. The authors have no financial interest in the presented materials or methods. The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work. The journal’s opinion is neutral to the presented materials, the author, and his or her employer.

© Kamnev A.M., Dunaeva S.E., Volkova N.N., Lisitsyna O.V., Gavrilenko T.A., 2022

Введение

Криоконсервация рассматривается как стратегия длительного депонирования в криобанках растительного материала, который не может сохраняться в семенных коллекциях. Это вегетативно размножаемые культуры, виды с рекальцитрантными, не поддающимися длительному хранению семенами или образующие малое количество семян (Reed, 2001; Popova et al., 2015; Panis et al., 2020; Roque-Borda et al., 2021).

Среди ягодных культур умеренного климата малина занимает одно из ведущих мест благодаря ценным пищевым и лекарственным свойствам. В России селекция малины прошла путь от доместикации лесной обыкновенной малины *Rubus idaeus* L. (XVII век) до создания современных сортов, представляющих сложные межвидовые гибриды (Rozanova, 1937; Kazakov et al., 2016).

Малина относится к вегетативно размножаемым культурам, которые в генетических банках растений поддерживаются преимущественно в полевых коллекциях. Для сохранения наиболее ценных генотипов, подверженных в полевых коллекциях воздействию абиотических стрессоров и вредных организмов, создаются дублированные *in vitro* и криоколлекции (Reed et al., 2011; Panis et al., 2020).

В полевом генбанке ВИР поддерживается 209 образцов рода *Rubus* L., из которых 84 – это сорта малины, остальные 125 образцов представлены сортами ежевики, малино-ежевичных гибридов и клонами дикорастущих видов малины, ежевики и морошки. В *in vitro* коллекции ВИР сохраняется 150 образцов, из них 85 сортов малины, другие 65 образцов включают сорта ежевики, малино-ежевичных гибридов и клоны дикорастущих видов рода *Rubus* (Dunaeva et al., 2022). Из 85 сортов малины, 59 относятся к российской селекции; в их число входят сорта малины, созданные в конце XIX – первой половине XX века, в том числе сорта селекции И.В. Мичурина и основоположника северного садоводства В.В. Спирина. Более половины сортов малины (33 сорта), числятся в Государственном реестре селекционных достижений, допущенных к использованию (State Register, 2021). В зарубежных генбанках такой сортимент малины представлен ограниченно.

Для сортов малины, равно как и для других образцов рода *Rubus*, *in vitro* и криоколлекции в настоящее время малочисленны и находятся в единичных депозитариях. Так, самое большое число образцов рода *Rubus* сохраняется в контролируемых условиях в депозитариях США: 135 образцов – в *in vitro* коллекции Национального депозитария клоновой гермоплазмы (NCGR, Corvallis) (Dunaeva et al., 2022) и 187 – в криоколлекции Plant and Animal Genetic Resources Preservation Unit (PAGRPU, Fort Collins) (Jenderek, Reed, 2017). В предыдущей публикации (Ukhatova et al., 2017) нами приведены данные о наличии криоколлекций образцов рода *Rubus* в России и зарубежных странах. В доступных нам литературных источниках

дополнительная информация по криоколлекциям образцов рода *Rubus* не выявлена.

В случае ягодных культур, для криосохранения генотипов растений используют апексы побегов, изолированные из растений *in vitro* (Vysotskaya et al., 1999; Reed, 2001; Kovalchuk et al., 2010; Höfer et al., 2019; Panis et al., 2020); реже фрагменты черенков со спящими почками (Jenderek, Reed, 2017; Rantala et al., 2021) и в селекционных целях проводят криоконсервацию пыльцы источников и доноров ценных признаков (Tikhonova et al., 2020). Криоконсервацию апексов побегов *in vitro* растений образцов рода *Rubus* осуществляют на основе разных методов: программного замораживания с контролируемой скоростью (Reed, Lagerstedt, 1987; Reed, 1988; Reed, 1993; Chang, Reed, 1999; Vysotskaya et al., 1999; Vysotskaya, Popov, 2005), инкапсуляции-дегидратации, инкапсуляции-витрификации (Wang et al., 2005; Gupta, Reed, 2006), PVS2 витрификации (Kovalchuk et al., 2010; Uchendu et al., 2010) и дроplet-витрификации (Nukari et al., 2009; Condello et al., 2011; Vujović et al., 2011, 2017; Tuohimetsä, Nukari, 2019; Edesi et al., 2020).

На базе отдела биотехнологии ВИР была начата криоконсервация сортов малины отечественного происхождения из *in vitro* коллекции института. С использованием оптимизированного протокола дроplet-витрификации – «DV-biotech» (Ukhatova et al., 2017), в 2014–2016 годах проведена закладка в криобанк ВИР 12 сортов малины. В их числе два сорта («Новокитаевская» и «Самарская Плотная»), в которых не был выявлен вирус RBDV (Antonova et al., 2015), два сорта малины селекции НИИСС («Барнаульская», «Соколенок»), 5 сортов селекции ВСТИСП («Бальзам», «Кокинская», «Метеор», «Спутница», «Скромница») и три сорта малины стародавней селекции («Белая Спирина», «Прогресс» и «Шарташская Усанка») (Ukhatova et al., 2017).

