

Научная статья
УДК 634.711:57.043
DOI: 10.30901/2658-6266-2026-1-02



Криоконсервация российских сортов малины и их долгосрочное хранение в криобанке ВИР

С. Е. Дунаева, Л. Л. Малышев, О. В. Лисицына, Т. А. Гавриленко

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

Автор, ответственный за переписку: Светлана Ефимовна Дунаева, dunaevase@mail.ru

Актуальность. Криоконсервация является эффективным методом долгосрочного сохранения образцов растений. Криоколлекции образцов рода *Rubus* представлены в единичных зарубежных генбанках, в которых сортов малины российской селекции практически нет. Подавляющее число работ по криоконсервации образцов рода *Rubus* основано на использовании в качестве эксплантов апексов *in vitro* растений. Коллекция *in vitro* образцов рода *Rubus* в Федеральном исследовательском центре Всероссийском институте генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР) включает 160 образцов, в их числе 79 отечественных селекционных сортов малины. Образцы малины из *in vitro* коллекции закладываются на долгосрочное хранение в криобанк ВИР с 2017 года. Задача данной работы заключалась в криоконсервации и закладке на длительное хранение 11 российских сортов из *in vitro* коллекции ВИР и обобщении данных обо всей криоколлекции сортов малины *Rubus idaeus* L., включающей в настоящее время 27 образцов, хранящихся в криобанке ВИР. **Материалы и методы.** Образцы современных сортов малины, полученные из пяти российских селекционных центров, были введены в коллекцию *in vitro* ВИР. Криоконсервацию апексов микрорастений проводили модифицированным в ВИР методом дроблет-витрификации. Для статистической обработки данных использовали дисперсионный анализ и анализ главных компонент. **Результаты и обсуждение.** В культуру *in vitro* были введены 11 сортов малины российской селекции для которых была проведена криоконсервация. Показатели посткриогенной регенерации у этих образцов варьировали от 27 до 65%. В настоящее время вся криоколлекция сортов малины, сохраняемая в криобанке ВИР, насчитывает 27 сортов с показателями посткриогенной регенерации, варьирующими от 24 до 89%. С помощью анализа главных компонент криоколлекция была разделена на группы сортов по их реакции на погружение в жидкий азот в контрольных экспериментах. **Заключение.** Криоколлекция образцов малины, хранящаяся в криобанке ВИР, была пополнена 11 сортами. В настоящее время состав криоколлекции включает 23 селекционных сорта и четыре сорта народной селекции. Все 27 сортов были заложены на долгосрочное хранение в криобанк ВИР из расчета как минимум 90 эксплантов на образец.

Ключевые слова: криоколлекция, *Rubus idaeus* L., селекционные сорта, коллекция *in vitro*, генбанк

Благодарности: работа выполнена в рамках государственного задания согласно тематическому плану ВИР по теме № FGEM-2025-0004.

Для цитирования: Дунаева С.Е., Малышев Л.Л., Лисицына О.В., Гавриленко Т.А. Криоконсервация российских сортов малины и их долгосрочное хранение в криобанке ВИР. *Биотехнология и селекция растений*. 2026;9(1):38-48. DOI: 10.30901/2658-6266-2026-1-02

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

© Дунаева С.Е., Малышев Л.Л., Лисицына О.В., Гавриленко Т.А., 2026

Original article

DOI: 10.30901/2658-6266-2026-1-o2

Cryopreservation of Russian raspberry cultivars and their long-term storage in the VIR cryobank

Svetlana E. Dunaeva, Leonid L. Malyshev, Olga V. Lisitsyna, Tatjana A. Gavrilenko

