

Научная статья
УДК 581.143.6:582.734.4
DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2021-11-4-549-560>



Влияние антиоксидантов и регуляторов роста на органогенез побегов в культуре апикальных меристем *Fragaria × ananassa* (Duchesne ex Weston) Duchesne ex Rozier

Елена Валерьевна Амброс*, Екатерина Игоревна Чертенкова**,
Светлана Юрьевна Толузакова***, Елена Геннадиевна Трофимова****,
Татьяна Ивановна Новикова*

*Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, г. Новосибирск, Российская Федерация

**Национальный исследовательский Томский государственный университет,
г. Томск, Российская Федерация

***Томский сельскохозяйственный институт – филиал Новосибирского государственного
аграрного университета, г. Томск, Российская Федерация

****Институт химии твердого тела и механохимии СО РАН,
г. Новосибирск, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Амброс Елена Валерьевна, ambros_ev@mail.ru

Аннотация. Одна из проблем при введении в культуру *in vitro* земляники связана с ингибированием процессов органогенеза продуктами фенольного окисления. Кроме того, важную роль играет подбор регуляторов роста, увеличивающих меристематическую активность клеток и пролиферацию побегов на стадии индукции органогенеза. Целью данного исследования являлось получение жизнеспособной культуры апикальных меристем земляники садовой и изучение влияния различных типов антиоксидантов (восстановленного глутатиона, (ВГ) и нового препарата – механокомпозита (МК) на основе биогенного кремния и катехинов зеленого чая, регуляторов роста растений (6-бензиламинопурина, (БАП) и тидиазурона (ТДЗ)) на инициацию образования пазушных побегов в культуре меристем земляники садовой. В качестве первичных эксплантов для введения земляники садовой в культуру *in vitro* использовали верхушечные почки, содержащие апикальную меристему и два листовых примордия, изолированные из столонов двух сортов земляники садовой – Солнечная полянка и Фестивальная ромашка. Впервые обнаружено, что МК обладает более высокой антиоксидантной активностью по сравнению с ВГ, снижает потемнение исходных эксплантов и увеличивает регенерацию до 13,0% при $p \leq 0,05$. Более того, комбинация МК с регуляторами роста в питательной среде продемонстрировала наилучшее влияние на формирование микропобегов на экспланте в конце этапа введения в культуру *in vitro*. При этом влияние сорта земляники на регенерацию эксплантов и количество микропобегов на экспланте было незначительным. Методика использования МК в качестве эффективного антиоксиданта на этапе введения в культуру может быть использована для крупномасштабного размножения земляники садовой *in vitro*. Экологичность технологии получения МК из растительных отходов является заметным преимуществом его использования в технологиях *in vitro*.

Ключевые слова: земляника садовая, глутатион, 6-бензиламинопурина, тидиазурон, механокомпозит на основе растительных отходов, микроразмножение

Благодарности. Для проведения исследований использованы материалы биоресурсной научной «Коллекции живых растений в открытом и закрытом грунте» Центрального сибирского ботанического сада СО РАН, USU 440534.

Финансирование. Работа по оценке влияния регуляторов роста на органогенез земляники садовой в условиях *in vitro* выполнена в рамках государственного задания Центрального сибирского ботанического сада СО РАН № АААА-А21-121011290025-2 по проекту «Оценка морфогенетического потенциала популяций растений Северной Азии экспериментальными методами».

Исследование антиоксидантных свойств механокомпозита на основе биогенного диоксида кремния и флавоноидов зеленого чая на этапе введения апикальных меристем земляники в культуру *in vitro* выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Новосибирской области в рамках проекта № 19-44-540004.

Для цитирования: Амброс Е. В., Чертенкова Е. И., Толузакова С. Ю., Трофимова Е. Г., Новикова Т. И. Влияние антиоксидантов и регуляторов роста на органогенез побегов в культуре апикальных меристем *Fragaria × ananassa* (Duchesne ex Weston) Duchesne ex Rozier // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2021. Т. 11. N 4. С. 549–560. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2021-11-4-549-560>.

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Original article

**Effect of antioxidants and growth regulators
on shoot organogenesis in the apical meristem culture
of *Fragaria × ananassa* (Duchesne ex Weston)
Duchesne ex Rozier**

Elena V. Ambros*, Ekaterina I. Chertenkova**,
Svetlana Y. Toluzakova****, Elena G. Trofimova****,
Tatyana I. Novikova*

*Central Siberian Botanical Garden SB RAS, Novosibirsk, Russian Federation

**National Research Tomsk State University,
Tomsk, Russian Federation

***National Research Tomsk State University,
Tomsk, Russian Federation

****Institute of Solid State Chemistry and Mechanochemistry SB RAS,
Novosibirsk, Russian Federation

Corresponding author: Elena V. Ambros, ambros_ev@mail.ru

Abstract. The initiation of strawberries into *in vitro* culture is known to be complicated by the inhibition of organogenesis by phenolic oxidation products. An important role in this process is given to the selection of growth regulators that increase meristematic cell activity and shoot proliferation at the stage of organogenesis induction. The present study aims to obtain a viable apical meristem culture of garden strawberry and to study the effect of different antioxidants (reduced glutathione (RG); a new preparation, i.e., a mechanical composite (MC) on the basis of biogenic silicon and green tea catechins and plant growth regulators (6-benzylaminopurine; thidiazuron) on the initiation of axillary shoot formation in strawberry meristem culture. Terminal buds containing an apical meristem and two leaf primordia isolated from the stolons of two garden strawberry cultivars (Sunny Meadow and Festival Chamomile) were used as primary explants for the initiation of strawberries into *in vitro* culture. It was found for the first time that the MC exhibits higher antioxidant activity as compared to reduced glutathione, reduces darkening of initial explants, as well as enhancing regeneration up to 13.0% at $p \leq 0.05$. Furthermore, the best effect on the formation of microshoots per explant is observed toward the end of material introduction into *in vitro* culture when combining the MC with growth regulators in the culture medium. Here, the effect of strawberry cultivar on explant regeneration and the number of microshoots per explant are insignificant. It is concluded that the procedure for using the MC as an effective antioxidant during material initiation into the culture can be applied to the large-scale *in vitro* propagation of garden strawberries. Moreover, the technology for obtaining the MC from plant waste is environmentally friendly, which is a significant advantage for its use in *in vitro* technologies.

Keywords: garden strawberry, glutathione, 6-benzylaminopurine, thidiazuron, plant waste-based mechanical composite, micropropagation

Acknowledgements: We used the material from the collection of the Central Siberian Botanical Garden, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences – USU 440534 “Collection of living plants indoors and outdoors”.

Fundings: *In vitro* propagation of *F. × ananassa* microplants was carried out with the financial support of the budgetary project of the Central Siberian Botanical Garden, SB RAS no. AAAA-A21-121011290025-2 within the framework of the State Assignment. Study of antioxidant properties of mechanocomposite based on biogenic silicon and green tea flavonoids at the stage of isolated strawberry meristem *in vitro* introduction was supported by the Russian Foundation for Basic Research and the Government of Novosibirsk Region as research project no. 19-44-540004.

