

DOI: 10.30901/2227-8834-2017-3-13-20

УДК: 635.21:57.043

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

Ю. В. Ухатова<sup>1</sup>,  
Е. В. Овэс<sup>2</sup>,  
Н. Н. Волкова<sup>1</sup>,  
Т. А. Гавриленко<sup>1</sup>

## КРИОКОНСЕРВАЦИЯ СЕЛЕКЦИОННЫХ СОРТОВ КАРТОФЕЛЯ В ВИРЕ

<sup>1</sup>Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), 190000, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, д. 42, 44, e-mail: tatjana9972@yandex.ru

<sup>2</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт картофельного хозяйства им. Лорха, Кусково, ул. Лорха, 23, Россия

### Ключевые слова:

картофель, криоконсервация, дроблет-витрификация, *in vitro* и криоколлекции, генбанк ВИР, ВНИИКХ.

### Поступление:

07.07.2017

### Принято:

21.08.2017

Актуальность. Для надежного сохранения генофонда сортов, гибридов и селекционных клонов картофеля создаются дублетные *in vitro* и криоколлекции. Работы по криоконсервации южноамериканских аборигенных сортов картофеля были начаты в ВИРе в 2010 г., в настоящее время в эти исследования включены и селекционные сорта. Материалы и методы. В качестве исходного материала для криоконсервации использовали микрорастения 20 селекционных образцов из *in vitro* коллекции Банка здоровых сортов картофеля ВНИИКХ. Биоматериал был охарактеризован в культуре *in vitro* по следующим показателям морфогенеза: 1 – продолжительность периода от черенкования до формирования микрорастениями 4–6 междоузлий; 2 – продолжительность периода активного роста микрорастений; 3 – продолжительность всего вегетационного периода микрорастений до формирования ими микроклубней. Кроме того, учитывали «возраст мериклона» – продолжительность пребывания данного клона в культуре *in vitro*. Для криоконсервации использована оригинальная модификация метода дроблет-витрификации с быстрым погружением в жидкий азот – «DV-biotech». Эксплантами для криоконсервации служили верхушечные и пазушные почки микрорастений. Результаты. Частоты выживших и регенерировавших после замораживания-оттаивания верхушечных почек были существенно ( $p < 0,05$ ) выше соответствующих показателей пазушных почек. Между показателями *in vitro* морфогенеза (1, 2, 3) исходных микрорастений изученных сортов и эффективностью посткриогенного восстановления (жизнеспособность и частота регенерации после оттаивания) отмечены существенные отрицательные корреляции. Срок пребывания материала в культуре *in vitro* не оказывал значительного влияния ни на перечисленные выше показатели морфогенеза микрорастений, ни на эффективность посткриогенного восстановления эксплантов изученных сортов. Показано существенное влияние генотипа на регенерационную способность верхушечных почек после замораживания-оттаивания ( $p \leq 0,05$ ). Максимальная частота криорегенерантов отмечена у сорта ‘Импала’ (73,3%), минимальная – у сорта ‘Ильинский’ (26,7%). Выводы. Проведена криоконсервация 20-ти селекционных сортов картофеля с использованием оригинального модифицированного протокола дроблет-витрификации «DV-biotech»; для 17 сортов получены высокие показатели посткриогенной регенерации. Частота посткриогенной регенерации верхушечных почек была существенно выше ( $p < 0,05$ ) соответствующих показателей пазушных почек. Выявлено достоверное влияние генотипа на уровень посткриогенной регенерации. Отмечены существенные отрицательные корреляции между показателями *in vitro* морфогенеза исходных микрорастений изученных сортов и эффективностью их посткриогенного восстановления.

DOI: 10.30901/2227-8834-2017-3-13-20

ORIGINAL ARTICLE

Y. V. Ukhatova<sup>1</sup>,  
E. V. Oves<sup>2</sup>,  
N. N. Volkova<sup>1</sup>,  
T. A. Gavrilenko<sup>1</sup>

<sup>1</sup>The N. I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR),  
42-44 Bolshaya Morskaya St., St. Petersburg,  
190000, Russia,  
e-mail: uv13011@yahoo.com

<sup>2</sup>The A. G. Lorkh All-Russian Research Institute of Potato Farming, 23 Lorkh St., Kuskovo, Moscow, Russia

**Key words:**

*potato, cryopreservation, droplet vitrification, in vitro and cryogenic collection, genebank of VIR, Research Institute of Potato Farming.*