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

Corresponding author: Svetlana E. Dunaeva, dunaevase@mail.ru

Background. Cryopreservation is an effective method for long-term preservation of plant specimens. Cryogenic collections of accessions of the genus *Rubus* exist in few foreign genebanks, which contain virtually no national raspberry cultivars. The overwhelming majority of studies on the cryopreservation of *Rubus* specimens are based on the use of *in vitro* plant apices as explants. The *in vitro* collection of *Rubus* accessions at the N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR) comprises 160 accessions, including 79 home-bred raspberry cultivars. Long-term storage of raspberry accessions from the VIR *in vitro* collection in the VIR cryobank was initiated in 2017. The objective of this study was to arrange cryopreservation and long-term storage of 11 Russian raspberry cultivars from the VIR *in vitro* collection. This study also summarized data on the entire VIR cryo collection of raspberry, which currently includes 27 *Rubus idaeus* L. cultivars. **Materials and Methods.** Accessions of modern raspberry cultivars obtained from five Russian breeding centers were added to the VIR *in vitro* collection. Cryopreservation of microplant apices was performed using the droplet vitrification method modified at VIR. Statistical analysis of variance and principal component analysis were used for data processing. **Results and Discussion.** Eleven Russian-bred raspberry cultivars were introduced into *in vitro* culture and cryopreserved. Post-cryogenic regeneration rate for these specimens ranged from 27 to 65%. Currently, the entire cryogenic collection of raspberry cultivars preserved in the VIR cryobank comprises 27 cultivars with post-cryogenic regeneration rates ranging from 24 to 89%. Using the principal component analysis, the cultivar accessions were grouped on the basis of their response to immersion in liquid nitrogen in control experiments. **Conclusions.** The cryogenic collection of raspberry accessions in the VIR cryobank has been expanded with 11 cultivars. Currently, the cryogenic collection includes 23 released cultivars and four landraces. All 27 cultivars were placed in long-term storage in the VIR cryobank at a rate of at least 90 explants per accession.

Keywords: cryo collection, *Rubus idaeus* L., released cultivars, *in vitro* collection, genebank

Acknowledgements: the work was carried out within the framework of the State Assignment in accordance with the thematic plan of VIR, topic No. FGEM-2025-0004.

For citation: Dunaeva S.E., Malyshev L.L., Lisitsyna O.V., Gavrilenko T.A. Cryopreservation of Russian raspberry cultivars and their long-term storage in the VIR cryobank. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2026;9(1):38-48. DOI: 10.30901/2658-6266-2026-1-o2

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

© Dunaeva S.E., Malyshev L.L., Lisitsyna O.V., Gavrilenko T.A., 2026

Введение

Евразийский вид малина обыкновенная *Rubus idaeus* L. subsp. *idaeus* относится к семейству Rosaceae и является наиболее распространенным культурным видом рода *Rubus* L. Малина – одна из наиболее экономически важных ягодных культур, выращивается более чем в 50 странах мира (Evdokimenko, Podgaetsky, 2022) и содержит широкий спектр биологически активных веществ (Egemeeva et al., 2019). Мировое производство малины в 2023 году превысило 800 тысяч тонн (FAOSTAT, 2023). Широкое генетическое разнообразие образцов культурных и диких видов малины, сохраняемое в мировых генбанках, является основой для выведения новых селекционных сортов как при использовании традиционных, так и биотехнологических подходов.

В настоящее время в Государственном реестре сортов и гибридов сельскохозяйственных растений, допущенных к использованию (State Register, 2024) числится 106 сортов малины – все отечественной селекции, созданные в следующих учреждениях: ФНЦ «Садоводство» – 51 сорт; НИИ садоводства Сибири им. М.А. Лисавенко – 13 сортов; Свердловская селекционная станция садоводства – 10; частная предпринимательская компания «Питомник Школьный сад» (Нижегородская область) – 5; Новосибирская зональная станция садоводства – 4; НИИ садоводства и лекарственных растений «Жигулевские сады» – 4; ФНЦ им. И.В. Мичурина – 3; Никитский ботанический сад – 2 сорта (State Register, 2024)¹.

Генетическое разнообразие рода *Rubus* сохраняется преимущественно в полевых коллекциях, в меньшей степени дублируется в коллекциях *in vitro*, тогда как криоколлекции пока не нашли широкого распространения (Reed, 2001; Reed et al., 2011; Dunaeva et al., 2022). В то же время, криоконсервация позволяет долгосрочно хранить генетические ресурсы вегетативно размножаемых культур при сверхнизких температурах, в жидком азоте (–196°C) или в его парах (от –130 до –160°C) без риска генетических изменений, поскольку все биологические процессы в клетках в этих условиях остановлены (Reed, 2008).