For citation: Ambros E. V., Chertenkova E. I., Toluzakova S. Y., Trofimova E. G., Novikova T. I. Effect of antioxidants and growth regulators on shoot organogenesis in the apical meristem culture of *Fragaria × ana-*

nassa (Duchesne ex Weston) Duchesne ex Rozier. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2021;11(4):549-560. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2021-11-4-549-560>.

ВВЕДЕНИЕ

Земляника садовая (*Fragaria* × *ananassa* (Duchesne ex Weston) Duchesne ex Rozier) занимает лидирующие позиции в мире среди ягодных культур по площадям и продуктивности благодаря высокой способности к вегетативному размножению, скороплодности и быстрой отдаче урожая. По данным Продовольственной и сельскохозяйственной организации ООН, мировое производство плодов земляники за последние 20 лет увеличилось в 2,5 раза¹. В связи с расширением производства земляники в мире растет потребность в получении высококачественного посадочного материала. В системе производства посадочного материала ягодных культур широко применяется клональное микроразмножение, к преимуществам которого относятся: возможность получения оздоровленных растений, высокий коэффициент размножения, проведение работ в течение года и экономия площадей, необходимых для выращивания культур. Известно, что включение методов *in vitro* в технологию производства посадочного материала перспективных сортов земляники повышает рентабельность производства по сравнению с традиционными методами примерно в 1,5–2 раза [1, 2]. Обязательным условием клонального микроразмножения является использование материала, полностью сохраняющего генетическую стабильность на всех этапах процесса – от экспланта до растений в поле. Этим требованиям удовлетворяют апексы и пазушные почки побегов, содержащие меристематические ткани. Основные проблемы при введении в культуру *in vitro* меристем земляники садовой связаны с большим процентом контаминации и ингибированием процессов органогенеза продуктами фенольного окисления [3]. Поэтому получение асептической культуры и подбор препаратов-антиоксидантов, уменьшающих некроз тканей при введении в культуру *in vitro*, являются необходимыми приемами в протоколах клонального микроразмножения. В предыдущих исследованиях нами были показаны рострегулирующая и адаптогенная активности механокомпозита, полученного на основе аморфного диоксида кремния из шелухи риса и флавоноидов зеленого чая на этапах укоренения *in vitro* и адаптации *ex vitro* [4, 5]. Поскольку механокомпозит содержит катехины и соединения кремния, обладающие антиоксидантными свойствами [6, 7], нами впервые проведено исследование потенциального антиоксидантного действия этого экологически безопасного препарата на начальных этапах введения в

культуру эксплантов земляники, результаты которого представлены в настоящей работе. Использование «зеленой химии» (механокомпозита) в качестве ингибитора фенольного окисления в условиях *in vitro* может стать технологией, признанной и востребованной на мировом уровне.

Среди факторов, способствующих увеличению меристематической активности клеток и пролиферации побегов в индукционной фазе, важную роль играют регуляторы роста. Эффективным индуктором органогенеза у многих видов растений, в том числе плодово-ягодных, является тидиазурон (ТДЗ) – синтетический регулятор роста, производный дифенилмочевины [8–10]. По сравнению с цитокининами аминопуринового ряда ТДЗ при более низких концентрациях способствует адвентивному побегообразованию у *F. × ananassa* из листовых и флоральных эксплантов [11–18]. Однако эффект ТДЗ на индукцию органогенеза в культуре меристем земляники исследован на ограниченном количестве сортов [19, 20]. Поскольку морфогенетический потенциал культивируемых тканей во многом зависит от генотипа и условий культивирования, разработка эффективной и воспроизводимой системы регенерации под воздействием ТДЗ в условиях *in vitro* для сортов *F. × ananassa* – актуальная задача. В связи с этим целью данного исследования являлось получение жизнеспособной культуры апикальных меристем земляники садовой и изучение влияния разных типов антиоксидантов и регуляторов роста на процессы инициации пазушного побегообразования у эксплантов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Биологическими объектами исследований являлись сорта земляники садовой (*F. × ananassa*): Солнечная полянка, Фестивальная ромашка, предоставленные В. И. Лутовым (Сельскохозяйственная артель «Сады Сибири», Новосибирская обл., пос. Ленинский). Изучаемые сорта характеризуются высокими показателями основных хозяйственно ценных признаков в условиях Западной Сибири [21, 22].

Для введения в культуру *in vitro* использовали столоны изучаемых сортов в начале их отращивания, которые брали с двухлетних опытных растений с начала июня до середины июля в 2019 и 2020 гг., произрастающих на экспериментальном участке лаборатории биотехнологии Центрального сибирского ботанического сада (ЦСБС) СО РАН (г. Новосибирск). Перед введением в культуру *in vitro* растительный материал отмывали в

¹FAOSTAT. Agricultural statistics database. 2017. Available from: <http://faostat.fao.org> [Accessed 08th April 2021].

течение 30 мин в проточной воде с использованием мощного средства Fairy (Procter & Gamble). Поверхностную стерилизацию проводили следующим образом: растительный материал погружали в 1,0%-й раствор гипохлорита натрия на 10 мин, затем дважды (по 10 мин) промывали в стерильной дистиллированной воде и погружали в 70%-й раствор этилового спирта на 2 с. Завершающим этапом стерилизации являлась обработка 0,1%-м раствором нитрата серебра в течение 5 мин с последующим трехкратным промыванием в стерильной дистиллированной воде в течение 10 мин.

После стерилизации верхушку побега отсекали и помещали в чашку Петри с 0,25%-м раствором аскорбиновой кислоты, где под стереомикроскопом МСП-1 (АО «Ломо», Россия) при увеличении $\times 40$ изолировали эксплант. Для культивирования *in vitro* брали экспланты длиной около 0,5 мм, включающие конус нарастания с двумя листовыми примордиями. На первом этапе экспланты культивировали в течение 3-х суток без доступа света на питательной среде Гамборга – Эвелега (В5) [23], дополненной антиоксидантами и регуляторами роста. В качестве антиоксидантов использовали восстановленный глутатион (ВГ) в концентрации 100,0 мг/л или новый ретрегулирующий препарат на основе биогенного диоксида кремния из шелухи риса и флавоноидов зеленого чая (механокомпозит, МК) в концентрации 20,0 мг/л (разработка Института химии твердого тела и механохимии СО РАН, г. Новосибирск). Химический состав МК, %: экстрактивные вещества – $16,3 \pm 1,1$; гемицеллюлоза – $22,3 \pm 0,8$; лигнин – $20,2 \pm 1,5$; целлюлоза – $38,9 \pm 2,0$; катехины – $1,4 \pm 0,2$; водорастворимый мономерный кремний – $34,0 \pm 0,7$ мг/л. Массовое соотношение рисовой шелухи и зеленого чая в МК составляет 10:1 [4]. Для инициации прямого органогенеза применяли синтетические цитокинины – тидиазурон (ТДЗ) в концентрации 0,02 мг/л или 6-бензиламинопуридин (БАП) в концентрации 1,0 мг/л. Концентрации ВГ и БАП показали свою эффективность в предыдущих исследованиях [24], концентрации МК и ТДЗ подобраны экспериментальным путем. В качестве контроля использовали безгормональную среду В5 с исследуемыми антиоксидантами.