**Received:**

07.07.2017

**Accepted:**

21.08.2017

## CRYOCONSERVATION OF POTATO BREEDING CULTIVARS AT VIR

**Background.** To ensure safe conservation of the gene pool of potato varieties, hybrids and breeding clones, duplicate *in vitro* and cryogenic collections have been established. Works on cryopreservation of South American native varieties of potato were launched at VIR in 2010. Currently, breeding cultivars are included in these studies. **Materials and methods.** Potato microplants of 20 breeding cultivars were selected from the *in vitro* collection of the Research Institute of Potato Farming and used as source material in cryopreservation experiments. These microplants were characterized according to the following indicators of *in vitro* culture morphogenesis: (1) duration of the period from propagation to the formation of 4-6 internodes; (2) duration of the period of the microplants' active growth; and (3) duration of the whole growing season of the microplants before they have developed microtubers. In addition, we took into account the "age of the mericlone", i. e. the duration of the clone's life as *in vitro* culture. For cryopreservation, an original modification of the "DV-biotech" droplet vitrification method with fast immersion into liquid nitrogen was used. Explants for cryopreservation were the apical and axillary buds of the microplants. **Results.** The frequencies of apical buds survived and regenerated after the freezing/thawing were significantly ( $p < 0.05$ ) higher than the corresponding parameters of axillary ones. Significant negative correlations were observed between the indicators of *in vitro* morphogenesis (1, 2, 3) of the initial microplants of the studied varieties and the post-cryogenic recovery efficiency (viability and frequency of regeneration after thawing). The age of *in vitro* material did not significantly affect either the above-mentioned indicators of the microplants' morphogenesis or the efficiency of the explants' post-cryogenic recovery. A significant effect of the genotype on the regenerative capacity of apical buds after freezing/thawing ( $p \leq 0.05$ ) was recorded. The maximum frequency of regenerated post-cryogenic plants was registered for the 'Impala' variety (73.3%), the minimum frequency was registered for the 'Ilyinsky' variety (26.7%). **Conclusion.** Cryopreservation of 20 potato breeding varieties was carried out using an original modified "DV-biotech" protocol; high levels of post-cryogenic regeneration were recorded for 17 varieties. The frequency of post-cryogenic regeneration of the apical buds was significantly higher ( $p < 0.05$ ) than the corresponding parameters of the axillary ones. Statistically significant influence of the genotype on the post-cryogenic regeneration level was observed. Significant negative correlations were registered between the *in vitro* morphogenesis indicators of the initial microplants of the studied varieties and the effectiveness of their post-cryogenic recovery.

## Введение

Для надежного сохранения генофонда сортов, гибридов и селекционных клонов картофеля наряду с полевыми коллекциями создаются дублетные *in vitro* и криоколлекции. Каждая из систем хранения коллекционных образцов имеет свои недостатки и преимущества и только сочетание всех трех гарантирует надежное *ex situ* сохранение сортов картофеля (Gavrilenko et al., 2007; Filipenko et al., 2014; Bamberg et al., 2016; Vollmer et al., 2016). В настоящее время криоколлекции апексов микрорастений картофеля сохраняются в генбанках: ИРК, Германия – 1428 селекционных сортов (Leibniz Institute..., 2016); СІР, Перу – 1028 аборигенных южноамериканских сортов (Vollmer et al., 2016); USPG, США – 280 селекционных сортов (Bamberg et al., 2016); ВИР, Россия – 160 аборигенных южноамериканских сортов (Shvachko, Gavrilenko, 2011; Ukhatova et al., 2016); NAC, Корея – 130 образцов (Niino, Valle-Arizaga, 2015); CAES, Япония – 100 образцов (Hirai, 2011). Для криоконсервации апексов микропобегов сортов картофеля используют методы инкапсуляции-дегидратации (Hirai, 2011), дроблет-замораживания (Kaczmarczyk et al., 2011) и дроблет-витрификации (Shvachko, Gavrilenko, 2011; Vollmer et al., 2016; Bamberg et al., 2016). Наиболее часто для криоконсервации почек *in vitro* растений картофеля применяют метод дроблет-витрификации, разработанный В. Panis с коллегами (Panis et al., 2005) для создания криоколлекции образцов банана. Данный метод с небольшими модификациями успешно апробирован для криоконсервации широкого круга объектов – банана, чеснока, хмеля, мяты, маниока, ананаса, хризантемы. С использованием модифицированного метода дроблет-витрификации в 2010 году в ВИРе были начаты работы по созданию криоколлекции картофеля (Shvachko, Gavrilenko, 2011; Dunaeva et al. 2011; Shvachko, 2012). В последние годы проводятся исследования по оптимизации указанного выше метода, предложен оптимизированный протокол криоконсервации «DV-biotech» (Ukhatova et al., в печати), с использованием которого криоколлекция ВИР пополняется новыми сортами картофеля и образцами других культур (малина, ежевика) (Ukhatova et al., 2016, Ukhatova et al., в печати).