Подавляющее число работ по криоконсервации образцов рода *Rubus* основано на использовании в качестве эксплантов апексов *in vitro* растений. Несмотря на то, что во многих лабораториях проводились исследования по оптимизации протоколов криоконсервации образцов *in vitro* рода *Rubus* (Vujovic et al., 2017; Edesi et al., 2020; Ma et al., 2024), программы по их долгосрочному криохранению реализуются лишь в нескольких специализирующихся на этом учреждениях, в которых функционируют криобанки. При этом необходимо отметить, что

регламенты закладки на длительное хранение в разных криобанках различаются (Приложение 1/ Supplement 1)².

Самая крупная криоколлекция, включающая 200 образцов рода *Rubus*, находится в Национальном центре сохранения генетических ресурсов США (National Center for Genetic Resources Preservation, NCGRP), Форт Коллинз, штат Колорадо (Jenderek et al., 2025). Работы по криоконсервации образцов рода *Rubus* были начаты еще в 1990 году в Национальном хранилище клоновой зародышевой плазмы (NCGR, Корваллис, штат Орегон, США), где под руководством В.М. Reed были разработаны успешные протоколы на основе методов медленного замораживания (Reed, Lagerstedt, 1987), инкапсуляции-дегидратации (Chang, Reed, 1999) и витрификации с раствором криопротектора PVS2 (Plant Vitrification Solution 2; Sakai et al., 1990; Reed et al., 2008). Показателями эффективности разработанных протоколов являются достигнутые уровни посткриогенной регенерации – от 60 до 100%. Все протоколы включали процедуру холодового закаливания растений *in vitro* перед криоконсервацией (Reed, 1988). До 2010 года криоконсервация образцов рода *Rubus* проводилась в NCGR с отправкой сосудов Дьюара с замороженными эксплантами в криобанк NCGRP (Jenderek, Reed, 2017), где в настоящее время осуществляется весь комплекс работ по криоконсервации и хранению криоколлекции (Jenderek et al., 2025).

Из стран ближнего зарубежья в Институте биологии и биотехнологии растений Казахстана (ИББР) криоконсервацию проводили с использованием модифицированного метода витрификации (Kovalchuk et al., 2010); на хранение в криобанк заложены 25 образцов, включающие сорта, гибриды и клоны дикорастущих видов рода *Rubus* (Turdiyev et al., 2024). Метод дроплет-витрификации (droplet vitrification, DV), разработанный Б. Панисом (Panis et al., 2005), широко и успешно применяется для разных видов растений, включая представителей рода *Rubus*. В работе с генетически разнообразным материалом видов этого рода используются разные модификации метода (Nukari et al., 2009; Condello et al., 2011; Vujović et al., 2011; Vujović et al., 2017; Ukhatova et al., 2017; Tuohimetsä, Nukari, 2019; Edesi et al., 2020; Jenderek et al., 2025); ряд протоколов, применяемых для криоконсервации сортов малины, приведен в приложении (Приложение 2/ Supplement 2).

В Западной Европе с использованием модифицированного метода DV была проведена криоконсервация образцов малины, которые хранятся в криобанке Финляндии Laukaa Cryobank (Nukari et al., 2011) – 32 образца и в Институте биоэкономических исследований в Норвегии (Norwegian Institute of Bioeconomy Research, NIBIO, Sagaplant) – 23 образца (Ma et al., 2024).

¹ Примечание: ряд учреждений с единичными сортами, зарегистрированными в Госреестре, здесь не приводится (см. State Register, 2024)/ Note: a number of institutions with single cultivars registered in the State Register are not listed here (see State Register, 2024)

² Приложения доступны в онлайн версии статьи/ The supplements are available in the online version of the paper: DOI: 10.30901/2658-6266-2026-1-02

В России первые образцы малины были криоконсервированы методами медленного и быстрого замораживания в Институте физиологии растений Российской академии наук им. К.А. Тимирязева РАН (ИФР РАН); в криобанке этого института хранятся два сорта: ‘Скромница’ и ‘Ласточка’, а также четыре мериклона малины (Vysotskaya et al., 1999; Yuorieva et al., 2023).

