

УДК 581.142:58.084.1(571.642)

[https://doi.org/10.25221/2782-1978\\_2023\\_2\\_5](https://doi.org/10.25221/2782-1978_2023_2_5)

<https://elibrary.ru/iucuyu>

## Устойчивость семян дикорастущих растений Сахалинской области к воздействию сверхнизких температур

Нина Михайловна Воронкова

*Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН  
Владивосток, 690022, Российская Федерация  
E-mail: Voronkova@biosoil.ru*

Получена 11 апреля 2023 г.; принята к публикации 25 мая 2023 г.

**Аннотация.** Изучена ответная реакция на глубокое замораживание в жидком азоте при температуре минус 196 °С семян 58 видов растений, собранных на островах Сахалин, Монерон и Курильских островах Кунашир, Парамушир, Уруп, Итуруп, Шикотан, Симушир, Черные Братья, Шумшу, Кетой, Шиашкотан, Харимкотан, Ушишир. Семена всех исследованных видов относятся к ортодоксальному типу (влажность не более 12%). Жизнеспособность семян после замораживания оценивали по лабораторной всхожести. Семена после замораживания не погибли, а морфология проростков не отличалась от контрольных. Для 70.4% изученных образцов всхожесть семян после замораживания оставалась на уровне контроля, для 19.7% – была выше контрольной (что указывает на стимулирующее действие жидкого азота), для 9.9% образцов всхожесть была ниже, чем в контроле.

**Ключевые слова:** криоустойчивость семян, всхожесть, о. Сахалин, о. Монерон, Курильские острова.

## Resistance of wild plants seeds from Sakhalin Oblast to ultra-low temperatures

Nina M. Voronkova

*Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok, 690022, Russian Federation  
E-mail: Voronkova@biosoil.ru*

Received 11 April 2023; accepted 25 May 2023

**Abstract.** We studied the response of seeds of 58 plant species to deep freezing in liquid nitrogen at a temperature of minus 196 °C. The seeds were collected on Sakhalin Island, Moneron Island and Kuril Islands: Kunashir, Paramushir, Urup, Iturup, Shikotan, Simushir, Chyornye Bratya, Shumshu, Ketoi, Shiashkotan, Kharimkotan, Ushishir. All studied seeds were of the orthodox type (seed moisture content was lesser than 12%). Seed viability was assessed by laboratory germination. It was shown that the seeds did not die after freezing. For 70.4% of the studied samples the seed germination level after freezing remained at the control level, for 19.7% it was higher than in the control group (which indicates the stimulating effect of liquid nitrogen), for 9.9% of the samples the germination was lower than in the control group. The morphology of seedlings obtained from the seeds that had been frozen did not differ from the control group.

**Key words:** seed cryoresistance, germination, Sakhalin Island, Moneron Island, Kuril Islands.

## Введение

Проблема длительного хранения семян далека от разрешения и требует тщательного изучения ответных реакций семян каждого вида на действие того или иного фактора и прежде всего температуры. Наиболее надежным способом хранения семян, в сравнении со стандартными температурными режимами – плюс 3–5 °С (Николаева и др. 1985), минус 18–20 °С (Lu et al. 2018; Whitehouse et al. 2018), считается криоконсервация при температуре минус 196 °С (Pence et al. 2020), как с регулируемой скоростью замораживания (Touchell, Dixon 1996), так и прямым быстрым погружением в жидкий азот (Kavianian 2010). Литературные данные утверждают, что глубокий холодовой анабиоз пригоден для ортодоксальных семян (влажность

которых не превышает 10–12%), как культурных (Lu et al. 2018), так и дикорастущих растений (Тихонова и др. 1997; Kholina, Voronkova 2012; Voronkova et al. 2018; Lin et al. 2022) в качестве режима долговременного хранения. Использование криоконсервации особенно актуально для семян редких, исчезающих, эндемичных растений с быстрой потерей всхожести (Воронкова, Холина 2010а; Popova et al. 2016; Hurdu et al. 2022). Замораживание в жидком азоте семян растений дикорастущей флоры представляет значительные трудности по сравнению с семенами культурных растений, прежде всего, из-за наличия у большинства видов более глубокого покоя семян, требующего определённого режима проращивания. Это усложняет мониторинг лабораторной всхожести во время долговременного хранения.