Цель настоящей работы заключалась в расширении криоколлекции образцов сортов малины российской селекции для обеспечения их длительного надежного сохранения. В рамках указанной цели была поставлена задача криоконсервации новых образцов преимущественно староместной селекции и проверки пост-криорегенерационной способности ранее заложенных образцов.

Материалы и методы

В 2019–2021 годах проведена криоконсервация 10 сортов малины обыкновенной (*Rubus idaeus*) из *in vitro* коллекции ВИР, информация о которых представлена в таблице 1. Большинство сортов относятся к стародавней селекции, некоторые из них, по результатам полевой оценки, обладают устойчивостью к болезням, например, «Малая Устюжная» устойчива к ржавчине листьев, а «Крупноплодный сеянец», «Ранняя Сладкая», «Суздальская» и «Шарташская Усанка» – к септориозу (Krivchenko, 1976).

Таблица 1. Информация о сортах малины обыкновенной, отобранных из коллекции *in vitro* для криоконсервации и закладки в криобанк ВИР

Table 1. Data on raspberry cultivars, selected from the VIR *in vitro* collection for cryopreservation and transfer into the VIR cryobank

№/ No.	Название сорта/ Cultivar name	№ по каталогу ВИР / VIR catalogue No.	Место и год создания сорта/ Place and year of cultivar release	Родительские формы/ метод получения/ Parent cultivars/ cultivar breeding method (Dunaeva, Rokko, 2019)	Год поступления образца в ВИР, откуда образец получен*/ Year of cultivar entry in VIR, Source from which sample was obtained	Год введения в <i>in vitro</i> коллекцию ВИР/ Year of addition to the VIR <i>in vitro</i> collection
1	‘Крупноплодный сеянец’	к-8257	Не установлено	Сорт народной селекции	1949, Челябинская опытная станция (ОС), экспедиционный сбор 1925 года	2002
2	‘Малая Устюжная’	к-8264	Вологодская обл./ не установлен	Сорт народной селекции	1948, Хибинская ОС, экспериментальная база	2009
3	‘Ранняя сладкая’	к-8283	Вологодская обл./ конец XIX – начало XX века	Не установлено	Не установлено	2002
4	‘Суздальская’	к-15014	Не установлено	Сорт народной селекции	1960, не установлено	2002
5	‘Шарташская Усанка’	к-8337	Не установлено	Сорт народной селекции	1925, Франция	2001
6	‘Щербатовка’	к-8339	Не установлено	Сорт народной селекции	1930, Москва	1999
7	‘Марьянушка’	к-39375	Украина/ не установлен	Не установлено	1989, Украина	2002
8	‘Дочь Вислухи’	и:о-144444	НИИСС/ не установлен	Сеянец от свободного опыления сорта ‘Вислуха’	1998, ВСТИСП, Москва	Поступил как <i>in vitro</i> образец
9	‘Зоренька Алтай’	к-13922А	НИИСС/ 1972	Свободное опыление гибрида дикорастущей местной малины <i>R.idaeus</i> × Viking	Год не установлен. НИИСС	2007
10	‘Трояна’	к-35931	НИИСС/ не установлен	Свободное опыление сорта ‘Carnival’	1988, НИИСС	2005

*Данные предоставлены отделом генетических ресурсов плодовых культур ВИР из каталогов поступления образцов

Все клоны сортов малины были введены в культуру *in vitro* из полевой коллекции Павловской опытной станции ВИР (в настоящее время НПБ «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР»), за исключением сорта ‘Дочь Вислухи’, полученного из *in vitro* коллекции ВСТИСП. Образцы в *in vitro* коллекции ВИР поддерживались при температуре 23–25°C, фотопериоде 16 часов и освещенности люминесцентными лампами 4–5 клк на уровне пробирочных растений. Микроразмножение растительного материала и последующие этапы по криоконсервации апексов побегов *in vitro* растений выполняли в соответствии с протоколом в «Методических указаниях ВИР» (Dunaeva et al., 2017). Криоконсервацию апексов проводили у 10 сортов малины из *in vitro* коллекции ВИР (табл. 2) с использованием оптимизированного протокола дроплет-витрификации – «DV-biotech» (Ukhatova et al., 2017,

Dunaeva et al., 2017). Оценку регенерационной способности образцов проводили через 3, 6 и 8 недель.

Вторая часть исследований заключалась в проверке посткриогенной регенерации 17 сортов малины, заложенных в криобанк ВИР в 2014–2020-х годах (табл. 3) из расчета 9 криопробирок на образец по 10 эксплантов в каждой. Данные о родословных и географическом происхождении этих сортов приведены нами в предыдущей работе (Ukhatova et al., 2017). Из криохранилища извлекали по одной криопробирке каждого сортообразца (до 10 апексов). Оценку посткриогенной регенерационной способности образцов проводили в соответствии с указанным выше протоколом (Dunaeva et al., 2017). В случае отсутствия посткриогенной регенерации, дополнительно извлекали еще три криопробирки, получая в итоге выборку до 40 апексов побегов для одного сорта.