По истечении 3-х суток культуры переносили в условия 16-часового фотопериода с интенсивностью освещения 4000 лк люминесцентными лампами дневного света при температуре 23 ± 2 °С. Через 7 суток культивирования подсчитывали процент стерильных эксплантов как отношение количества незараженных эксплантов к их общему количеству. В конце этапа введения в культуру *in vitro* (через 60 суток) оценивали процент регенерации (отношение количества эксплантов с развитыми побегами к общему количеству эксплантов) и количество микропобегов,

сформировавшихся на экспланте.

Оценку внешней морфологии эксплантов с индуцированными побегами проводили с использованием стереомикроскопа Carl Zeiss Stereo Discovery V12 с цветной цифровой камерой высокого разрешения AxioCam HRc (Германия) и программой AxioVision 4.8 (Германия) для получения, обработки и анализа изображений.

Экспланты вводили в культуру в количестве 45 штук для каждого варианта опыта и генотипа. Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программы StatSoft Statistica 10.0. Результаты представлены в виде средних значений и стандартных ошибок ($M \pm m$). Для сравнения средних значений независимых выборок использовали многограновый тест Дункана. Различия между средними значениями исследуемых показателей считали статистически значимыми при достигнутом уровне значимости $p < 0,05$. Оценку влияния факторов «антиоксидант», «регулятор роста» и «сорт» на процессы регенерации и органогенеза оценивали с помощью многофакторного дисперсионного анализа. Влияние факторов на исследуемые показатели считали статистически значимым при достигнутом уровне значимости $p < 0,05$.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

При практическом использовании культуры изолированных тканей и органов для массового размножения земляники важно разработать эффективные протоколы получения растений-регенерантов из эксплантов различного происхождения. Апикальные меристемы являются часто используемым типом эксплантов для тиражирования растений в условиях *in vitro*, поскольку способствуют получению посадочного материала, оздоровленного от бактериальных, грибных и вирусных болезней, накапливающихся в растениях открытого грунта.

Высокая степень контаминации столонов земляники привела к необходимости использования последовательной стерилизации дезинфицирующими растворами этилового спирта, гипохлорита натрия и азотнокислого серебра. Так, применяемый режим стерилизации растительного материала оказался эффективным, выход неинфицированных апикальных меристем составил $51,4 \pm 9,7$ и $65,0 \pm 4,1$ % для сортов Солнечная полянка и Фестивальная ромашка соответственно. Кроме того, использованный в нашем эксперименте режим стерилизации не только освобождал экспланты от контаминации, но и не подавлял их развитие, способность клеток растений к регенерации сохранялась (рис. 1). Однако основной проблемой на этапе инициации органогенеза *in vitro* из апикальных меристем земляники является окисление вторичных соединений (фенолы, терпены и другие вещества) фенолазами [25], приводящее к потемнению

изолированных тканей эксплантов. В свою очередь продукты окисления полифенолов обычно ингибируют деление и рост клеток, что ведет к гибели первичного экспланта или к уменьшению способности тканей к регенерации пазушных почек [26]. Контролировать накопление полифенолов можно добавлением антиоксидантов в питательную среду. В наших экспериментах для снижения токсичного действия полифенолов на этапе введения в культуру *in vitro* меристемы земляники изолировали в растворе аскорбиновой кислоты, затем культивировали в темноте, а также включали в состав питательных сред наиболее часто используемый антиоксидант – ВГ, и новый препарат из возобновляемого растительного сырья – МК. В ходе экспериментов определено, что меристемы сорта Солнечная полянка на питательных средах без регуляторов роста обладали меньшим регенерационным потенциалом (от 0 до 11,2% в зависимости от типа антиоксиданта) по сравнению с меристемами сорта Фестивальная ромашка (от 30,5 до 38,9%) (рис. 1). Определенная изменчивость регенерации при введении апикальных меристем *in vitro* может быть обусловлена индивидуальными особенностями сортов, связанными с интенсивностью выделения фенолов в питательную среду, и, как следствие, жизнеспособностью эксплантов при дальнейшем культивировании. Влияние генотипа на способность к регенерации, его реак-

ция на компоненты питательной среды подтверждают многие исследователи, поэтому индивидуальная разработка эффективных и воспроизводимых систем регенерации для каждого сорта является обоснованным этапом в работах по клональному микроразмножению [27–30]. Использование МК в качестве антиоксиданта увеличивало регенерационную способность (до 13,0%) апикальных меристем обоих сортов по сравнению с ВГ ($p < 0,05$). Среди биологически активных веществ, содержащихся в зеленом чае, основными антиоксидантными компонентами являются катехины, нейтрализующие активные формы кислорода [31]. Можно предположить, что применение МК изменяет окислительный метаболизм и уменьшает предрасположенность тканей эксплантов земляники к повреждающему действию продуктов фенольного окисления в условиях *in vitro*.

Среди факторов, способствующих увеличению меристематической активности клеток и пролиферации побегов, наиболее эффективным является использование регуляторов роста цитокининового типа в индукционной фазе регенерации эксплантов. Хотя в коммерческом размножении земляники наиболее часто используемым цитокинином является БАП [32, 33], в последнее время благодаря эффективности внимание к себе привлекает ТДЗ как мощный триггер органогенеза у плодово-ягодных растений [10].»

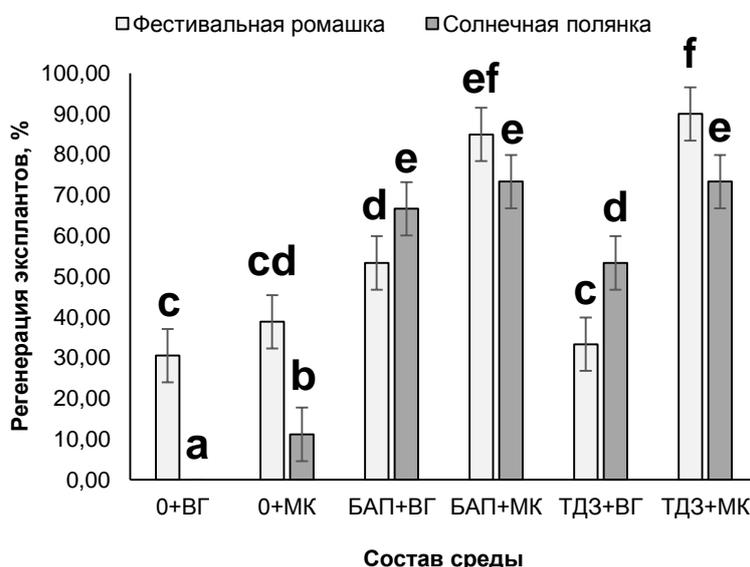


Рис. 1. Влияние антиоксидантов (ВГ, МК) и регуляторов роста (БАП, ТДЗ, 0 – среда без регуляторов роста) на регенерацию эксплантов сортов *F. × ananassa* Солнечная полянка и Фестивальная ромашка через 60 суток культивирования. Данные представлены в виде $M \pm m$; значения в столбцах, обозначенные разными буквами, имеют статистически значимое отличие друг от друга в соответствии с тестом Дункана ($p < 0,05$)