В то же время для многих видов (редких, исчезающих, эндемичных видов, быстро уничтожаемых в природе лекарственных растений и растений, подвергающихся риску на территориях активного природного и антропогенного пресса) криоконсервация представляет реальный шанс сохранения для будущего. Прорастание семян – самый ранний этап в развитии растения. Именно на этом этапе оценивается реакция семян конкретных видов на действие сверхнизких температур. Замораживание ортодоксальных семян, собранных непосредственно в Сахалинской области, и разработка режимов их проращивания для мониторинга лабораторной всхожести во время долговременного хранения продолжается более 20 лет, и ее результаты частично опубликованы (Воронкова и др. 2000; Воронкова 2007; Воронкова, Холина 2010b).

Цель работы – выявление видоспецифических особенностей прорастания семян после воздействия сверхнизких температур (минус 196 °С).

### **Материал и методы**

В данном сообщении обобщены результаты предыдущих исследований и представлены новые данные, касающиеся влияния криоконсервации на жизнеспособность семян для 58 видов растений из 27 семейств природной флоры Сахалинской области. Для некоторых видов с опубликованными данными проводилось повторное проращивание. Из нескольких изолированных популяций (островов) в разные годы были собраны одни и те же виды. Всего была изучена 71 популяция.

Замораживание семян проводили путем прямого погружения завернутых в алюминиевую фольгу или находящихся в пластмассовых ампулах семян в жидкий азот (минус 196 °С). Время экспозиции семян в жидком азоте меняли в промежутке 1–60 суток, в отдельных случаях до восьми лет. Затем семена отогревали при комнатной температуре в течение двух часов и ставили на проращивание. Жизнеспособность семян оценивали по лабораторной всхожести. Контролем при проращивании деконсервированных семян служили семена той же партии, хранившиеся в лабораторных условиях в те же сроки. Семена проращивали в чашках Петри на фильтровальной бумаге или в прокалённом песке в трех повторностях по 50 семян в каждой. Исключение составляли семена охраняемых видов, а также крупные семена. В этих случаях в повторностях использовалось меньшее число семян, но не менее 25. Для семян с глубоким покоем проводили стратификацию при температуре плюс 2–5 °С в течение 1–4 месяцев, для некоторых видов и более длительную. Для семян с твердой кожурой использовали скарификацию серной кислотой с эмпирическим подбором времени действия для каждого вида (5–60 мин) с последующим промыванием в проточной воде. Скарификации подвергали семена всех бобовых, имеющих твердую кожуру, т. к. известно, что их семена обладают физическим

покоем. Всхожесть рассчитывали как отношение общего количества проросших семян к количеству заложенных на проращивание, выраженное в процентах. Энергия прорастания считается показателем качества семян и рассчитывается как процент прорастания за более короткий срок, чем итоговая всхожесть. В данном случае ее рассчитывали как всхожесть за пять суток. Результаты представлены в виде средних арифметических с их стандартными ошибками. Влажность семян в большинстве контрольных определений не превышала 10%. Невскрывающиеся плоды (семянки, мерикарпии, орешки и др.) как генеративные диаспоры в данной статье условно именуется семенами.

### Результаты и обсуждение

Ответная реакция семян, выраженная как всхожесть семян после их хранения при ультранизких температурах, представлена в таблице 1. Некоторые образцы одних и тех же видов были собраны в разных популяциях. Результаты проращивания показали, что семена всех изученных видов после воздействия жидкого азота не погибли.