Для статистической обработки полученных данных использовали программу PAST 4.03 (Hammer et al., 2001). Проверку распределений значений регенерации апексов побегов до и после криоконсервации проводили с помощью критерия Шапиро-Уилка. Влияние генотипа оценивали с применением критерия Краскела-Уоллиса, попарное сравнение генотипов проводили при помощи критерия Манна-Уитни (с поправкой Бонферрони) (Kobzar, 2006).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Криоконсервация сортов малины отечественной селекции

В таблице 2 представлены данные посткриогенной регенерации образцов малины отечественной селекции в контрольных экспериментах. Процент регенерировавших эксплантов в варианте погружения эксплантов в жидкий азот ('+LN') в течение одного часа, в среднем составил 38,2%. В этом контрольном варианте только у одного сорта 'Суздальская' частота посткриогенной регенерации была менее 30%.

Таблица 2. Жизнеспособность и посткриогенная регенерация апексов побегов сортов малины из *in vitro* коллекции ВИР, заложенных в криобанк ВИР в 2019-2021 годах

Table 2. Viability and cryoregeneration ability of raspberry cultivar explants from the VIR *in vitro* collection placed in the VIR cryobank in 2019-2021

№/ No.	Сорт/ Cultivar	№ по каталогу ВИР/ VIR catalogue No.	'-LN' Регенерационная способность/ Regeneration ability, %	'+LN'	
				Жизнеспособность/ Viability, %	Регенерационная способность/ Regeneration ability, %
1	'Дочь Вислухи'	и:о-144444	80,9±7,8	58,7±0,7	44,6±2,4
2	'Зоренька Алтая'	к-3922А	43,0±8,1	38,3±6,0	33,3±1,8
3	'Крупноплодный сеянец'	к-8257	41,0±9,5	41,0±7,1	39,0±5,5
4	'Малая Устюжная'	к-8264	58,3±10,9	34,3±5,8	34,3±5,9
5	'Марьянушка'	к-39375	50,3±5,6	37,0±14,0	33,7±10,8
6	'Ранняя сладкая'	к-8283	43,3±3,3	37,3±1,5	37,3±1,6
7	'Суздальская'	к-15014	50,7±0,7	32,7 ±3,2	26,7±6,0
8	'Трояна'	к-35931	36,6±15,2	42,3±3,0	34,7±5,4
9	'Шарташская Усанка'	к-8337	54,8±4,4	37,0±5,4	37,0±5,5
10	'Щербатовка'	к-8339	80,0±10,0	61,7±11,7	61,7±11,8
	Среднее		53,6±4,9	42,0±3,2	38,2±3,0

'-LN' – вариант без погружения апексов побегов в жидкий азот/ option without submerging apexes in liquid nitrogen;

'+LN' – вариант с краткосрочным (один час) погружением апексов побегов в жидкий азот/ option with submerging apexes in liquid nitrogen for 1 hour

Полученные данные указывают на достоверное снижение среднего значения регенерационной способности апексов побегов после их погружения в жидкий азот ($p \leq 0,05$). Выявлено статистически значимое влияние генотипа ($H_c = 27,83$; $p = 0,001$) на регенерационную способность эксплантов в контрольных экспериментах без погружения в жидкий азот (вариант '- LN'), в то время как после криоконсервации (вариант '+LN'), влияние генотипа на этот показатель было не достоверным ($H_c = 16,78$; $p = 0,052$). В то же время, после криоконсервации отмечено статистически значимое влияние генотипа на жизнеспособность эксплантов ($H_c = 21,22$; $p = 0,012$). При попарном сравнении сортов по регене-

рационной способности эксплантов в варианте '- LN' достоверно различались сорта 'Дочь Вислухи' и 'Крупноплодный сеянец', 'Дочь Вислухи' и 'Трояна', 'Щербатовка' и 'Трояна'; после криоконсервации (вариант '+LN') по этому показателю достоверно различались сорта 'Суздальская' и 'Щербатовка', а по уровню жизнеспособности эксплантов – сорта 'Дочь Вислухи' и 'Ранняя сладкая'.

На рисунке 1 приведены данные фоторегистрации формирования регенерантов у сорта малины 'Дочь Вислухи', сделанной на шестой неделе после замораживания и последующего оттаивания (контрольный вариант '+LN').



Рис. 1. Посткриогенная регенерация эксплантов сорта малины ‘Дочь Вислухи’ на шестой неделе после замораживания-оттаивания в контрольном варианте.

На представленной фотографии уровень посткриогенной регенерации составляет 38% (8 эксплантов с регенерантами из 21)

Fig. 1. Post-cryogenic regeneration of cultivar ‘Doch Visluxi’¹ isolated explants on week six after freezing and thawing in the control experiment.

Post-cryogenic regeneration rate is 38% (8 explants from 21 have regenerants)

Периодическая оценка регенерационной способности апексов побегов, заложенных в криобанк, по аналогии с контролем всхожести коллекций семян, имеет решающее значение для подтверждения надёжности длительного хранения образцов. Мониторинг жизнеспособности образцов в криобанке также необходим для выяснения качества заложенного материала и выявления потенциальных проблем или образцов с пониженной жизнеспособностью (Vollmer et al., 2017).