В многочисленных работах по криоконсервации показано, что эффективность посткриогенной регенерации зависит от объекта, генотипа, типа экспланта, методики криоконсервации (состава питательных сред и криопротекторов, длительности всех этапов) (обзоры: Kaczmarczyk et al., 2011; Niino, Valle-Arizaga, 2015; Panis et al., 2016). Частота посткрио-генной регенерации образцов является наиболее важным показателем при создании криоколлекций. Так, в 2000 году IPGRI (International Plant Genetic Resources Institute) рекомендовал закладывать на длительное хранение в криоколлекции образцы с уровнем регенерации не ниже 20% (IPGRI, 2000). Современные требования к криоколлекциям таковы, что образец считается надежно сохраняемым, если уровень регенерации после цикла «замораживание-оттаивание» не ниже 40% (Keller et al., 2011). Образцы, регенерационная способность которых ниже 20%, требуют повторной криоконсервации для увеличения числа эксплантов, заложенных на криохранение (IPGRI, 2000; Keller et al., 2011). В данной статье представлены первые результаты по криоконсервации селекционных сортов картофеля в ВИРе. **Цели и задачи:** изучить способность к посткриогенной регенерации 20 селекционных сортов картофеля, определить наиболее подходящий тип экспланта для дальнейших экспериментов.

## Материалы и методы

В качестве исходного материала для криоконсервации использовали микрорастения 20 селекционных образцов из *in vitro* коллекции Банка здоровых сортов картофеля ВНИИКХ: ‘Барин’, ‘Брянский деликатес’, ‘Великан’, ‘Вымпел’, ‘Голубизна’, ‘Жигулёвский’, ‘Жуковский ранний’, ‘Ильинский’, ‘Импала’, ‘Колобок’, ‘Крепыш’, ‘Лорх’, ‘Метеор’, ‘Накра’, ‘Невский’, ‘Никкулинский’, ‘Удача’, ‘Фиолетовый’, ‘Gala’, ‘Red Scarlett’.

*Сорта картофеля были охарактеризованы по трем показателям морфогенеза растений в культуре in vitro во ВНИИКХ им. Лорха:*

1 – продолжительность периода от черенкования до формирования микрорастениями 4-6 междоузлий;

2 – продолжительность периода активного роста микрорастений, т.е. периода, позволяющего использовать микрорастения

для повторного черенкования или для высадки в защищенный грунт;

3 – продолжительность всего вегетационного периода микрорастений – от черенкования до формирования ими микроклубней (или до полного отмирания *in vitro* растений).

Кроме того, учитывали «возраст мериклона» – продолжительность пребывания данного клона в культуре *in vitro*; в зависимости от сорта этот период варьировал от 0,6 до 4,6 лет.

**Криоконсервацию почек *in vitro* растений сортов картофеля** проводили в отделе биотехнологии ВИР с использованием оригинальной модификации метода дроплет-витрификации с быстрым погружением в жидкий азот – «DV-biotech» (Ukhatova et al.,

в печати). Описание модифицированного протокола «DV-biotech» представлено в таблице 1.

Для изучения влияния типа экспланта на эффективность посткриогенного восстановления сортов картофеля были использованы верхушечные и пазушные почки микрорастений.