Для 70.4% изученных популяций всхожесть семян оставалась на уровне контроля. Среди них представлены 43 вида: на о-ве Сахалин – *Aquilegia flabellata* Siebold et Zucc., *Arabis stelleri* DC, *Cardaminopsis petraea* (L.) Hiit., *Erysimum pallasii* (Pursh) Fern. (2 популяции), *Hedysarum sachalinense* B. Fedtsch., *Hemerocallis esculenta* Koidz., *Patrinia sibirica* (L.) Juss., *Picris japonica* Thunb., *Plantago camtschatica* Link, *Potentilla egedii* Wormsk., *P. nivea* L., *P. stolonifera* Lhm. ex Ledeb., *Rubus chamaemorus* L., *Saxifraga cherlerioides* D. Don., *Tephrosieris kawakamii* (Makino) Holub, *Trollius riederianus* Fisch. et C. A. Mey.; на о-ве Монерон – *Aquilegia flabellata*, *Arabis glauca* Boissieu, *Hemerocallis esculenta*, *Honckenya oblongifolia* Torr. et Gray, *Pedicularis schistostegia* Vved., *Picris japonica*, *Rhodiola sachalinensis* Boriss., *Vaccinium praestans* Lamb., *Veratrum grandiflorum* (Maxim. ex Baker) Loes. fil., *Veronica schmidtiana* Regel; на о-ве Уруп – *Arnica unalaschcensis* Less., *Cardaminopsis lyrata* (L.) Hiit., *Montia fontana* L., *Milium effusum* L., *Pedicularis oederi* Vahl, *P. schistostegia*, *Plantago camtschatica*, *Potentilla fragiformis* subsp. *megalantha* (Takeda) Hult., *Viola sachalinensis* Boissieu, *V. selkirkii* Pursh ex Goldie; на о-ве Кунашир – *Digitalis purpurea* L., *Iris pseudacorus* L., *Phalacrolooma annuum* (L.) Dummort.; на о-ве Харимкотан – *Cardamine regeliana* Miq., *Cochlearia officinalis* L., *Stenotheca tristis* (Willd. ex Spreng.) Schljakov; на о-ве Брат-Чирпоев (о-ва Чёрные Братья) – *Cardamine regeliana*, *Papaver miyabeianum* Tatew.; на о-ве Шумшу – *Empetrum sibiricum* V. Vassil., *Potentilla fragiformis* subsp. *megalantha*; на о-ве Симушир – *Coptis trifolia* (L.) Salisb.; на о-ве Шикотан – *Luzula capitata* (Miq.) Kom.; на о-ве Шиашкотан – *Primula cuneifolia* Ledeb.

Для 19.7% популяций всхожесть семян при проращивании после криоконсервации была выше контрольной. Среди них – следующие виды: на о-ве Сахалин – *Anemonastrum sachalinensis* (Juz) Starodub., *Hedysarum austrokurilense* (N. S. Pavlova) N. S. Pavlova, *Lathyrus japonicus* Willd.; на о-ве Монерон – *Angelica ursina* (Rupr.) Maxim., *Myosotis sachalinensis* M. Pop.; на о-ве Уруп – *Rhododendron aureum* Georgi; на о-ве Итуруп – *Arnica unalaschcensis*, *Scrophularia grayana* Maxim. et Kom., *Veronica americana* (Raf.) Schwein ex Benth.; на о-ве Кунашир – *Veronica americana*; на о-ве Парамушир – *Oxytropis retusa* Matsum.; на о-ве Симушир – *Fragaria yezoensis* Hara; на о-ве Рыпонкича – *Draba hyperborean* (L.) Desv.

Всхожесть семян ниже контрольной имели семена семи образцов, что составило 9.9% от числа всех исследованных популяций: на о-ве Сахалин – *Hemerocallis esculenta*, *Plantago lanceolata* L.; на о-ве Монерон – *Cardamine impatiens* L., *Urtica*

Табл. 1. Влияние криоконсервации на прорастание семян представителей флоры Сахалинской области.

Table 1. The influence of cryopreservation on seed germination of representatives of flora of the Sakhalin Oblast.