Нами была изучена способность апексов побегов к посткриогенной регенерации у 17 сортов малины с разными сроками хранения в криобанке ВИР. Из них 13 сортов малины сохранялись в криобанке ВИР от трёх до пяти лет, и четыре сорта малины (‘Дочь Вислухи’, ‘Зоренька Алтая’, ‘Малая Устюжная’ и ‘Ранняя сладкая’) находились в криобанке в течение одного года. Полученные данные приведены в таблице 3.

¹ От Редактора: в тексте сохранен Авторский вариант транслитерации названия сорта ‘Дочь Вислухи’ по правилам ГОСТ 7.79-2000 система Б (ISO 9:1995) / Editor’s note: The authors version of transliteration of the cultivar name ‘Doch Vislukhi’ according to ISO 9:1995 was retained in the text.

Таблица 3. Результаты мониторинга посткриогенной регенерации апексов побегов 17 сортов малины, сохранившихся в криобанке

Table 3. Results of monitoring the post-cryogenic regeneration for shoot apexes of 17 raspberry cultivars preserved in the VIR cryobank

№/ No.	Название сорта/ Cultivar name	№ по каталогу ВИР/ VIR catalogue No.	Данные о регенерации в контрольных экспериментах (+LN) до закладки образцов в криобанк/ Data of regeneration from control experiments (+LN) before transferring accessions to the cryobank		Данные о регенерации в контрольных выемках образцов из криобанка/ Data from control removal of accessions from the cryobank	
			Год закладки/ Year of placing	Уровень посткриогенной регенерации/ Post-cryogenic regeneration rate (%)	Число, месяц, год выемки материала/ Date, month, year of material removal	*Уровень посткриогенной регенерации/ Post-cryogenic regeneration, %
Закладка образцов в криобанк в 2014–2016 годах/ Transferring of accessions into the cryobank in 2014-2016						
Уровень посткриогенной регенерации образцы сортов малины после трёх - пяти лет хранения в криобанке/ Post-cryogenic regeneration capacity of raspberry cultivars after three-five years of preservation in the cryobank						
1	‘Phoenix’	к-25944	2016	70,1±4,7	10.09.2019	29% (2/7)
2	‘Барнаульская’	к-31185	2015	81,1±1,1	10.09.2019	37% (3/8)
3	‘Белая Спирина’	к-8210	2014	57,4±6,3	07.10.2019	50% (5/10)
4	‘Кокинская’	к-35921	2015	51,7±1,7	10.09.2019	30% (3/10)
					27.01.2020	50% (5/10)
5	‘Метеор’	к-35926	2016	89,3±0,7	10.09.2019	20% (2/10)
					13.03.2020	30% (3/10)
6	‘Прогресс’	к-8293	2016	56,8±9,1	10.09.2019	20% (2/10)
7	‘Скромница’	к-35478	2014	24,2±5,6	07.10.2019	25% (3/12)
8	‘Шарташская Усанка’	к-8337	2016	67,2±11,2	10.09.2019	0% (0/10)
					07.10.2019	10% (1/10)
Образцы сортов, выявивших посткриогенную регенерацию после одного года хранения в криобанке/ Cultivars which demonstrated post-cryogenic regeneration after one year of preservation in the cryobank						
9	‘Ранняя сладкая’	к-8283	2019	см. табл. 2	13.03.2020	20% (2/10)
10	‘Малая Устюжная’	к-8264	2019	см. табл. 2	13.03.2020	44% (4/9)
11	‘Зоренька Алтая’**	к-13922А	2019	см. табл. 2	13.03.2020	70% (7/10)
12	‘Дочь Вислухи’	и:о-144444	2019	см. табл. 2	13.03.2020	30% (3/10)
Образцы сортов, продемонстрировавшие посткриогенную регенерацию при трёхкратной выемке из криобанка (10.09.19; 07.10.19; 10.09.20) Cultivars which demonstrated post-cryogenic regeneration after a triple removal from the cryobank (10.09.19; 07.10.19; 10.09.20)						
13	‘Бальзам’	к-35477	2016	80,6±6,3	10.09.19	0/10
					07.10.2019	0/9
					10.09.2020	0/20
14	‘Новокитаевская’	к-29862	2015	40,0±6,5	10.09.19	0/10
					07.10.2019	0/10
					10.09.2020	0/20
15	‘Самарская плотная’	к-040730	2015	55,2±10,3	10.09.19	0/10
					07.10.2019	0/12
					10.09.2020	0/19
16	‘Соколёнок’	к-40483	2016	81,1±7,0	10.09.19	0/10
					07.10.2019	0/10
					10.09.2020	0/20
17	‘Спутница’	к-35476	2015	45,5±1,1	10.09.19	0/10
					07.10.2019	0/10
					10.09.2020	0/20

*показания сняты через 8 недель после пересадки апексов на регенерационную среду MSTo; в скобках дано соотношение числа регенерантов к числу эксплантов в криопробирке, изъятой из криобанка/ recorded 8 weeks after transplanting the apexes onto MSTo regeneration medium; in parentheses is the ratio of the number of regenerants to the number of explants in a cryotube removed from the cryobank;

**сорт был заложен в 2019 году в первой повторности (число эксплантов =30)/ the variety was placed for preservation in 2019 in the first replication (the number of explants = 30)

На рисунке 2 представлена фотография эксплантов, культивируемых на регенерационной питательной среде после трёх лет хранения образцов малины в криобанке. Показано развитие апексов с образованием регенерантов у сортов малины ‘Phoenix’, ‘Прогресс’, ‘Метеор’.