Учитывали следующие показатели количественной оценки посткриогенного восстановления образцов картофеля к 8 неделе после размораживания:

– жизнеспособность эксплантов – число (%) зеленых почек на питательной среде MSTo;

– регенерационная способность – число (%) эксплантов, сформировавших микропобеги на питательной среде MSTo

Таблица 1. Основные этапы модифицированного протокола дроплет-витрификации «DV-biotech», использованного для криоконсервации селекционных сортов картофеля  
Table 1. The main stages of the modified "DV-biotech" droplet vitrification protocol used for cryo-preservation of potato breeding varieties

№	Этап	Условия
1	Подготовка растительного материала	Культивирование микрорастений на питательной среде МС (Murashige, Skoog, 1962) без фитогормонов с 3% сахарозой при постоянной температуре 22°C с 16-часовым фотопериодом в течение трех недель.
2	Изоляция почек	Экспланты верхушечных и пазушных почек размером 1,1-1,8 мм помещали в жидкую среду МС без гормонов для предотвращения высыхания на 1 час.
3	Обработка эксплантов растворами с криопротекторами	Экспланты помещали в чашки Петри с раствором LS (Loading Solutions) на 20 минут при 20°C на свету (Matsumoto et al., 1994), затем – с раствором PVS2 (Plant Vitrification Solution, Sakai et al., 1990) на 30 минут при 0°C (на льду). На последних минутах обработки раствором PVS2 экспланты помещали в индивидуальные капли того же раствора объемом 3 мкл, нанесенные на полоски алюминиевой фольги размером 0,5x2,0 см (по 5 капель раствора PVS2 на полоске).
4	Криоконсервация	Быстро погружали полоски фольги с эксплантами в криопробирку с жидким азотом (10 эксплантов в одну криопробирку) на 1 час.
5	Оттаивание	Полоски фольги с эксплантами переносили в раствор RS (Rewarming Solution, Sakai, 1997) на 15 минут при 20°C на свету.
6	Учет регенерационной способности	Экспланты помещали на агаризованную питательную среду MSTo, дополненную зеатин-рибозидом (0,5 мг/л), ИУК (0,5 мг/л) и ГК (0,2 мг/л) (Towill, 1983). Процент выживаемости и регенерации эксплантов отмечали на третьей, шестой и восьмой неделе после оттаивания, культивируя экспланты при постоянной температуре 22°C с 16-часовым фотопериодом.

Все эксперименты проводили в трех повторностях. В качестве контроля в каждой повторности было использовано 10 эксплантов на образец, которые проходили этапы 1, 2, 3, 5 и 6, без стадии 4 (криоконсервация, погружение в жидкий азот) (табл. 1). В опыты по криоконсервации для каждой повторности включали по 20 эксплантов, которые проходили все этапы (1 – 6) данного протокола. Одновременно для каждого сорта в каждой повторности опыта было изолировано дополнительно по 30 эксплантов с последующей их закладкой на длительное криохранилище в биокриокомплекс ВИР, т.е. данные 30 эксплантов проходили только

этапы 1 – 4, без стадий 5 и 6 (оттаивание и учет регенерационной способности). Таким образом, для одной повторности опыта суммарно было изолировано по 60 эксплантов. Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью методов вариационной статистики (компьютерная программа STATISTICA 6, модуль ANOVA).

## Результаты и обсуждение

### *Изучение морфогенеза в культуре *in vitro* микрорастений сортов картофеля.*

Результаты оценки показателей морфогенеза картофеля в культуре *in vitro* представлены в таблице 2. Изученные сорта существенно отличались между собой по трем показателям морфогенеза. Результаты факторного анализа показали, что на показатели морфогенеза (1, 2, 3) группа спелости и возраст мериклонов существенного влияния не оказывают.

Таблица 2. Характеристика показателей морфогенеза микрорастений 20 сортов картофеля

Table 2. Morphogenesis of microplants of 20 potato cultivars

№ п/п	Сорт	Группа спелости сортов	Возраст мериклона, лет	Показатели морфогенеза, дни		
				(1)	(2)	(3)
1	Барин	среднеспелый	3,2	30–35	35–50	50–85
2	Брянский деликатес	среднеранний	2,6	35–40	40–50	50–80
3	Великан	среднепоздний	1,7	35–45	45–60	60–100
4	Вымпел	среднеспелый	1,7	30–35	35–45	45–75
5	Голубизна	среднеспелый	1,7	35–45	45–60	60–100
6	Жигулёвский	ранний	1,7	25–30	30–40	40–80
7	Жуковский ранний	ранний	0,9	20–21	21–28	28–50
8	Ильинский	среднеранний	0,7	25–30	30–40	40–80
9	Импала	ранний	1,8	20–21	21–30	30–70
10	Колобок	среднеспелый	2,6	35–40	40–50	50–90
11	Крепыш	ранний	1,8	30–35	35–45	45–75
12	Лорх	поздний	1,8	25–30	30–40	40–90
13	Метеор	очень ранний	1,8	35–40	40–50	50–80
14	Накра	среднеспелый	4,6	35–40	40–50	50–90
15	Невский	среднеранний	0,6	25–30	30–40	40–80
16	Никулинский	среднепоздний	1,7	25–30	30–45	45–80
17	Удача	ранний	0,9	40–45	45–60	60–90
18	Фиолетовый	среднепоздний	1,8	35–45	45–60	60–100
19	Gala	среднеранний	1,8	30–40	40–50	50–90
20	Red Scarlett	ранний	0,9	35–40	35–55	55–80