Fig. 1. Effect of antioxidants (GSH, MC) and plant growth regulators (BAP, TDZ, 0 – medium without plant growth regulators) on the regeneration rate of *F. × ananassa* explants (cvs. Solnechnaya polyanka and Festival'naya romashka) after 60 days of cultivation. Data are presented as $M \pm m$; for variables marked with different letters, the difference is statistically significant according to the Duncan test ($p < 0.05$).
On the X-axis – Medium composition; on the Y-axis – Regeneration of explants, %

как мощный триггер органогенеза у плодово-ягодных растений [10]. Эффективность ТДЗ в качестве индуктора морфогенеза связывают с его способностью ингибировать действие цитокининооксидазы – фермента, осуществляющего процесс необратимой деградации фитогормонов цитокининовой природы [34]. В нашем эксперименте использование как ТДЗ, так и БАП в составе питательных сред при введении в культуру *in vitro* стимулировало процессы регенерации и пролиферации в тканях первичных эксплантов у изучаемых сортов (рис. 2). Максимальное число микропобегов на экспланте (от 5 ± 1 до 6 ± 1 штук в зависимости от сорта) получено на средах с ТДЗ (рис. 3, с, см. рис. 2), что подтверждает промоторный эффект ТДЗ на морфогенетический ответ для ягодных культур [9]. При применении БАП в качестве индуктора органогенеза число микропобегов для сорта Фестивальная ромашка составило 3 ± 1 шт., для сорта Солнечная полянка – 5 ± 1 шт. (см. рис. 2).

Следует отметить, что регенерация апикальных меристем исследуемых сортов протекала исключительно по пути прямого органогенеза (рис. 3, b). Выявлены сортовые различия по скорости морфогенного ответа: первые изменения на поверхности эксплантов (незначительное разрастание ткани) отмечали через 7 суток культивирования у растений сорта Фестивальная ромашка, через 7–10 суток – у растений сорта Солнечная полянка. Развитие основного побега и образование пазушных микропочек у растений данных сор-

тов наблюдали через 20 и 25 суток соответственно (см. рис. 3, b). На 35–40-е сутки культивирования почки давали начало конгломератам микропобегов (см. рис. 3, с). На безгормональных средах отмечено развитие только основного побега.

Результаты многофакторного дисперсионного анализа показали, что на этапе введения в культуру *in vitro* земляники садовой на показатель «процент регенерации эксплантов» статистически значимое влияние оказывают все три изученных фактора ($p < 0,05$) – «сорт», «регулятор роста» и «антиоксидант», также статистически значимое влияние на этот показатель обнаруживают сочетания факторов «сорт + регулятор роста», «сорт + антиоксидант» и «регулятор роста + антиоксидант» (таблица). Наибольшее влияние на процент регенерации эксплантов оказывает фактор «регулятор роста» ($F = 66,20$), в меньшей степени – фактор «антиоксидант» ($F = 34,89$). Фактор «сорт» и вышеуказанные сочетания факторов оказывают на данный показатель значительно меньшее влияние ($F = 7,13$ и менее). На показатель «число микропобегов» из трех исследованных факторов статистически значимое влияние обнаруживают два – «регулятор роста» и «антиоксидант», причем в большей степени имеет значение вид используемого регулятора роста ($F = 12,11$), в меньшей – вид используемого антиоксиданта ($F = 6,23$). Фактор «сорт», а также сочетание факторов статистически значимого влияния на исследуемый показатель не обнаруживают.

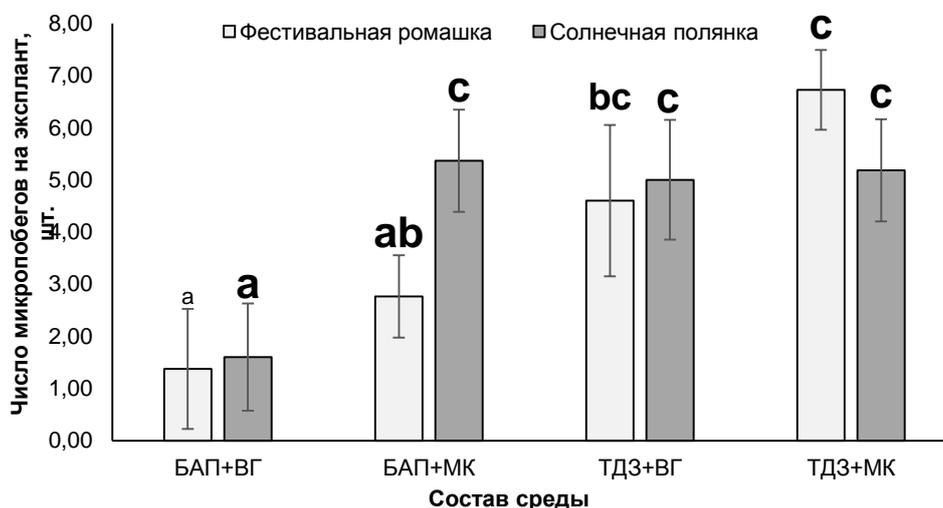


Рис. 2. Влияние антиоксидантов (ВГ, МК) и регуляторов роста (БАП, ТДЗ) на среднее число микропобегов, формирующихся на экспланте у сортов *F. × ananassa* Солнечная полянка и Фестивальная ромашка через 60 суток культивирования. Данные представлены в виде $M \pm m$; значения в столбцах, обозначенные разными буквами, имеют статистически значимое отличие друг от друга в соответствии с тестом Дункана ($p < 0,05$)

Fig. 2. Effect of antioxidants (GSH, MC) and plant growth regulators (BAP, TDZ) on the average number of microshoots per explant of *F. × ananassa* (cvs. Solnechnaya polyanka and Festival'naya romashka) after 60 days of cultivation. Data are presented as $M \pm m$; for variables marked with different letters, the difference is statistically significant according to the Duncan test ($p < 0.05$)
On the X-axis – Medium composition; on the Y-axis – Number of microshoots per explant