В ВИР работы по криоконсервации *in vitro* образцов малины были начаты в 2017 году с использованием метода DV. Коллекция *in vitro* образцов рода *Rubus* в ВИР включает 160 образцов, в их числе 98 селекционных сортов малины, из которых 79 отечественной селекции. Ранее для 16 отечественных сортов из коллекции *in vitro* ВИР была проведена криоконсервация и закладка их на длительное хранение в криобанк ВИР (Ukhatova et al., 2017; Kamnev et al., 2022).

В данной статье представлены результаты криоконсервации 11 современных российских сортов из *in vitro* коллекции ВИР, приведен состав всей криоколлекции малины, насчитывающей в настоящее время 27 образцов, и обобщены данные их посткриогенной регенерации.

Материалы и методы

Растительный материал. Образцы 11 сортов малины были переданы в ВИР из пяти селекционных центров РФ авторами сортов или официальными представителями селекционных центров – специалистами по культуре для пополнения полевой, *in vitro* и крио коллекций ВИР. После закрепления этих образцов в полевой коллекции Пушкинских лабораторий ВИР, им были присвоены интродукционные номера: ‘Алая россыпь’ (и:о-635696), ‘Антарес’ (и:о-635697), ‘Арочная’ (и:о-633935), ‘Атлант’ (и:о-642072), ‘Зоренька Алтая’ (и:о-638076), ‘Кассиопея’ (и:о-633940), ‘Иллюзия’ (и:о-640733), ‘Муза’ (и:о-635701), ‘Прелесть’ (и:о-633937), ‘Рубиновая’ (и:о-63941), ‘Суламифь’ (и:о-638079). Подробная информация об этих 11 сортах представлена в Приложении 3 (и:о- префикс к номеру отечественного сорта; Приложение 3/ Supplement 3). Кроме того, в исследовании были привлечены данные о частоте посткриогенной регенерации 16 сортов малины, криоконсервация которых была проведена нами ранее (Ukhatova et al., 2017; Kamnev et al., 2022); данные об этих 16 сортах приведены в Приложении 4 (Приложение 4/ Supplement 4).

Введение образцов в культуру *in vitro*. Подробные протоколы выбора инициальных эксплантов (пазушных почек) и режима стерилизации для введения образцов малины в культуру *in vitro*, а также условия микроразмножения, укоренения развития микрорастений и тестирования растительного материала на наличие внутренних бактериальных инфекций изложены в Методических указаниях ВИР (Dunaeva et al., 2017). Здесь приведем лишь краткое описание основных этапов работы и составы питательных сред.

У растений из полевой коллекции ВИР отбирали пазушные почки и высаживали их на питательную сре-

ду Мурасиге и Скуга (MS) (Murashige, Skoog, 1962), дополненную 6-бензиламинопурином (6 БАП) – 0,5 мг/л, индолил- 3- масляной кислотой (ИМК) – 0,1 мг/л, гибберелловой кислотой (ГК) – 0,1 мг/л, аскорбиновой кислотой – 2 мг/л, сахарозой – 30 г/л и агаром – 7 г/л. Пазушные побеги, сформировавшиеся на введенных в культуру *in vitro* почках, так называемые «розетки», тестировали на наличие внутренних (скрытых или эндофитных) бактериальных инфекций на твердой бактериальной среде (Viss et al., 1984). «Розетки» без выявленной бактериальной контаминации разделяли на отдельные микророзетки, часть из которых использовали для микроразмножения. Оставшиеся побеги укореняли на безгормональной питательной среде MS и сформировавшиеся микрорастения включали в активную коллекцию *in vitro*, поддержание которой обеспечивается регулярным черенкованием с интервалом в три месяца.