Показатели морфогенеза: 1 – продолжительность периода от черенкования до формирования микрорастениями 4-6 междоузлий; 2 – продолжительность периода активного роста микрорастений; 3 – продолжительность всего вегетационного периода микрорастений до формирования ими микроклубней (или до полного отмирания *in vitro* растений).

Выявлены существенные положительные корреляции между показателями *in vitro* морфогенеза (1, 2, 3) исходных микрорастений изученных сортов (табл. 3).

Таблица 3. Коэффициенты корреляции показателей морфогенеза *in vitro* растений 20 сортов картофеля.

Table 3. Correlations in the morphogenesis indicators for *in vitro* plants of 20 potato cultivars

Показатели морфогенеза	2	3
1	<b>0,978</b>	<b>0,881</b>
2	–	<b>0,944</b>

Показатели морфогенеза: 1 - продолжительность периода от черенкования до формирования микрорастениями 4-6 междоузлий; 2 - продолжительность периода активного роста микрорастений; 3 - продолжительность всего вегетационного периода микрорастений до формирования ими микроклубней (или до полного отмирания *in vitro* растений). **Жирным шрифтом** отмечены статистически значимые коэффициенты корреляции.

#### *Изучение способности к посткриогенному восстановлению селекционных сортов картофеля*

Результаты сравнительного изучения способности к посткриогенному восстановлению различных типов эксплантов (вершечных и пазушных почек микрорастений) 20 селекционных сортов картофеля представлены в таблице 4. Частота выживших после замораживания-оттаивания эксплан-

тов была достоверно ( $p < 0,05$ ) выше при использовании верхушечных почек по сравнению с вариантом пазушных почек. Частота регенерации верхушечных почек была существенно выше ( $p < 0,05$ ) соответствующих показателей пазушных почек у 17 (85%) из 20 сортов; и только у трех сортов ('Великан', 'Ильинский', 'Накра') эти различия были недостоверны, однако и для них отмечена та же тенденция (см. табл. 4).

Таблица 4. Показатели посткриогенного восстановления различных типов эксплантов у тетраплоидных сортов картофеля  
Table 4. Post-cryogenic recovery of various explant types for tetraploid potato cultivars

№ п/п	Название сорта или к-ВИР	Жизнеспособность после замораживания-оттаивания, %		Эффективность регенерации после замораживания-оттаивания, %	
		Верхушечные почки	Пазушные почки	Верхушечные почки	Пазушные почки
1	Барин	60,0±10,0*	13,3±6,7	60,0±10,0*	13,3±6,7
2	Брянский делькатес	61,8±10,0*	6,6±3,3	42,4±9,5*	6,7±3,3
3	Великан	50,0±17,3	22,9±12,2	40,0±10,0	16,9±12,6
4	Вымпел	50,0±0,0*	6,6±3,3	42,5±3,8*	3,3±3,3
5	Голубизна	50,9±15,4*	10,0±5,8	50,9±15,4*	6,7±3,3
6	Жигулёвский	53,3±3,3*	20,0±5,8	46,7±6,7*	10,0±5,8
7	Жуковский ранний	73,3±3,3*	6,7±6,7	60,0±0,0*	6,7±6,7
8	Ильинский	60,0±11,5*	20,0±0,0	26,7±3,3	16,7±3,3
9	Импала	76,6±3,3*	40,0±10,0	73,3±3,3*	33,3±6,7
10	Колобок	40,0±11,5*	10,0±5,8	30,0±5,8**	6,7±6,7
11	Крепыш	56,7±6,7*	23,3±6,7	46,7±3,3*	16,7±6,7
12	Лорх	53,3±6,7*	3,3±3,3	53,3±6,7*	3,3±3,3
13	Метеор	46,7±12,0*	10,0±5,8	36,7±6,7*	6,7±3,3
14	Накра	68,9±7,8*	46,7±13,3	49,9±7,1	30,0±11,5
15	Невский	44,8±8,7*	26,2±3,1	44,8±8,7*	22,8±2,9
16	Никулинский	90,0±0,0*	30,0±15,3	63,3±8,8*	26,7±12,0
17	Удача	50,0±10,0*	13,3±6,7	30,0±5,8*	3,3±3,3
18	Фиолетовый	41,8±6,1*	9,4±5,3	38,8±5,9*	9,4±5,3
19	Gala	63,3±6,7*	23,3±6,7	60,0±5,8*	20,0±5,8
20	Red Scarlett	60,0±0,0*	6,7±6,7	53,3±6,7*	0
	X±mх	57,6±2,8*	17,4±2,6	47,5±2,7*	12,9±2,1