Согласно протоколам, в криобанке должно находиться по 9 криопробирок каждого образца, в каждой криопробирке – по 10 замороженных эксплантов. Поэтому допустимо изъятие единичных криопробирок для проведения мониторинга без риска потери жизнеспособного образца. Как видно из данных, приведённых в таблице 3, из 17 сортов, изученных в ходе мониторинга, 12 продемонстрировали посткриогенную регенерацию после хранения в криобанке в парах жидкого азота. Среди них все четыре сорта малины, заложенные в криобанк в 2019 году, и 8 из 13 сортов малины, заложенных в криобанк в 2014-2016 годах. У остальных пяти из 13 сортов малины (‘Бальзам’, ‘Новокитаевская’, ‘Самарская плотная’, ‘Соколёнок’, ‘Спутница’), сохранявшихся в криобанке ВИР от четырёх до пяти лет, посткриогенная регенерация не наблюдалась. Мы провели анализ полученных

данных мониторинга у образцов малины, извлечённых из криобанка одновременно, в одной партии. В частности, 10.09.2019 одновременно из криобанка были извлечены сорта малины ‘Phoenix’ ‘Метеор’, ‘Барнаульская’, ‘Кокинская’ с показателями посткриогенной регенерации в мониторинге от 20% до 50% регенерантов, и образцы пяти сортов (‘Бальзам’, ‘Новокитаевская’, ‘Самарская плотная’, ‘Соколёнок’, ‘Спутница’) с нулевой посткриогенной регенерацией. Таким образом, какие-либо ошибки при изъятии, транспортировке и размораживании эксплантов можно исключить. При дополнительной выемке 07.10.2019 и 10.09.2020 ещё трех криопробирок (по 10 эксплантов в каждой) у образцов, не выявивших регенерации (‘Бальзам’, ‘Новокитаевская’, ‘Самарская плотная’, ‘Соколёнок’, ‘Спутница’), повторно были получены нулевые значения.

В работе G.M. Volk с соавторами (Volk et al., 2017) приводится таблица расчета вероятного числа посткриогенных жизнеспособных апексов на основании среднего уровня их регенерации и числа эксплантов при закладке в криобанк. В соответствии с таблицей, приведённой

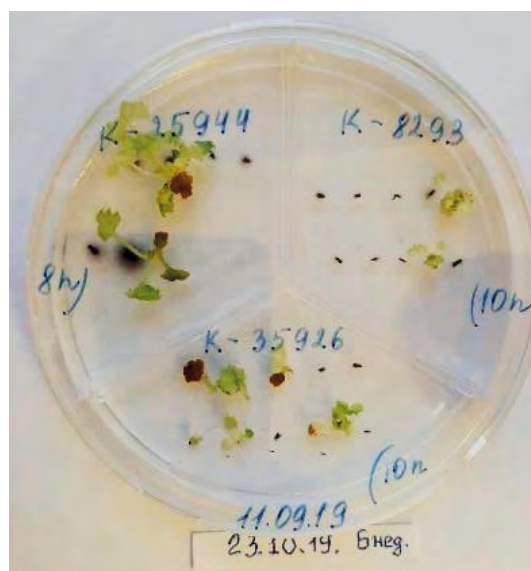


Рис. 2. Посткриогенная регенерация сортов малины ‘Phoenix’, ‘Прогресс’, ‘Метеор’ после трёх лет хранения в криобанке

Fig. 2. Post-cryogenic regeneration of raspberry cultivars ‘Phoenix’, ‘Progress’, ‘Meteor’ after three years of preservation in the cryobank

в цитируемой выше статье, из 90 апексов, заложенных в криобанк на хранение со средним уровнем регенерации 40% (как, например, у сорта 'Новокитаевская' в нашей работе), как минимум 28 апексов смогут сформировать регенеранты с вероятностью 0,95. При условии равномерного распределения числа жизнеспособных эксплантов (90 апексов распределены в 9 криопробирках по 10 в каждой) возможно прогнозировать в извлеченной из криобанка одной пробирке не менее трёх (28:9) жизнеспособных эксплантов. Полученные в нашей работе нулевые значения посткриогенной регенерации у пяти из 13 сортов малины, заложенных в криобанк ВИР в 2015-2016 годах, требуют дальнейшего анализа.

Заключение

Продолжается формирование криоколлекции образцов малины – заложено в криобанк ВИР 10 сортов, преимущественно староместной отечественной селекции. У данных сортов малины показатель посткриогенной регенерационной способности варьировал от 26,7% до 61,7%, и в среднем составил 38,2%. Статистически значимого влияния генотипа на регенерационную способность эксплантов после криоконсервации не было выявлено, в то время как влияние генотипа на жизнеспособность эксплантов после криоконсервации оказалось статистически значимым. При проверке посткриогенной регенерации у 17 образцов малины, хранившихся в криобанке от одного года до пяти лет посткриогенная регенерация зарегистрирована у 12 сортов, эти образцы можно считать надежно сохраняемыми в криобанке ВИР. У 5 сортов малины ('Бальзам', 'Новокитаевская', 'Самарская плотная', 'Соколёнок', 'Спутница'), сохранявшихся в криобанке ВИР от четырёх до пяти лет, посткриогенная регенерация не наблюдалась. Последующая работа будет включать мониторинг посткриогенной жизнеспособности и регенерации заложенных ранее в криобанк образцов и пополнение криоколлекции сортами малины отечественной селекции из *in vitro* коллекции ВИР.