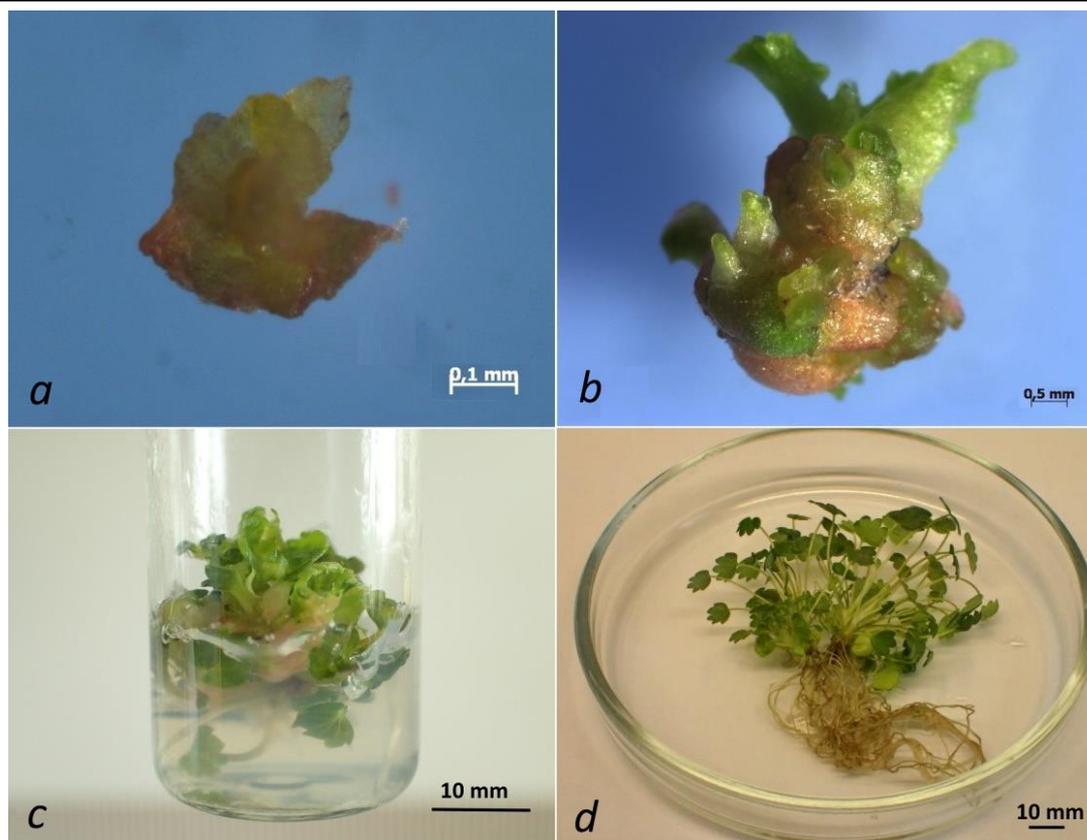


Рис. 3. Регенерация пазушных микропобегов из апикальных меристем у сорта *F. × ananassa* Солнечная полянка под действием 20,0 мг/л МК и 0,02 мг/л ТДЗ:

a – апикальная меристема (первичный эксплант); *b* – регенерация микропочек на поверхности первичного экспланта через 25 суток культивирования; *c* – конгломерат микропобегов через 40 суток; *d* – микропобеги через 60 суток

Fig. 3. Regeneration of axillary microshoots from the apical meristems of *F. × ananassa* (cv. Solnechnaya polyanka) under 20.0 mg/l MC and 0.02 mg/l TDZ:

a – apical meristem (primary explant); *b* – regeneration of microbuds on the surface of the primary explant after 25 days of cultivation; *c* – conglomerate of microshoots after 40 days; *d* – microshoots after 60 days

Результаты многофакторного дисперсионного анализа влияния факторов микроразмножения на показатели эффективности введения в культуру *in vitro* земляники садовой

Results of variance analysis of micropropagation factors influence on the efficiency of cultivated strawberry *in vitro* introduction

Факторы и их сочетания	Показатели эффективности введения в культуру <i>in vitro</i>			
	Регенерация эксплантов, %		Число микропобегов на эксплант, шт.	
	Значение критерия Фишера, <i>F</i>	Достигнутый уровень значимости, <i>p</i>	Значение критерия Фишера, <i>F</i>	Достигнутый уровень значимости, <i>p</i>
Регулятор роста	66,20*	0,000000	12,11*	0,000814
Антиоксидант	34,89*	0,000004	6,23*	0,014639
Сорт	5,46*	0,028179	0,32	0,574776
Сорт + регулятор роста	7,13*	0,003708	1,76	0,188431
Сорт + антиоксидант	6,67*	0,016357	0,02	0,885023
Регулятор роста + антиоксидант	4,91*	0,016225	0,91	0,343240
Сорт + регулятор роста + антиоксидант	2,38	0,113763	2,08	0,152737

*Значения *F* для факторов и их сочетаний, влияние которых на исследуемые показатели статистически значимо ($p < 0,05$).

Результаты дисперсионного анализа позволяют сделать заключение, что самыми важными факторами, влияющими на эффективность введе-

ния в культуру *in vitro* изученных сортов земляники садовой, являются типы используемых регуляторов роста и антиоксидантов. При этом сортовая

принадлежность эксплантов малозначима. В целом использование в качестве антиоксиданта МК в сочетании с любым из исследованных регуляторов роста способствует более высокой регенеративной активности эксплантов, поэтому можно рекомендовать использовать МК в качестве эффективного антиоксиданта на этапе введения в культуру *in vitro* земляники садовой.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате выполненных исследований оптимизированы приемы получения жизнеспособного исходного материала из апикальных меристем *F. × ananassa* сортов Солнечная полянка и Фестивальная ромашка в условиях *in vitro*, осно-