Приведены данные по выживаемости и регенерационной способности, учтенные на 8 неделе после момента размораживания эксплантов. \* – различия между соответствующими показателями у верхушечных и пазушных почек достоверны ( $p \leq 0,05$ ).

В среднем в выборке из 20 сортов картофеля (см. табл. 4) частоты выживших и регенерировавших верхушечных почек достигали 57,6±2,8% и 47,5±2,7%, соответственно; для пазушных почек эти показатели составили 17,4±2,6% и 12,9±2,1%, соответственно. Полученные данные однозначно указывают на более высокую способность к посткриогенному восстановлению верхушечных почек микрорастений по сравнению с пазушными. Исходя из полученных результатов, во всех последующих экспериментах по криоконсервации картофеля в ВИРе использовался только один тип эксплантов - верхушечные почки микрорастений. Результаты проведенных исследований

выявили существенное влияние генотипа на регенерационную способность почек после замораживания-оттаивания ( $p \leq 0,05$ ). Максимальная частота формирования криорегенерантов после оттаивания отмечена у сорта 'Импала' (73,3%), минимальная – у сорта 'Ильинский' (26,7%) (см. табл. 4). Отмечена значимая ( $p \leq 0,05$ ) положительная корреляция между показателями выживаемости и регенерационной способности у изученных селекционных сортов. Выявлена существенная отрицательная корреляция между показателями *in vitro* морфогенеза (1, 2, 3) исходных микрорастений и эффективностью посткриогенного восстановления (выживаемости и регенерационной способности) изученных сортов (табл. 5)

Таблица 5. Коэффициенты корреляции показателей морфогенеза и посткриогенного восстановления 20 сортов картофеля

Table 5. Correlations between the morphogenesis and post-cryogenic recovery indicators for 20 *in vitro* potato cultivars

Показатели морфогенеза	Показатели посткриогенного восстановления	
	Жизнеспособность, %	Эффективность посткриогенной регенерации, %
1	<b>-0,534</b>	<b>-0,538</b>
2	<b>-0,513</b>	<b>-0,492</b>
3	<b>-0,498</b>	-0,405
Жизнеспособность после криоконсервации, %	-	<b>0,711</b>

Показатели морфогенеза: 1 – продолжительность периода от черенкования до формирования микрорастениями 4-6 междоузлий; 2 – продолжительность периода активного роста микрорастений; 3 – продолжительность всего вегетационного периода микрорастений до формирования ими микроклубней (или до полного отмирания *in vitro* растений). **Жирным шрифтом** отмечены статистически значимые коэффициенты корреляции.

Согласно современным требованиям к уровню регенерации после криоконсервации (Keller et al., 2011), образцы, помещенные в криобанк ВИР, были дифференцированы на две группы:

А) 15 сортов – надежные образцы, с регенерационной способностью выше 40%;

Б) 5 сортов, уровень регенерационной способности которых варьировал от 21 до 39%.

### Заключение

При криоконсервации 20 сортов картофеля с использованием модифицированного протокола дроплет-витрификации «DV-biotech» были получены высокие показатели посткриогенной регенерации для 17 сортов. Частота регенерации верхушечных почек

была достоверно ( $p < 0,05$ ) выше соответствующих показателей пазушных почек. Выявлено существенное влияние генотипа на уровень посткриогенной регенерации.