Семейство Family	Число исследованных ... Number of studied ...			Реакция на криоконсервацию: число образцов, у которых всхожесть ... Reaction to cryopreservation: the number of samples that have germination ...		
	родов genera	видов species	популяций populations	на уровне контроля at the control level	выше контроля above the control	ниже контроля below the control
Brassicaceae	6	9	11	9	1	1
Asteraceae	5	5	7	6	1	
Scrophulariaceae	4	6	8	5	3	
Rosaceae	4	6	7	6	1	
Ranunculaceae	4	4	5	4	1	
Fabaceae	3	4	4	1	3	
Ericaceae	2	2	2	1	1	
Plantaginaceae	1	2	3	2		1
Heimerocallidaceae	1	1	3	2		1
Violaceae	1	2	2	2		
Papav raceae	1	1	2	1		1
Primulaceae	1	1	2	1	1	
Apiaceae	1	1	1		1	
Boraginaceae	1	1	1		1	
Caryophyllaceae	1	1	1	1		
Crassulaceae	1	1	1	1		
Empetraceae	1	1	1	1		
Iridaceae	1	1	1	1		
Juncaceae	1	1	1	1		
Melanthiaceae (Colchicaceae)	1	1	1	1		
Onagraceae	1	1	1			1
Poaceae	1	1	1	1		
Polygonaceae	1	1	1			1
Portulacaceae	1	1	1	1		
Saxifragaceae	1	1	1	1		
Urticaceae	1	1	1			1
Valerianaceae	1	1	1	1		
<b>Итого Total</b>	<b>48</b>	<b>58</b>	<b>71</b>	<b>50 (70.4%)</b>	<b>14 (19.7%)</b>	<b>7 (9.9%)</b>

*platyphylla* Wedd.; на о-ве Кунашир – *Epilobium cephalostigma* Hausskn., *Persicaria maculata* (Rafin.) S. F. Gray; на о-ве Симушир – *Papaver miyabeanum*.

В ходе исследования были обнаружены межпопуляционные различия реакции семян на действие сверхнизких температур. Так, всхожесть деконсервированных семян ниже контроля была обнаружена у *Heimerocallis esculenta* только в одной популяции из трех, а у *Papaver miyabeanum* – в одной из двух обследованных популяций,

в остальных популяциях этих видов всхожесть была на уровне контроля. При повышении всхожести после замораживания также были выявлены межпопуляционные различия. Например, семена из двух популяций *Arnica unalaschcensis* имели всхожесть на уровне контроля или выше. Подобную ситуацию, когда семена одного вида из разных популяций по-разному реагируют на глубокое замораживание, мы наблюдали неоднократно и для других видов, а также для видов других территорий Дальнего Востока России (п-в Камчатка, Приморье) (Воронкова, Холина 2008). Сходные результаты были получены и другими авторами в других регионах при работе с семенами различных видов растений, т. е. криоконсервированные семена из разных популяций показывали, как более высокую, так и более низкую всхожесть (Тихонова 1999; Lu 2018). Такие же различия демонстрировали и систематически близкие виды. Поэтому невозможно предсказать заранее, даже на основе родственных связей, как поведут себя семена при проращивании после криоконсервации. В качестве причин изменчивости реакции семян на замораживание некоторые авторы указывают на экофизиологические факторы, на генетические различия семян, а также на различную степень зрелости и влажности семян (Тихонова 1999; Das et al. 2021). Очевидно, что для определения криоустойчивости каждого отдельного вида необходимо исследование максимально возможного числа популяций.

Соотношение видов, по-разному реагирующих на криогенное воздействие, варьирует по отдельным регионам (табл. 2).

**Табл. 2.** Влияние криоконсервации на проращивание семян из разных регионов Сахалинской области.

**Table 2.** Impact of cryopreservation on germination of seed collected from different regions of the Sakhalin Oblast.

Места сбора Seed collection sites	Доля популяций (в %), в которых всхожесть ... Percentage of samples with germination ...		
	на уровне контроля at the control level	выше уровня контроля above the control	ниже уровня контроля below the control
Курильские о-ва Kuril Islands	66	26	8
о. Сахалин Sakhalin Island	77	14	9
о. Монерон Moneron Island	72	14	14

Так, на Курильских островах среди исследованных видов самая высокая доля образцов с увеличением всхожести и, соответственно, самая низкая доля с ее снижением. Самая высокая доля популяций со снижением всхожести показана для о-ва Монерон. В целом число образцов, семена которых не реагируют отрицательно на воздействие жидкого азота (всхожесть на уровне контроля и выше), составляет ряд: Курильские острова – 92%, о. Сахалин – 91%, о. Монерон – 86%.