Для получения необходимого числа апексов для криоконсервации проводили два субкультивирования растительного материала с интервалом 4-5 недель на питательной среде MS, дополненной 6- БАП (0,5 мг/л), ИМК (0,1 мг/л), ГК (0,1 мг/л), сахарозой (30 г/л) и агаром (7 г/л). Растительный материал в культуре *in vitro* поддерживали при температуре 22-23°C, фотопериоде 16 часов и интенсивности светового потока 40 мкмоль м² с⁻¹.

Криоконсервация апексов побегов *in vitro* растений. Криоконсервацию проводили с использованием метода капель-витрификации (DV), отдельные этапы которого были модифицированы в отделе биотехнологии ВИР (Dunaeva et al., 2017; Ukhatova et al., 2017; Gavrilenko et al., 2019) (см. Приложение 1, 2/ see Supplements 1, 2). Составы растворов для криоконсервации эксплантов и их оттаивания, а также для посткриогенной регенерации приведены в Приложении 2 (см. Приложение 2/ see Supplement 2). Протокол криоконсервации включал следующие последовательные этапы: (а) изоляцию апексов микрорастений и обработку их растворами с криопротекторами, (б) криоконсервацию – погружение эксплантов в жидкий азот (LN), (в) оттаивание, (г) посткриогенное восстановление и оценку регенерационной способности образцов в двух контрольных вариантах: ‘+LN’ – с погружением эксплантов на один час в жидкий азот с последующим оттаиванием для контроля уровня посткриогенной регенерационной способности, и ‘-LN’ – без погружения эксплантов в жидкий азот для контроля качества используемых растворов с криопротекторами и питательных сред; (д) закладка криоконсервированных эксплантов на длительное хранение в криобанк.

Регламент проведения контрольных опытов и закладки образцов малины на длительное хранение в криобанк ВИР приведен в Приложении 1 (см. Приложение 1/ see Supplement 1). Для каждого образца эксперименты выполняли в трех независимых повторностях. В каждой повторности изолировали по 60 эксплантов, из них 20 использовали в контрольном варианте ‘+LN’, 10 – в контрольном варианте ‘-LN’, оставшиеся 30 криоконсервированных