Список использованных в работе сокращений

НИИСС – НИИСС им. М.А. Лисавенко – Научно-исследовательский институт им. М.А. Лисавенко
ВСТИСП – Всероссийский селекционно-технологический институт садоводства и питомниководства
НПБ «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР» – Научно-производственная База «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР»

References/Литература

Antonova O. Y., Dunaeva S.E., Ukhatoeva Yu. V., Kamylyna N. Y., Dolganova N.A., Lisicyna O.V., Gavrilenko T.A. *In vitro* improvement of raspberry varieties from raspberry bushy dwarf virus (RBDV) using complex therapy method. *Research and Technical Advances of Agribusiness Sector*. 2015;29(7):61-64.

- [In Russian] (Антонова О.Ю., Дунаева С.Е., Ухатова Ю.В., Камылина Н.Ю., Долганова Н.А., Лисицына О.В., Гавриленко Т.А. Оздоровление малины от вируса кустистой карликовости (rbdv) методом комплексной терапии в культуре *in vitro*. *Достижения науки и техники АПК*. 2015;29(7):61-64).
- Chang Y., Reed B.M. Extended cold acclimation and recovery medium alteration improve regrowth of *Rubus* shoot tips following cryopreservation. *CryoLetters*. 1999;20(6):371-376.
- Condello E., Ruzić D., Panis B., Caboni E. Raspberry cryopreservation by droplet vitrification technique. *Acta Horticulture*. 2011;918:965-969. DOI: 10.17660/ActaHortic.2011.918.127
- Dunaeva S.E., Krasovskaya L.S., Gavrilenko T.A. *Ex situ* conservation of biological resources of the genus *Rubus* (Rosaceae). *Proceedings on applied botany, genetics and breeding*. 2022;183(1):236-253. [In Russian] (Дунаева С.Е., Красовская Л.С., Гавриленко Т.А. Сохранение генетических ресурсов рода *Rubus* (Rosaceae) *ex situ*. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2022;183(1):236-253). DOI: 10.30901/2227-8834-2022-1-236-253
- Dunaeva S.E., Pendinen G.I., Antonova O.Y., Shvachko N.A., Ukhatoeva Y.V., Shuvalova L.E., Volkova N.N., Gavrilenko T.A. Preservation of vegetatively propagated crops in *in vitro* and cryo-collections: methodological guidelines. (Sokhraneniye vegetativno razmnozhayemykh kultur v *in vitro* i krio kollekttsiyakh: metodicheskiye ukazaniya). T.A. Gavrilenko (ed.). 2nd ed. St. Petersburg: VIR; 2017. [in Russian] (Дунаева С.Е., Пендинен Г.И., Антонова О.Ю., Швачко Н.А., Ухатова Ю.В., Шувалова Л.Е., Волкова Н.Н., Гавриленко Т.А. Сохранение вегетативно размножаемых культур в *in vitro* и крио коллекциях: методические указания / под редакцией Т.А. Гавриленко. 2-е изд. Санкт-Петербург: ВИР; 2017).
- Dunaeva S.E., Rokko G.S. Catalogue of the VIR global collection. Issue 899. *In vitro* collection of raspberries and blackberries (*Rubus* L., Rosaceae). St. Petersburg: VIR; 2019. [in Russian] (Дунаева С.Е., Рокко Г.С. Каталог мировой коллекции ВИР. Выпуск 899. Коллекция *in vitro* малины и ежевики (*Rubus* L., Rosaceae). Санкт-Петербург: ВИР; 2019).
- Edesi J., Tolonen J., Ruotsalainen A.L., Aspi J., Häggman H. Cryopreservation enables long-term conservation of critically endangered species *Rubus humulifolius*. *Biodiversity and Conservation*. 2020;29(1):303-314. DOI: 10.1007/s10531-019-01883-9
- Gupta S., Reed B.M. Cryopreservation of shoot tips of blackberry and raspberry by encapsulation-dehydration and vitrification. *CryoLetters*. 2006;27(1):29-42.
- Hammer Ø., Harper D.A., Ryan P.D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia electronica*. 2001;4(1):1-9.
- Höfer M., Flachowsky H., Hanke M.-V. German Fruit Genebank – looking back 10 years after launching a national network for sustainable preservation of fruit genetic resources. *Journal für Kulturpflanzen*. 2019;71(2/3):41-51. DOI: 10.5073/JfK.2019.02-03.01
- Jenderek M.M., Reed B.M. Cryopreserved storage of clonal germplasm in the USDA National Plant Germplasm System. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*. 2017;53(4):299-308. DOI: 10.1007/s11627-017-9828-3
- Kazakov I.V., Aytzhaniva S.D., Evdokimenko S.N., Sazonov F.F., Kulagina V.L., Andronova N.V. Berry crops in the Central region of Russia (Yagodnyye kul'tury v Tsentral'nom regione Rossii). 2nd ed. Moscow; 2016. [In Russian] (Казакوف И.В., Айтжанова С.Д., Евдокименко С.Н., Сазонов Ф.Ф., Кулагина В.Л., Андронова Н.В. Ягодные культуры в Центральном регионе России. 2-е изд. Москва; 2016).
- Kobzar A.I. Applied mathematical statistics (Prikladnaya matematicheskaya statistika). Moscow: Fizmatlit; 2006. [In Russian] (Кобзарь А.И. Прикладная математическая статистика. Москва: Физматлит; 2006).
- Krivchenko V.I. (ed.) Catalogue of the VIR global collection. Issue 186. Strawberry, raspberry and blackberry field resistance for main diseases (Katalog mirovoy kollekttsii VIR. Vypusk 186. Polevaya ustoychivost' zemlyaniki, maliny i ezheviki k osnovnym zabolevaniyam). Leningrad: VIR; 1976. [In Russian] (Каталог мировой коллекции ВИР. Выпуск 186. Полевая устойчивость