В таблице 3 в качестве типичных примеров представлены некоторые данные, характеризующие ответную реакцию семян на воздействие сверхнизких температур. При любых сроках хранения семян в жидком азоте энергия их прорастания практически не менялась и зависела только от первоначальной всхожести. Семена же, находящиеся в лабораторных условиях без воздействия жидкого азота, при больших сроках хранения со временем либо снижали всхожесть, либо полностью теряли ее. Семена с физическим покоем, имеющие твердую кожуру, обладали, как правило,

Табл. 3. Показатели прорастания семян при разных условиях хранения.

Table 3. Germination rates of seeds under different storage conditions.

Вид Species	Хранение в жидком азоте Storage in liquid nitrogen		Хранение в лабораторных условиях Storage in laboratory conditions
	длительность хранения storage period	прорастание (%) germination (%)	прорастание (%) germination (%)
<i>Draba cinerea</i> Adams	8 лет	89.3 ± 1.8**	0*
<i>Minuartia verna</i> (L.) Hiern	8 лет	93.3 ± 2.0**	0*
<i>Epilobium hornemanii</i> Reichenb.	8 лет	16.7 ± 3.1**	0*
<i>E. maximowiczii</i> Hausskn.	8 лет	93.0 ± 0.9**	0*
<i>Sagina crassi- caulis</i> S. Wats.	8 лет	38.0 ± 2.1**	0*
<i>Picris japonica</i>	50 суток	80.7 ± 5.7*	80.0 ± 4.0*
<i>Hemerocallis esculenta</i>	40 суток	50.7 ± 1.3*	41.3 ± 5.3*
<i>Myosotis sachalinensis</i>	30 суток	24.0 ± 2.3*	21.3 ± 3.5*
<i>Digitalis purpurea</i>	1 сутки	92.9 ± 0.3*	98.7 ± 0.3*
<i>Oxytropis retusa</i>	30 суток	41.3 ± 6.4** (9.0 ± 1.0)	0* 67.0 ± 2.0***

**Примечание.** Показатели прорастания: среднее значение ± стандартная ошибка, \* – энергия прорастания, \*\* – итоговая всхожесть, \*\*\* – всхожесть после скарификации серной кислотой в течение 20 мин, в скобках – первоначальная всхожесть семян без скарификации.

**Note.** Parameters of germination: average value ± standard error, \* – germination energy, \*\* – final germination, \*\*\* – germination after scarification with sulfuric acid for 20 min, in parentheses – initial germination of seeds without scarification.

низкой первоначальной всхожестью, зависящей от степени твердосемянности. Например, у семян *Oxytropis retusa* (сем. Fabaceae) с о-ва Парамушир, имеющих высокую степень твердосемянности (первоначальная всхожесть 9%), после воздействия жидкого азота всхожесть значительно повысилась (до 41.3%). При хранении в лабораторных условиях всхожесть была высокой только после скарификации семян серной кислотой. Возможно, сверхглубокое замораживание, так же как и скарификация, нарушает целостность кожуры семян, открывая доступ влаги.

Визуальный и морфометрический анализ показал, что отклонений в развитии проростков из криоконсервированных семян ряда изученных видов флоры Сахалинской области, так же как и видов других территорий, не отмечено, это подтверждают и ранее полученные данные (Воронкова, Холина 2003, 2010а; Popov et al. 2004).

### Заключение

Таким образом, резистентность семян исследованных видов к глубокому замораживанию в жидком азоте довольно высока и обеспечивает возможность для хранения семенного материала с максимальной гарантией. Варьирование ответной реакции семян на криогенное воздействие объясняется не только видовой спецификой, но и местоположением популяции в пределах ареала. Полученные

экспериментальные данные могут быть использованы при создании низкотемпературных банков семян. Однако при создании репрезентативной коллекции семян в таких банках следует учитывать не только криоустойчивость семян отдельных видов, но и межпопуляционную изменчивость реакции семян на действие глубокого замораживания в жидком азоте. Для максимально полного сохранения генофонда вида необходимо привлечение семян из наибольшего числа местообитаний.