ванные на действии регуляторов роста БАП и ТДЗ и антиоксидантов ВГ и МК. Использование МК в сочетании с ТДЗ значительно препятствовало окислению фенольных компонентов, способствовало увеличению регенерации эксплантов и интенсивной стимуляции образования пазушных микропобегов (в среднем 5–7 шт. на эксплант). Представленная система регенерации пазушных побегов из апикальных меристем земляники садовой с добавлением в состав питательной среды МК на основе антиоксидантов растительного происхождения и ТДЗ может быть полезна коммерческим предприятиям, использующим для размножения растений технологии *in vitro*.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Расторгуев С. Л. Культура изолированных тканей и органов в селекции плодовых растений. Мичуринск: МичГАУ, 2009. 170 с.
2. Беликова Н. А., Белякова Л. В., Высоцкий В. А., Алексеенко Л. В. Экономическая эффективность выращивания рассады земляники с использованием биотехнологических приемов // Садоводство и виноградарство. 2011. N 5. С. 45–48.
3. Palei S., Das A. K., Rout G. R. *In vitro* studies of strawberry – an important fruit crop: a review // The Journal of Plant Science Research. 2015. Vol. 31, no. 2. P. 115–131.
4. Амброс Е.В., Коцупий О.В., Карпова Е.А., Трофимова Е.Г., Зайцева Ю.Г., Новикова Т.И. Адаптивный ответ регенерантов *Fragaria ananassa* Duch. под действием механокомпозита на основе аморфного диоксида кремния и флавоноидов зелёного чая в условиях *in vitro* // Теоретическая и прикладная экология. 2019. N 4. С. 116–122. <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2019-4-116-122>.
5. Ambros E. V., Toluzakova S. Y., Shrainer L. S., Trofimova E. G., Novikova T. I. An innovative approach to *ex vitro* rooting and acclimatization of *Fragaria × ananassa* Duch. microshoots using a biogenic silica and green-tea-catechin-based mechanocomposite // In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant. 2018. Vol. 54, no. 4. P. 436–443. <https://doi.org/10.1007/s11627-018-9894-1>.
6. Sahebi M., Hanafi M. M., Azizi P. Application of silicon in plant tissue culture // In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant. 2016. Vol. 52, no. 3. P. 226–232. <https://doi.org/10.1007/s11627-016-9757-6>.
7. Kulbat K. The role of phenolic compounds in plant resistance // Biotechnology and Food Sciences. 2016. Vol. 80, no. 2. P. 97–108.
8. Bhagwat B., Lane W. D. *In vitro* shoot regenerations from leaves of sweet cherry (*Prunus avium*) ‘Lapins’ and ‘Sweetheart’ // Plant Cell Tissue and Organ Culture. 2004. Vol. 78, no. 2. P.173–181. <https://doi.org/10.1023/B:TICU.0000022552.12449.71>.
9. Meng R. G., Chen T. H. H., Finn C. E., Li Y. Improving *in vitro* plant regeneration from leaf and petiole explants of ‘Marion’ blackberry // HortScience. 2004. Vol. 39, no. 2. P. 316–320. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.39.2.316>.
10. Debnath S. C. Thidiazuron in micropropagation of small fruits. In: Ahmad N., Faisal M. (eds). *Thidiazuron: from urea derivative to plant growth regulator*. Springer, Singapore. 2018. P. 139–158. https://doi.org/10.1007/978-981-10-8004-3_6.
11. Passey A. J., Barrett K. J., James D. J. Adventitious shoot regeneration from seven commercial strawberry cultivars (*Fragaria × ananassa* Duch.) using a range of explant types // Plant Cell Reports. 2003. Vol. 21, no. 5. P. 397–401. <https://doi.org/10.1007/S00299-002-0530-4>.
12. Debnath S. C. Strawberry sepal: another explant for thidiazuron-induced adventitious shoot regeneration // In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant. 2005. Vol. 41, no. 5. P. 671–676. <https://doi.org/10.1079/IVP2005688>.
13. Landi L., Mezzetti B. TDZ, auxin and genotype effects on leaf organogenesis in *Fragaria* // Plant Cell Reports. 2006. Vol. 25, no. 4. P. 281–288. <https://doi.org/10.1007/s00299-005-0066-5>.
14. Debnath S. C., Teixeira da Silva J. A. Strawberry culture *in vitro*: applications in genetic transformation and biotechnology // Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology. 2007. Vol. 1, no. 1. 12 p.
15. Husaini A., Abdin M. Interactive effect of light, temperature and TDZ on the regeneration potential of leaf discs of *Fragaria × ananassa* Duch. // In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant. 2007. Vol. 43, no. 6. P. 576–584. <https://doi.org/10.1007/s11627-007-9048-3>.
16. Debnath S. C. Developing a scale-up system for the *in vitro* multiplication of thidiazuron-induced strawberry shoots using a bioreactor // Canadian Journal of Plant Science. 2008. Vol. 88, no. 4. P. 737–746. <https://doi.org/10.4141/CJPS07147>.
17. Murti R. H., Debnath S. C., Yeoung Y. R. Effect of high concentration of thidiazuron (TDZ) combined with 1H-indole-3-butyric acid (IBA) on Albion

strawberry (*Fragaria × ananassa*) cultivar plantlets induction // African Journal of Biotechnology. 2012. Vol. 11, no. 81. P. 14696–14702. <https://doi.org/10.5897/AJB12.1047>.

18. Cappelletti R., Sabbadini S., Mezzetti B. The use of TDZ for the efficient *in vitro* regeneration and organogenesis of strawberry and blueberry cultivars // Scientia Horticulturae. 2016. Vol. 207, no. 1. P. 117–124. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.05.016>.

19. Fatemeh H., Mehran A. A., Ghizan S., Azmi A. R., Hussain K. Micropropagation of strawberry cultivar Camarosa: prolific shoot regeneration from *in vitro* shoot tips using thidiazuron with N6-benzylamino-purine // Hortscience. 2010. Vol. 45, no. 3. P. 453–456.

20. Quiroz K. A., Berríos M., Carrasco B., Retamales J. B., Caligari P. D. S., García-González R. Meristem culture and subsequent micropropagation of Chilean strawberry (*Fragaria chiloensis* (L.) Duch.) // Biological Research. 2017. Vol. 50, no. 1. Article number 20. <https://doi.org/10.1186/s40659-017-0125-8>.

21. Стольникова Н. П. Культура земляники в Западной Сибири. Барнаул: ИП И. А. Колмогоров, 2014. 182 с.

22. Петрук В. А., Боровикова Т. В., Аполинарьева И. К. Интродукция сортов земляники крупноплодной в условиях лесостепи Западной Сибири // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2016. N 6. С. 40–46.

23. Gamborg O. L., Eveleigh D. E. Culture methods and detection of glucanases in suspension cultures of wheat and barley // Canadian Journal of Biochemistry. 1968. Vol. 46, no. 5. P. 417–421. <https://doi.org/10.1139/o68-063>.

24. Амброс Е. В., Зайцева Ю. Г., Красников А. А., Новикова Т. И. Оптимизация систем регенерации микропобегов генотипов *Fragaria × ananassa* (Rosaceae), перспективных для сибирского региона // Растительный мир Азиатской России. 2017. N 4. С. 73–80. [https://doi.org/10.21782/RMAR.1995-2449-2017-4\(73-80\)](https://doi.org/10.21782/RMAR.1995-2449-2017-4(73-80)).

25. Баймухаметова Э. А., Кулуев Б. Р. Потем-

нение растительных тканей при культивировании *in vitro* и способы его предотвращения // Биотехнология. 2020. Т. 36, N 2. С. 26–42. <https://doi.org/10.21519/0234-2758-2020-36-2-26-42>.

26. Kichaoui A. Y. *In vitro* propagation of strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) through organogenesis via runner tips // Annals of Plant Sciences. 2014. Vol. 3, no. 3. P. 619–627.

27. Деменко В. И. Проблемы и возможности микрклонального размножения садовых растений // Известия ТСХА. 2005. Вып. 2. С. 48–58.

28. Расторгуев С.Л. Разработка приемов размножения земляники в системе *in vitro* // Вестник МичГАУ. 2012. N 1, ч. 1. С. 10–13.

29. Мацнева О. В., Ташматова Л. В., Джафарова В. Е. Пролиферативная активность сортов земляники садовой в культуре *in vitro* // Современное садоводство. 2016. N 1. С. 77–82. [Электронный ресурс]. URL: journal-vniispk.ru (08.04.2021).