Отмечены существенные отрицательные корреляции между показателями *in vitro* морфогенеза исходных микрорастений изученных сортов и эффективностью их посткриогенного восстановления.

*Исследования выполнены при поддержке КЦП РФ «Научное обеспечение деятельности по созданию отечественного посевного фонда, ... на 2016–2025 годы» (по приоритетному направлению «Картофелеводство») и Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013–2020 годы.*

### Список сокращений

Генбанки:

CIP – International Potato Center, Перу;

IPK – Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Германия;

NAC – National Agrobiodiversity Center, Южная Корея;

CAES – Central Agricultural Experiment Station, Hokkaido Research Organization, Япония;

CRI – Crop Research Institute, Чехия;

[BIARD]-NEIKER – Basque Institute of Agricultural Research and Development -NEIKER, Испания

USPG – US Potato Genebank, США

### References/Литература

Gavrilenko T. A., Dunaeva S. E., Truskinov E. V., Antonova O. Yu., Pendinen G. I., Lupysheva Yu. V., Rogovaya V. V., Shvachko N. A. Strategy of long-term conservation of the gene pool of vegetatively propagated agricultural plants under controlled environmental conditions // Works on Applied Botany, Genetics and Breeding, 2007, vol. 164, pp. 273–283 [in Russian] (Гавриленко Т. А., Дунаева С. Е., Трускинов Э. В., Антонова О. Ю., Пендинен Г. И., Лупышева Ю. В., Роговая В. В., Швачко Н. А. Стратегия долгосрочного сохранения генофонда вегетативно

размножаемых сельскохозяйственных растений в контролируемых условиях среды // Тр. по прикл. бот., ген. и сел., 2007. Т. 164. С. 273–283).

Filipenko G. I., Silaeva O. I., Verzhuk V. G., Safina G. F., Zabegaeva O. N., Baranova E. A., Pavlov A. V. Preservation of the world's genetic resources of plants in the VIR with the use of modern technologies // In: Geneticheskiye resursy rasteniy – osnova prodovol'stvennoy bezopasnosti i povysheniya kachestva zhizni. Tezisy dokladov mezhdunarodnoy nauchnoy