### Благодарности

Автор благодарен д. б. н. В. Ю. Баркалову (ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН) за предоставление семян и плодов большинства видов.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 121031000144-5).

### Литература (References)

- Воронкова Н. М.** 2007. Влияние криоконсервации на жизнеспособность семян и плодов некоторых видов флоры острова Монерон (Сахалинская область) // *Растительные ресурсы*. Т. 4. Вып. 3. С. 34–41. (**Voronkova N. M.** 2007. Cryoconservation effect on seeds and fruits viability of some species of the Moneron Islands flora (Sakhalin Region). *Rastitelnye Resursy* 4(3): 34–41. [In Russian].)
- Воронкова Н. М., Холина А. Б.** 2003. Влияние температурного фактора и скарификации на прорастание семян и рост сеянцев *Sofora flavescens* Soland // *Растительные ресурсы*. Т. 39. Вып. 1. С. 43–49. (**Voronkova N. M., Kholina A. B.** 2003. Effects of temperature and scarification on seed germination and seedling growth of *Sophora flavescens* Soland. *Rastitelnye Resursy* 38(1): 43–49. [In Russian].)
- Воронкова Н. М., Холина А. Б.** 2008. Хранение семян: популяционная изменчивость ответной реакции семян на глубокое замораживание // *Вестник КрасГАУ*. Вып. 3. С. 125–130. (**Voronkova N. M., Kholina A. B.** 2008. Seed storage: population variation in seed response to deep freezing. *The Bulletin of KrasGAU* 3: 125–130. [In Russian].)
- Воронкова Н. М., Холина А. Б.** 2010а. Сохранение эндемичных видов Дальнего Востока России с помощью глубокого замораживания семян // *Известия РАН. Серия биологическая*. Т. 37. № 5. С. 581–586. DOI: 10.1134/S1062359010050092. (**Voronkova N. M., Kholina A. B.** 2010a. Conservation of endemic species from the Russian Far East using seed cryopreservation. *Biology Bulletin* 37: 496–501.) <https://doi.org/10.1134/S1962359010050092>
- Воронкова Н. М., Холина А. Б.** 2010b. Морфология, биология прорастания и криорезистентность семян представителей флоры острова Сахалин // *Вестник КрасГАУ*. Вып. 4. С. 30–36. (**Voronkova N. M., Kholina A. B.** 2010b. Morphology, germination biology and cryotolerance of the seeds that are the representatives of the Sakhalin Island flora. *The Bulletin of KrasGAU* 4: 30–36. [In Russian].)
- Воронкова Н. М., Холина А. Б., Журавлев Ю. Н.** 2000. Морфобиологическая характеристика и реакция на криоконсервацию семян некоторых видов флоры Курильских островов // *Растительные ресурсы*. Т. 36. Вып. 4. С. 40–47. (**Voronkova N. M., Kholina A. B., Zhuravlev Yu. N.** 2000. Morphobiological characteristics and the response of seeds to cryoconservation in some plants of the flora of Kurils. *Rastitelnye Resursy* 36(4): 40–47. [In Russian].)
- Николаева М. Г., Разумова М. В., Гладкова В. Н.** 1985. Справочник по проращиванию покоящихся семян. – Л.: Наука. 348 с. (**Nikolaeva M. G., Rasumova M. V., Gladkova V. N.** 1985. Reference book on dormant seed germination. Leningrad: Nauka. 348 pp. [In Russian].)
- Тихонова В. Л.** 1999. Долговременное хранение семян // *Физиология растений*. Т. 46. № 3. С. 467–476. (**Tikhonova V. L.** 1999. Long-term storage of seeds. *Russian Journal of Plant Physiology* 46: 400–408.
- Тихонова В. Л., Лысых Н. И., Фирсанова В. М.** 1997. Влияние замораживания на жизнеспособность семян дикорастущих растений // *Бюллетень Главного ботанического сада*. Вып. 175. С. 83–90. (**Tikhonova V. L., Lysych N. I., Firsanova V. M.** 1997. The effect of freezing on viability of natural plant seeds. *Bulletin of the Central Botanical Garden* 175: 83–90. [In Russian].)
- Das M. Ch., Devi S. D., Kumaria S., Reed B. M.** 2021. Looking for a way forward for the cryopreservation of orchid diversity. *Cryobiology* 102: 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2021.05.004>