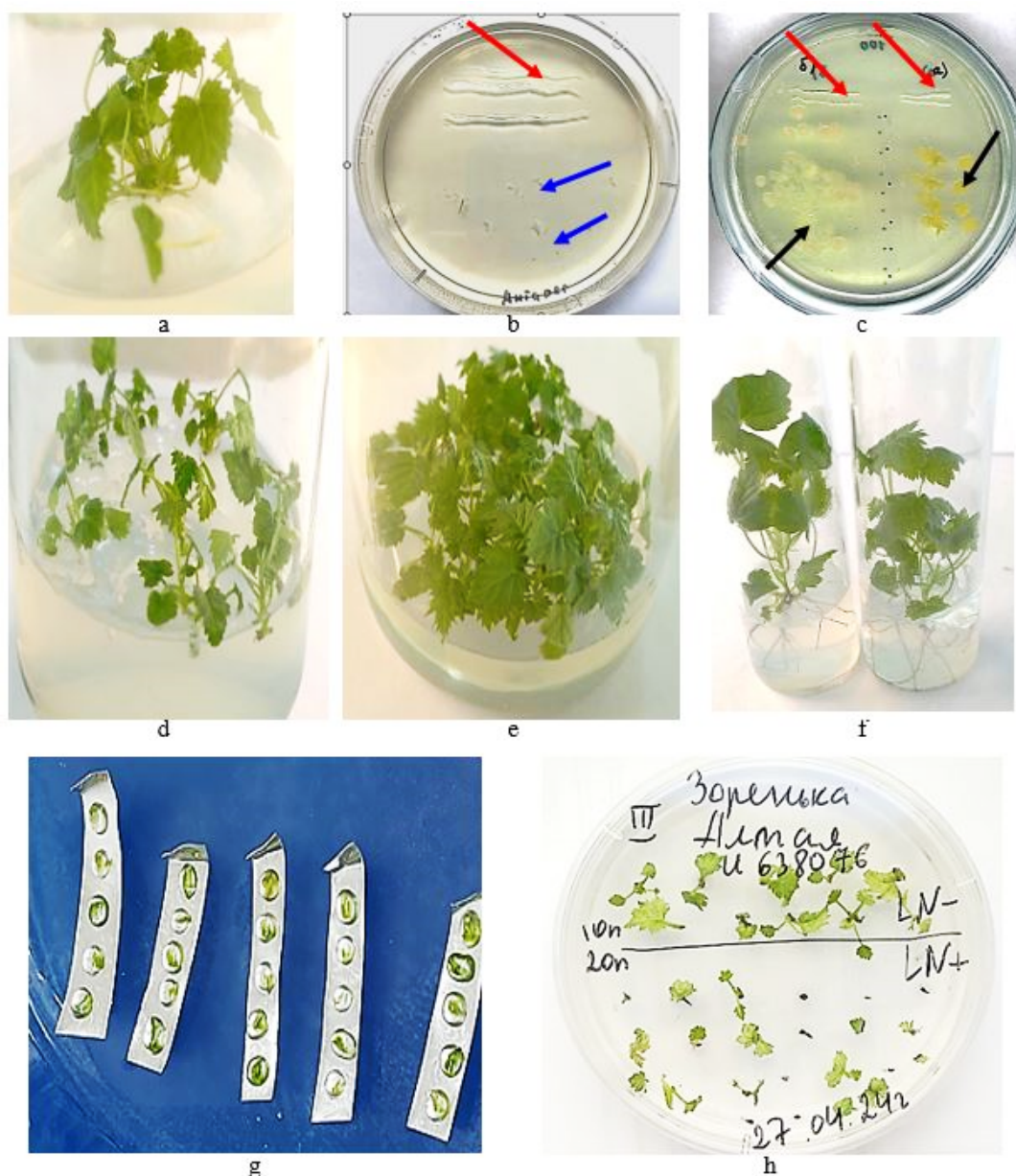


Рис. 1. Основные этапы экспериментов по подготовке растительного материала, его криоконсервации и оценке регенерационной способности

- (a) «розетка» побегов, используемая для тестирования на бактериальные инфекции; (b, c) результаты тестирования на наличие скрытых бактериальных инфекций которые не выявлены (b) или обнаружены (c) в проверяемом растительном материале; красные стрелки указывают на следы, сделанные инструментами на питательной среде, синие стрелки – на следы аппликации «розеток» побегов, черные стрелки – на выявленную бактериальную инфекцию; (d) культивирование микропобегов, отделенных от «розеток»; (e) микроразмножение; (f) микрорастения в коллекции *in vitro*; (g) апексы в каплях криопротектора на полосках алюминиевой фольги перед погружением в жидкий азот; (h) регенерация эксплантов в контрольных вариантах ‘-LN’ и ‘+LN’ у сорта ‘Зоренька Алтая’ (и:о-638076)

Fig. 1. Main stages of the experiments on the preparation of plant material, its cryopreservation and assessment of regenerative capacity

- (a) rosette of shoots used for testing for bacterial infections; (b, c) results of testing for the presence of latent bacterial infections that were not detected (b) or detected (c) in the tested plant material; red arrows point to traces left by tools on the nutrient medium, blue arrows point to traces of application of the rosette of shoots, black arrows point to the detected bacterial infection; (d) cultivation of microshoots separated from the rosettes; (e) micropropagation; (f) microplants in an *in vitro* collection; (g) apexes in drops of cryoprotectant on aluminum foil strips before immersion in liquid nitrogen; (h) regeneration of explants in the control variants ‘-LN’ and ‘+LN’ in the cultivar ‘Zoren’ka Altaya’ (и:о-638076).