30. Высоцкий В. А. Регенерационная способность эксплантов земляники различного происхождения // Плодоводство и ягодоводство России. 2014. Т. 40, N 1. С. 98–103.

31. Musial C., Kuban-Jankowska A., Gorska-Ponikowska M. Beneficial properties of green tea catechins // International Journal of Molecular Sciences. 2020. Vol. 21, no. 5. P. 1744. <https://doi.org/10.3390/ijms21051744>.

32. Шорников Д. Г., Брюхина С. А., Муратова С. А., Янковская М. Б., Папихин Р. В. Оптимизация условий культивирования *in vitro* ягодных и декоративных культур // Вестник Тамбовского университета. Серия: естественные и технические науки. 2010. Т. 15, N 2. С. 640–645.

33. Кухарчик Н. Получение посадочного материала плодовых и ягодных растений *in vitro* // Наука и инновации. 2019. N 6. С. 17–21.

34. Murthy B. N. S., Murch S. J., Saxena P. K. Thidiazuron: A potent regulator of *in vitro* plant morphogenesis // In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant. 1998. N 34. P. 267–275. <https://doi.org/10.1007/BF02822732>.

REFERENCE

1. Rastorguev S. L. *Culture of isolated tissues and organs in the selection of fruit plants*. Michurinsk: Izdatel'stvo Michurinskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta; 2009. 170 p. (In Russian).

2. Belikova N. A., Belyakova L. V., Vysotskiy V. A., Alekseenko L. V. Economic efficiency of growing strawberry seedlings using biotechnological techniques. *Sadovodstvo i vinogradarstvo = Horticulture and Viticulture*. 2011;5:45–48. (In Russian).

3. Palei S., Das A. K., Rout G. R. *In vitro* studies of strawberry – an important fruit crop: a review. *The Journal of Plant Science Research*. 2015;31(2):115–131.

4. Ambros E. V., Kotsupy O. V., Karpova E. A., Trofimova E. G., Zaytseva Y. G., Novikova T. I. *In vitro* adaptive responses of *Fragaria ananassa*

Duch. plantlets induced by the mechanocomposite based on amorphous silica and flavonoids of green tea. *Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya = Theoretical and Applied Ecology*. 2019;4:116–122. (In Russian). <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2019-4-116-122>.

5. Ambros E. V., Toluzakova S. Y., Shrainer L. S., Trofimova E. G., Novikova T. I. An innovative approach to *ex vitro* rooting and acclimatization of *Fragaria × ananassa* Duch. microshoots using a biogenic silica- and green-tea-catechin-based mechanocomposite. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*. 2018;54(4):436–443. <https://doi.org/10.1007/s11627-018-9894-1>.

6. Sahebi M., Hanafi M. M., Azizi P. Application of silicon in plant tissue culture. *In Vitro Cellular &*

- Developmental Biology – Plant*. 2016;52(3):226–232. <https://doi.org/10.1007/s11627-016-9757-6>.
7. Kulbat K. The role of phenolic compounds in plant resistance. *Biotechnology and Food Sciences*. 2016;80(2):97–108.
8. Bhagwat B., Lane W. D. *In vitro* shoot regenerations from leaves of sweet cherry (*Prunus avium*) 'Lapins' and 'Sweetheart'. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 2004;78(2):173–181. <https://doi.org/10.1023/B:TICU.0000022552.12449.71>.
9. Meng R. G., Chen T. H. H., Finn C. E., Li Y. Improving *in vitro* plant regeneration from leaf and petiole explants of 'Marion' blackberry. *HortScience*. 2004;39(2):316–320. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.39.2.316>.
10. Debnath S. C. Thidiazuron in micropropagation of small fruits. In: Ahmad N., Faisal M. (eds.) *Thidiazuron: from urea derivative to plant growth regulator*. Springer, Singapore; 2018, p. 139–158. https://doi.org/10.1007/978-981-10-8004-3_6.
11. Passey A. J., Barrett K. J., James D. J. Adventitious shoot regeneration from seven commercial strawberry cultivars (*Fragaria × ananassa* Duch.) using a range of explant types. *Plant Cell Reports*. 2003;21(5):397–401. <https://doi.org/10.1007/S00299-002-0530-4>.
12. Debnath S. C. Strawberry sepal: another explant for thidiazuron-induced adventitious shoot regeneration. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*. 2005;41(5):671–676. <https://doi.org/10.1079/IVP2005688>.
13. Landi L., Mezzetti B. TDZ, auxin and genotype effects on leaf organogenesis in *Fragaria*. *Plant Cell Reports*. 2006;25(4):281–288. <https://doi.org/10.1007/s00299-005-0066-5>.
14. Debnath S. C., Teixeira da Silva J. A. Strawberry culture *in vitro*: applications in genetic transformation and biotechnology. *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology*. 2007;1(1). 12 p.
15. Husaini A., Abdin M. Interactive effect of light, temperature and TDZ on the regeneration potential of leaf discs of *Fragaria × ananassa* Duch. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*. 2007;43(6):576–584. <https://doi.org/10.1007/s11627-007-9048-3>.
16. Debnath S. C. Developing a scale-up system for the *in vitro* multiplication of thidiazuron-induced strawberry shoots using a bioreactor. *Canadian Journal of Plant Science*. 2008;88(4):737–746. <https://doi.org/10.4141/CJPS07147>.
17. Murti R. H., Debnath S. C., Yeoung Y. R. Effect of high concentration of thidiazuron (TDZ) combined with 1H-indole-3-butanoic acid (IBA) on Albion strawberry (*Fragaria × ananassa*) cultivar plantlets induction. *African Journal of Biotechnology*. 2012;1(81):14696–14702. <https://doi.org/10.5897/AJB12.1047>.
18. Cappelletti R., Sabbadini S., Mezzetti B. The use of TDZ for the efficient *in vitro* regeneration and organogenesis of strawberry and blueberry cultivars. *Scientia Horticulturae*. 2016;207(1):117–124. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.05.016>.
19. Fatemeh H., Mehran A. A., Ghizan S., Azmi A. R., Hussain K. Micropropagation of strawberry cultivar Camarosa: prolific shoot regeneration from *in vitro* shoot tips using thidiazuron with N6-benzylamino-purine. *Hortscience*. 2010;45(3):453–456.
20. Quiroz K. A., Berríos M., Carrasco B., Retamales J. B., Caligari P. D. S., García-González R. Meristem culture and subsequent micropropagation of Chilean strawberry (*Fragaria chiloensis* (L.) Duch.). *Biological Research*. 2017;50(1). Article number 20. <https://doi.org/10.1186/s40659-017-0125-8>.
21. Stol'nikova N. P. *Strawberry culture in Western Siberia*. Barnaul: Izdatel'stvo individual'nogo predprinimatel'ya I. A. Kolmogorov; 2014. 182 p. (In Russian).
22. Petruk V. A., Borovikova T. V., Apolinar'eva I. K. Introduction of garden strawberry cultivars in West Siberian forest steppe. *Sibirskii Vestnik Sel'skokhozyaistvennoi Nauki = Siberian Herald of Agricultural Science*. 2016;6:40–46. (In Russian).
23. Gamborg O. L., Eveleigh D. E. Culture methods and detection of glucanases in suspension cultures of wheat and barley. *Canadian Journal of Biochemistry*. 1968;46(5):417–421. <https://doi.org/10.1139/o68-063>.
24. Ambros E. V., Zaytseva Yu. G., Krasnikov A. A., Novikova T. I. Optimization of microshoots regeneration systems of *Fragaria × ananassa* (Rosaceae) genotypes perspected for Siberian region. *Rastitel'nyi mir Aziatskoi Rossii = Flora and Vegetation of Asian Russia*. 2017;4:73–80. (In Russian). [https://doi.org/10.21782/RMAR1995-2449-2017-4\(73-80\)](https://doi.org/10.21782/RMAR1995-2449-2017-4(73-80)).
25. Baimukhametova E. A., Kuluev B. R. Darkening of plant tissues during *in vitro* cultivation and methods for its prevention. *Biotehnologiya = Biotechnology*. 2020;36(2):26–42. (In Russian). <https://doi.org/10.21519/0234-2758-2020-36-2-26-42>.
26. Kichaoui A. Y. *In vitro*, propagation of strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) through organogenesis via runner tips. *Annals of Plant Sciences*. 2014;3(3):619–627.
27. Demenko V. I. Problems and possibilities of micropropagation of garden plants. *Izvestiya Timiryazevskoi Sel'skokhozyaistvennoi Akademii = Izvestiya of Timiryazev Agricultural Academy (TAA)*. 2005;2:48–58. (In Russian).
28. Rastorguyev S. L. Development of strawberry propagation methods in system *in vitro*. *Vestnik Michurinskogo Gosudarstvennogo Agrarnogo Universiteta = Bulletin of Michurinsk State Agrarian University*. 2012;1(1):10–13. (In Russian).
29. Matzneva O. V., Tashmatova L. V., Dzhafarova V. E. Proliferative activity of strawberry cultivars *in vitro*. *Sovremennoe Sadovodstvo = Contemporary Horticulture*. 2016;1:77–82. Available from: journal-vniispk.ru [Accessed 08th April 2021]. (In Russian).