- Hurdu B., Coste A., Halmagyi A. et al.** 2022. Ex situ conservation of plant diversity in Romania: A synthesis of threatened and endemic taxa. *Journal for Nature Conservation* 68, 126211. <https://doi.org/10.1016/j.jnc.2022.126211>
- Kaviani B.** 2010. Cryopreservation by encapsulation-dehydration for long-term storage of some important germplasm: seed of lily (*Lilium ledebourii* (Baker) Bioss.) embryonic axe of Persian lilac (*Melia azedarach* L.), and tea (*Camellia sinensis* L.). *Plant Omics Journal* 3: 177–182. [https://www.pomics.com/kaviani\\_3\\_6\\_2010\\_177\\_182.pdf](https://www.pomics.com/kaviani_3_6_2010_177_182.pdf)
- Kholina A. B., Voronkova N. M.** 2012. Seed cryopreservation of some medicinal legumes. *Journal of Botany* 2012: 186891. <https://doi.org/10.1155/2012/186891>
- Lin L., Cai L., Fan L., Ma J-Ch., Yang X-Y., Hu X-J.** 2022. Seed dormancy, germination and storage behavior of *Magnolia sinica*, a plant species with extremely small populations of Magnoliaceae. *Plant Diversity* 44 (1): 94–100. <https://doi.org/10.1016/j.pld.2021.06.009>
- Lu J., Greene S., Reid S., Cruz V. M. V., Diering D. A., Byrne P.** 2018. Phenotypic changes and DNA methylation status in cryopreserved seeds of rye (*Secale cereale* L.). *Cryobiology* 82: 8–14. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2018.04.015>
- Pence V. C., Ballesteros D., Walters Ch., Reed B. M., Philpott M., Dixon K. W., Pritchard H. W., Culley T. M., Vanhove A. C.** 2020. Cryobiotechnologies: Tools for expanding long-term ex situ conservation to all plant species. *Biological Conservation* 250: 108736. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2020.108736>
- Popov A. S., Popova E. V., Nikishina T. V., Kolomeytseva G. L.** 2004. The development of juvenile plants of the hybrid orchid *Bratonia* after seed cryopreservation. *CryoLetters* 25: 205–212.
- Popova E., Kim H. H., Saxena P. K. et al.** 2016. Frozen beauty: The cryobiotechnology of orchid diversity. *Biotechnology Advances* 34(4): 380–403. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2016.01.001>
- Touchel D. H., Dixon K. W.** 1996. Cryopreservation for the conservation of Australian endangered plants. In: M. N. Normah, M. K. Narimah, M. M. Clyde (Eds.). *In vitro conservation of plant genetic resources: Proceedings of the International Workshop on In Vitro Conservation of Plant Genetic Resources, July 4–6, Kuala Lumpur, Malaysia*. Kuala Lumpur: Plant Biotechnology Laboratory, Faculty of Life Sciences, University Kebangsaan Malaysia, pp. 169–180.
- Voronkova N. M., Kholina A. B., Koldaeva M. N., Nakonechnaya O. V., Nechaev V. A.** 2018. Morphophysiological dormancy, germination, and cryopreservation in *Aristolochia contorta* seeds. *Plant Ecology and Evolution* 151(1): 77–86. <https://doi.org/10.5091/plecevo.2018.1351>
- Whitehouse K. J., Owoborode O. F., Adebayo O. O. et al.** 2018. Further evidence that the genebank standards for drying orthodox seeds may not be optimal for subsequent seed longevity. *Biopreservation and Biobanking* 16: 327–336. <https://doi.org/10.1089/bio.2018.0026>