- земляники, малины и ежевики к основным заболеваниям / под редакцией В.И. Кривченко. Ленинград: ВИР; 1976).
- Kovalchuk I., Turdiev T., Kushnarenko S., Rakhimbaev I., Reed B.M. Cryopreservation of raspberry cultivars: Testing Techniques for Long-Term Storage of Kazakhstan's Plant Germplasm. *The Asian and Australasian Journal of Plant Science and Biotechnology*. 2010;4(1):1-4.
- Nukari A., Uosukainen M., Rokka V.M. Cryopreservation techniques and their application in vegetatively propagated crop plants in Finland. *Agricultural and food science*. 2009;18(2):117-128. DOI: 10.2137/145960609789267506
- Panis B., Nagel M., Van den Houwe I. Challenges and prospects for the conservation of crop genetic resources in field genebanks, in *in vitro* collections and/or in liquid nitrogen. *Plants*. 2020;9(12):1634. DOI: 10.3390/plants9121634
- Popova E., Shukla M., Kim H.H., Saxena P.K. Plant cryopreservation for biotechnology and breeding. In: Al-Khayri J.M., Jain S.M., Johnson D.V. (eds.) *Advances in plant breeding strategies: breeding, biotechnology and molecular tools*. Cham: Springer; 2015. p.63-93. DOI: 10.1007/978-3-319-22521-0_3
- Rantala S., Kaseva J., Nukari A., Laamanen J., Veteläinen M., Häggman H., Karhu S. Successful cryopreservation of dormant buds of blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) by using greenhouse-grown plants and *in vitro* recovery. *Plants*. 2021;10(7):1414. DOI: 10.3390/plants10071414
- Reed B.M. Cold acclimation as a method to improve survival of cryopreserved *Rubus* meristems. *CryoLetters*. 1988;9(3):166-171.
- Reed B.M. Improved survival of *in vitro*-stored *Rubus* germplasm. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 1993;118(6):890-895. DOI: 10.21273/JASHS.118.6.890
- Reed B.M. Implementing cryogenic storage of clonally propagated plants. *CryoLetters*. 2001;22(2):97-104.
- Reed B.M., Lagerstedt H.B. Effects of prefreezing temperature, freezing rate and cryoprotectants on the survival of apical meristems of *Vaccinium* frozen in liquid nitrogen. *Cryobiology*. 1987;24(6):571-572. DOI: 10.1016/0011-2240(87)90135-0
- Reed B.M., Sarasan V., Kane M., Bunn E., Pence V.C. Biodiversity conservation and conservation biotechnology tools. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*. 2011;47:1-4. DOI: 10.1007/s11627-010-9337-0
- Roque-Borda C.A., Kulus D., Vacaro de Souza A., Kaviani B., Vicente E.F. Cryopreservation of agronomic plant germplasm using vitrification-based methods: An overview of selected case studies. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(11):1-33. DOI: 10.3390/ijms22116157
- Rozanova M.A. Berry studies and berry growing (Yagodovedenie i yagodovodstvo). 2nd ed. Leningrad: Selkhozgiz, Leningrad branch; 1937. [in Russian] (Розанова М.А. Ягодование и ягодоводство. 2-е изд. Ленинград: Сельхозгиз, Ленинградское отделение; 1937).
- State Register for Selection Achievements Admitted for Usage (National List). Vol. 1 "Plant varieties" (official publication). Moscow: Rosinformagrotekh; 2021; 2021. [In Russian] (Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. Т. 1 «Сорта растений» (официальное издание). Москва: Росинформгортех; 2021). URL: <https://ogorodum.ru/docs/gosreestr-rus.pdf> [дата обращения: 24.12.2021].
- Tikhonova O.A., Gavrilova O.A., Radchenko E.A., Verzhuk V.G., Pavlov A.V. Viability of black currant pollen before and after cryopreservation in liquid nitrogen, and its morphological features. *Proceedings on applied botany, genetics and breeding*. 2020;181(3):110-119. [In Russian] (Тихонова О.А., Гаврилова О.А., Радченко Е.А., Вержук В.Г., Павлов А.В. Жизнеспособность пыльцы черной смородины до и после криоконсервирования в жидком азоте и особенности ее морфологии. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2020;181(3):110-119). DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-110-119
- Tuohimetsä S., Nukari A. Modified droplet-vitrification cryopreservation of arctic bramble (*Rubus arcticus*) and hybrid arctic bramble. *Acta Horticulture*. 2019;1234:225-232. DOI: 10.17660/ActaHortic.2019.1234.30
- Uchendu E.E., Muminova M., Gupta S., Reed B.M. Antioxidant and anti-stress compounds improve regrowth of cryopreserved *Rubus* shoot tips. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*. 2010;46(4):386-393. DOI: 10.1007/s11627-010-9292-9
- Ukhatova Y.V., Dunaeva S.E., Antonova O.Y., Apalikova O.V., Pozdniakova K.S., Novikova L.Y., Shuvalova L.E., Gavrilenko T.A. Cryopreservation of red raspberry cultivars from the VIR *in vitro* collection using a modified droplet vitrification method. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*. 2017;53:394-401. DOI: 10.1007/s11627-017-9860-3
- Volk G.M., Henk A.D., Jenderek M.M., Richards C.M. Probabilistic viability calculations for cryopreserving vegetatively propagated collections in genebanks. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 2017;64(7):1613-1622. DOI: 10.1007/s10722-016-0460-6
- Vollmer R., Villagaray R., Cárdenas J., Castro M., Chávez O., Anglin N.L., Ellis D. A large-scale viability assessment of the potato cryobank at the International Potato Center (CIP). *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*. 2017;53(4):309-317. DOI: 10.1007/s11627-017-9846-1
- Vujović T., Ružić D., Cerović R. Effect of the duration of liquid nitrogen storage on the regrowth of blackberry cryopreserved by droplet vitrification. *Contemporary Agriculture*. 2017;66:44-50. DOI: 10.1515/contagri-2017-0008
- Vujović T., Sylvestre I., Ružić D., Engelmann F. Droplet-vitrification of apical shoot tips of *Rubus fruticosus* L. and *Prunus cerasifera* Ehrh. *Scientia Horticulturae*. 2011;130(1):222-228. DOI: 10.1016/j.scienta.2011.06.049
- Vysotskaya O.N., Mochammed A.I., Butenko R.G. Cryopreservation of red raspberry meristems (*Rubus idaeus* L.) isolated from *in vitro* plantlets. *Biology Bulletin*. 1999;26(1):19-22. Available from: https://www.researchgate.net/publication/259417833_Cryopreservation_of_Red_Raspberry_Meristems_Rubus_idaeus_L_Isolated_from_in_vitro_Plantlets [accessed Nov. 23, 2021].
- Vysotskaya O.N., Popov A.S. Method of cryogenic *in vitro* keeping meristems isolated from red raspberry plants. Russian Federation; invention patent number: 2248121; 2005. [In Russian] (Высоцкая О.Н., Попов А.С. Способ криосохранения меристем, изолированных из растений малины красной (*Rubus idaeus* L.) *in vitro*. Российская Федерация; патент на изобретение № 2248121; 2005).
- Wang Q., Laamanen J., Uosukainen M., Valkonen J.P.T. Cryopreservation of *in vitro*-grown shoot tips of raspberry (*Rubus idaeus* L.) by encapsulation-vitrification and encapsulation-dehydration. *Plant Cell Reports*. 2005;24:280-288. DOI: 10.1007/s00299-005-0936-x