эксплантов передавали на длительное хранение в криобанк ВИР. Таким образом, для криоконсервации и закладки на криохранилище одного образца вычленили 180 эксплантов.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета Statistica 10.0. Статистическая обработка включала дисперсионный анализ:

- однофакторный с одним источником варьирования – «генотип (сорт)» в каждом варианте опыта;
- двухфакторный с двумя источниками варьирования (факторами):

(1) «вариант опыта» – '+LN' (с кратковременным погружением в жидкий азот) и '-LN' (без обработки жидким азотом), и (2) «генотип (сорт)». По результатам дисперсионного анализа вычислена доля влияния факторов и их взаимодействия $\eta_{i(j,ij)}^2$ и неучтенных факторов (ошибки) η_e^2 :

$$\eta_i^2 = \frac{SS_i}{SS} \text{ и } \eta_e^2 = \frac{SS_e}{SS},$$

где $SS_{i(j,ij)}$ – сумма квадратов отклонений по первому (i) и второму (j) фактору и взаимодействию между факторами (ij), SS_e – сумма квадратов отклонений ошибки (неучтенных факторов) и SS – общая сумма квадратов отклонений.

Для группировки изученных образцов по изменению уровня регенерационной способности в ответ на кратковременное, один час, погружение в жидкий азот был использован анализ главных компонент.

Результаты и обсуждение

Криоконсервация 11 сортов малины из *in vitro* коллекции ВИР. Для криоконсервации были отобраны сорта малины, созданные в пяти селекционных учреждениях РФ, из коллекции *in vitro* ВИР (см. Приложение 3/ see Supplement 3). На рисунке 1 а-г представлены основные этапы подготовки растительного материала, его криоконсервации и оценке регенерационной способности.