30. Vysotskiy V. A. Regenerative capacity of strawberry explants of different origination. *Plodovodstvo i Yagodovodstvo Rossii = Pomiculture and Small Fruits Culture In Russia*. 2014;40(1):98–103. (In Russian).

31. Musial C., Kuban-Jankowska A., Gorska-Ponikowska M. Beneficial properties of green tea catechins. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(5):1744. <https://doi.org/10.3390/ijms21051744>.

32. Shomikov D. G., Bryukhina S. A., Muratova S. A., Yankovskaya M. B., Papikhin R. V. *In vitro* conditions improvement for berry and ornamental plants micro-

propagation. *Vestnik Tambovskogo Universiteta. Seriya: Estestvennye i Tekhnicheskie Nauki = Tambov University Reports. Series Natural and Technical Sciences*. 2010;1(2):640–645. (In Russian)

33. Kuharchik N. Fruit and soft fruit plants propagation *in vitro*. *Nauka i Innovatsii = The Science and Innovations*. 2019;6:17–21. (In Russian).

34. Murthy B. N. S., Murch S. J., Saxena P. K. Thidiazuron: A potent regulator of *in vitro* plant morphogenesis. *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*. 1998;34:267–275. <https://doi.org/0.1007/BF02822732>.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Е. В. Амброс,

к.б.н., старший научный сотрудник,
Центральный сибирский ботанический сад
СО РАН,
630090, г. Новосибирск,
ул. Золотодолинская, 101,
Российская Федерация,
ambros_ev@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2119-6503>

Е. И. Чертенкова,

магистрант,
Национальный исследовательский Томский
государственный университет,
634050, г. Томск, пр-т Ленина, 36,
Российская Федерация,
chertenkova_kate@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-1785-6257>

С. Ю. Толузакова,

к.б.н., доцент,
Национальный исследовательский Томский
государственный университет,
634050, г. Томск, пр-т Ленина, 36,
Российская Федерация;
доцент кафедры агрономии и технологии
производства и переработки
сельхозпродукции,
Томский сельскохозяйственный институт –
филиал Новосибирского государственного
аграрного университета,
634009, г. Томск, ул. К. Маркса, 19,
Российская Федерация,
svetasana@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-0016-0779>

Е. Г. Трофимова,

к.х.н., научный сотрудник,
Институт химии твердого тела и механохимии
СО РАН,
630128, г. Новосибирск, ул. Кутателадзе, 18,
Российская Федерация,
shapolovaelena@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-6769-3724>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Elena V. Ambros,

Cand. Sci. (Biology.), Senior Researcher,
Central Siberian Botanical Garden SB RAS,
101, Zolotodolinskaya St., Novosibirsk, 630090,
Russian Federation,
ambros_ev@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-2119-6503>

Ekaterina I. Chertenkova,

Master Student,
National Research Tomsk State University,
36, Lenin Ave., Tomsk, 634050,
Russian Federation,
chertenkova_kate@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-1785-6257>

Svetlana Y. Toluzakova,

Cand. Sci. (Biology), Associate Professor,
National Research Tomsk State University,
36, Lenin Ave., Tomsk, 634050,
Russian Federation;
Associate Professor,
Department of Agronomy and Technology
of Production and Processing
of Agricultural Products,
Tomsk Agricultural Institute Branch
of Novosibirsk State Agricultural University,
19, Karl Marks St., Tomsk, 634009,
Russian Federation,
svetasana@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-0016-0779>

Elena G. Trofimova,

Cand. Sci. (Chemistry), Researcher,
Institute of Solid State Chemistry
and Mechanochemistry SB RAS,
18, Kutateladze St., Novosibirsk, 630128,
Russian Federation,
shapolovaelena@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-6769-3724>

Т. И. Новикова,

д.б.н., заведующая лабораторией
биотехнологии,
Центральный сибирский ботанический сад
СО РАН,
630090, г. Новосибирск,
ул. Золотодолинская, 101,
Российская Федерация,
tin27@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-6690-1878>

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад
в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта
интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили оконча-
тельный вариант рукописи.*

*Поступила в редакцию 22.06.2021.
Одобрена после рецензирования 15.11.2021.
Принята к публикации 30.11.2021.*

Tatyana I. Novikova,

Dr. Sci. (Biology.), Head of the Laboratory
of Biotechnology,
Central Siberian Botanical Garden SB RAS,
101, Zolotodolinskaya St., Novosibirsk, 630090,
Russian Federation,
tin27@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-6690-1878>

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

Conflict interests

The authors declare no conflict of interests re-
garding the publication of this article.

*The final manuscript has been read and approved
by all the co-authors.*

*The article was submitted 22.06.2021.
Approved after reviewing 15.11.2021.
Accepted for publication 30.11.2021.*