Информация об авторах

Антон Михайлович Камнев, младший научный сотрудник, Отдел биотехнологии, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, antonkamen@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8103-2191>

Светлана Ефимовна Дунаева, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Отдел биотехнологии, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, dunaevase@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7002-8066>

Наталья Николаевна Волкова, ведущий специалист, Отдел биотехнологии, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, nata.volckova@yandex.ru

Ольга Владимировна Лисицына, специалист, Отдел биотехнологии, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, olgalis86@yandex.ru

Татьяна Андреевна Гавриленко, доктор биологических наук, главный научный сотрудник, заведующая отделом, Отдел биотехнологии, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, tatjana9972@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2605-6569>

Information about the authors

Anton M. Kamnev, Associate Researcher, Department of Biotechnology, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia, antonkamen@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8103-2191>

Svetlana E. Dunaeva, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, Department of Biotechnology, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia, dunaevase@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7002-8066>

Natalia N. Volkova, Leading Specialist, Department of Biotechnology, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia, nata.volckova@yandex.ru

Olga V. Lisitsyna, Specialist, Department of Biotechnology, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia, olgalis86@yandex.ru

Tatjana A. Gavrilenko, Dr. Sci. (Biology), Chief Researcher, Head, Department of Biotechnology, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia, tatjana9972@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2605-6569>

Вклад авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Contribution of the authors: the authors contributed equally to this article.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests: the authors declare no conflicts of interests.

Статья поступила в редакцию 17.02.2022; одобрена после рецензирования 11.03.2022; принята к публикации 24.03.2022
The article was submitted 17.02.2022; approved after reviewing 11.03.2022; accepted for publication on 24.03.2022.