- konferentsii, posvyashchennoy 120-letiyu osnovaniya instituta. St.Peterburg: VIR, 2014, p. 34 [in Russian] (Филипенко Г. И., Силаева О. И., Вержук В. Г., Сафина Г. Ф., Забегаева О. Н., Баранова Е. А., Павлов А. В. Сохранение мировых генетических ресурсов растений в ВИР с использованием современных технологий // В кн.: Генетические ресурсы растений – основа продовольственной безопасности и повышения качества жизни. Тезисы докладов международной научной конференции, посвященной 120-летию основания института. СПб.: ВИР, 2014. С. 34).
- Dunayeva S. Y., Pendinen G. I., Antonova O. Y., Shvachko N. A., Volkova N. N., Gavrilenko T. A. Sokhraneniye vegetativno razmnzhayemykh kult'ur v *in vitro* i kriokollektsiyakh: metodicheskiye ukazaniya // pod red. T. A. Gavrilenko. SPb: GNU VIR Rossel'khozakademii, 2011. 64 pp. [in Russian] (Дунаева С. Е., Пендинен Г. И., Антонова О. Ю., Швачко Н. А., Волкова Н. Н., Гавриленко Т. А. Сохранение вегетативно размножаемых культур в *in vitro* и криоколлекциях: методические указания // под ред. Т. А. Гавриленко. СПб.: ГНУ ВИР Россельхозакадемии, 2011. 64 с.)
- Shvachko N. A. Izucheniye geneticheskogo raznoobraziya sortov kartofelya otechestvennoy selektsii na osnove SSR analiza i sovershenstvovaniye metodov ex situ sokhraneniya sortovogo genofonda v kontroliruyemykh usloviyakh. Avtoref. ... diss. kand. biol. nauk. SPb, VIR, 2012, 25 pp. [in Russian] (Швачко Н. А. Изучение генетического разнообразия сортов картофеля отечественной селекции на основе SSR анализа и совершенствование методов *ex situ* сохранения сортового генофонда в контролируемых условиях. Автореф. ... дисс. канд. биол. наук. СПб, ВИР, 2012, 25 с.)
- Ukhatova Yu. V., Shvachko N. A., Volkova N. N., Gavrilenko T. A. Creation of potato cryocollection at VIR. Problemy sistematiki i selektsii kartofelya // In.: Tezisy dokladov Mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii, posvyashchennoy 125-letiyu so dnya rozhdeniya Sergeya Mikhaylovicha Bukasova. St Peterburg: VIR, 2016, pp. 42–44 [in Russian] (Ухатова Ю. В., Швачко Н. А., Волкова Н. Н., Гавриленко Т. А. Создание криоколлекции картофеля в ВИР // В кн. Проблемы систематики и селекции картофеля. Тезисы докладов Международной научной конференции, посвященной 125-летию со дня рождения Сергея Михайловича Букасова. Санкт-Петербург: Издательство: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова", 2016, с. 42–44)
- Bamberg J. B., Martin M. W., Abad J., Jenderek M. M., Tanner J., Donnelly D. J., Nassar M. K., Veilleux R. E., Novy R. G. *In vitro* technology at the US Potato Genebank. In Vitro Cell.Dev.Biol. – Plant. 2016. DOI 10.1007/s11627-016-9753-x.
- Hirai D. Gelled droplet vitrification improves recovery of cryopreserved potato germplasm // Cryo-Lett., 2011, vol. 32, pp. 287–296.
- IPGRI. Cryopreservation of tropical plant germplasm / Current research progress and applications Engelmann F., Takagi H. (eds.), 2000, 496 pp.
- Kaczmarczyk A., Rokka V.-M., Keller E. R. J. Potato Shoot Tip Cryopreservation. A Review. // Potato Research, 2011, pp.45–79.
- Keller E.R.J., Senula A., Zanke Ch., Grübe M., Kaczmarczyk A. Cryopreservation and *In Vitro* Culture – State of the Art as Conservation Strategy for Genebanks // Acta Hort. ISHS, 2011, vol. 918, pp. 99–111.
- Matsumoto T., Sakai A., Yamada K. Cryopreservation of *in vitro*-grown apical meristems of wasabi (*Wasabia Japonica*) by vitrification and subsequent high plant regeneration // Plant Cell Rep, 1994, vol. 13, pp. 442–446.
- Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Physiol Plantarum, 1962, vol. 15, pp. 473–497.
- Niino T., Valle Arizaga M. Cryopreservation for preservation of potato genetic resources. Breeding Science, 2015, vol. 65, pp. 41–52. doi:10.1270/jsbbs.65.41.
- Panis B., Piette B., Swennen R. Droplet vitrification of apical meristems: a cryopreservation protocol applicable to all *Musaceae* // Plant Sci, 2005, vol. 168, pp. 45–55.
- Panis B., Van den Houwe I., Swennen R., Rhee J., Roux N. Securing Plant Genetic Resources for Perpetuity through Cryopreservation // Indian J Plant Genet Resour, 2016, vol. 29, iss. 3, pp. 300–302.
- Sakai A. Potentially valuable cryogenic procedures for cryopreservation of cultured plant meristems. / Razdan M. K. and Cocking E. C. (eds.). Conservation of plant genetic resource *in vitro*, Science Publishers, USA, 1997, pp. 53–66.
- Sakai A., Kobayashi S., Oiyama I. Cryopreservation of nuclear cells of navel orange (*Citrus sinensis* Osb. var. *brasiliensis* Tanaka) by vitrification // Plant Cell Rep, 1990, vol.9, pp. 3–33.
- Shvachko N., Gavrilenko T. Cryopreservation of potato landraces using droplet-vitrification method // In: Proceeding of COST Action 871 Cryopreservation of crop species in Europe Final meeting. Grapin A., Keller J., Lynch P., Panis B., Revilla A., Engelmann F. eds.). Angers, 2011, pp. 135–137.
- Towill L. E. Improved survival after cryogenic exposure of shoot tips derived from *in vitro* plantlet cultures of potato. Cryobiology, 1983, vol. 20, pp. 567–573.
- 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 Cell Dev. Biol. – Plant. In press.
- Vollmer R., Villagaray R., Egusquiza V., Espirilla J., Garcia M., Torres A., Rojas E., Panta A., Barkley N. A., Ellis D. The potato cryobank at the International Potato Center (CIP): a model for long term conservation of clonal plant genetic resources collections of the future. CryoLetters. (UK). ISSN 0143-2044, 2016, vol. 37, iss. 5, pp. 318–329.
- Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK) <http://www.ipk-gatersleben.de> (03/06/2016).