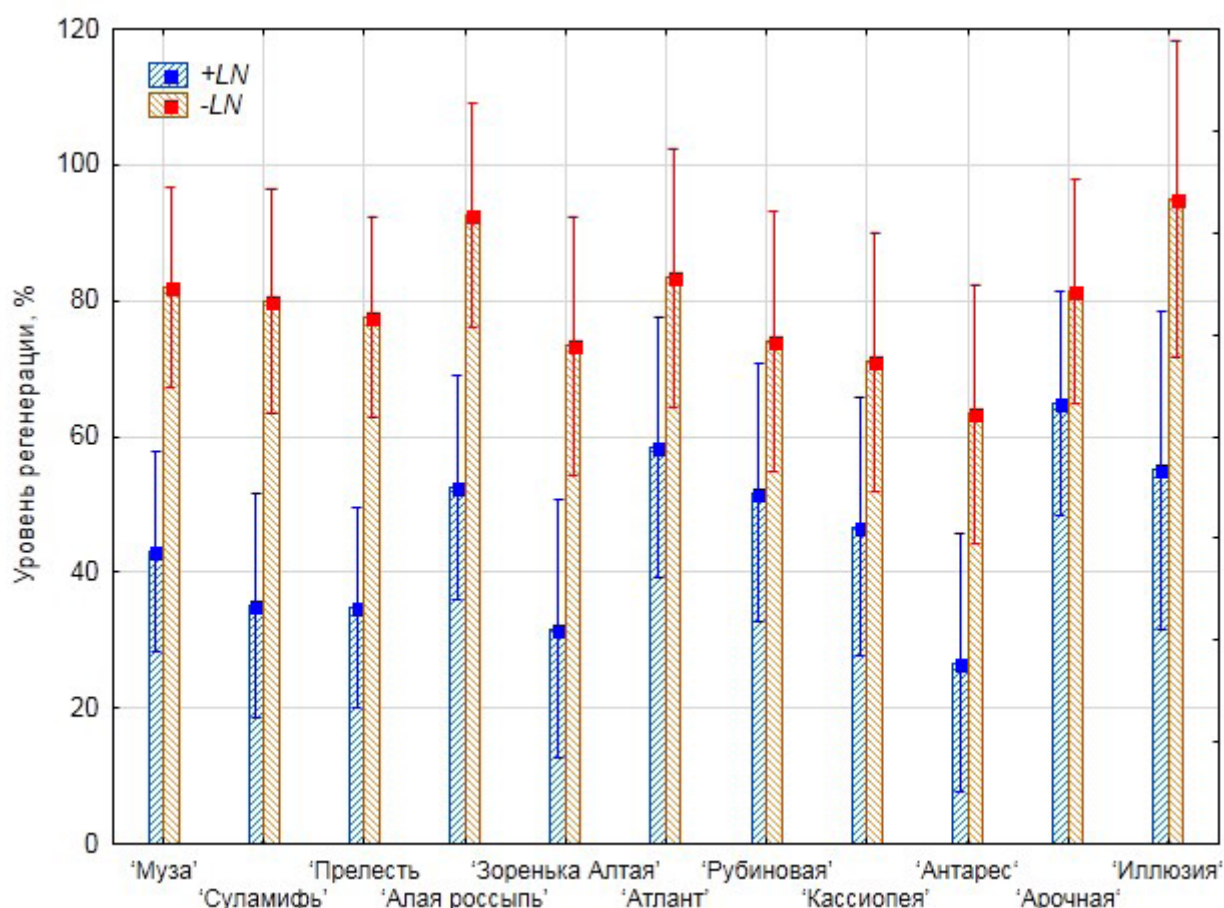


Рис. 2. Уровень регенерации апексов 11 сортов малины в контрольных вариантах опыта '+LN' (■) и '-LN' (■)

Fig 2. The level of regeneration of apices of 11 raspberry cultivars in the control experiments '+LN' (■) and '-LN' (■)

Одним из важных этапов в работах по криоконсервации является тестирование растительного материала на отсутствие скрытых бактериальных инфекций (см. рис. 1b, c)), поскольку они могут угнетать микро-размножение побегов (Dunaeva, Osledkin, 2015). Вторым значимым этапом является микро-размножение (см. рис. 1d, e), так как необходимо получить как минимум 180 апексов (верхушечных почек) для криоконсервации каждого образца (см. Приложение 1/ see Supplement 1). На рисунке 2 приведены данные по уровню регенерации апексов микрорастений 11 сортов малины в двух контрольных вариантах: ‘-LN’ (без погружения эксплантов в жидкий азот) и ‘+LN’ (с погружением эксплантов в жидкий азот на один час).

В варианте ‘-LN’ уровень регенерации варьировал от 63,3±8,8% у сорта ‘Антарес’ до 92,5±2,5% у сорта ‘Алая россыпь’, а в варианте ‘+LN’, уровень посткриогенной регенерации варьировал от 26,7±1,7% у сорта ‘Антарес’ до 65,0±8,9% у сорта ‘Арочная’ (см. рис. 2). Коэффициент корреляции между уровнем регенерации в контрольных вариантах ‘-LN’ и ‘+LN’ указывал на умеренную положительную связь и был в высокой степени достоверен ($r=0,551$, $p=0,001$).

Влияние генотипа, рассчитанное отдельно в варианте ‘-LN’ и в варианте ‘+LN’, было недостоверным ($p=0,580$, доля влияния $\eta^2=30,7\%$ и $p=0,154$, доля влияния $\eta^2=36,5\%$ соответственно).

В двухфакторном дисперсионном комплексе вариант опыта имел достоверное влияние на регенерацию эксплантов ($p=0,001$, доля влияния $\eta^2=49,1\%$). Значение уровня регенерации у 11 сортов в варианте опыта ‘-LN’ было ожидаемо выше и составило 79,9±2,4%, в то время как в варианте ‘+LN’ оно составило 45,0±3,1%. Взаимодействие факторов “генотип” и “вариант опыта” было недостоверным ($p=0,726$, $\eta^2=4,3\%$). Значительную долю влияния на регенерацию в обоих вариантах опыта ‘-LN’ и ‘+LN’ оказывали неучтенные факторы.

Инвентаризация криоколлекции сортов малины ВИР. По результатам проведенной работы в криобанк ВИР были заложены 11 новых сортов малины. В результате суммарный состав криоколлекции этой культуры увеличился до 27 образцов (рис. 3, см. Приложение 4/ see Supplement 4). Состав криоколлекции образцов малины включает 23 отечественных селекционных сорта и четыре сорта народной селекции. Каждый из 27 образцов малины был представлен как минимум девятью криопробирками с 10 эксплантами в каждой, в сумме – не менее 90 эксплантов на образец.

В Приложении 4 (см. Приложение 4/ see Supplement 4) для каждого из 27 образцов приведены данные по уровню регенерации в контрольных вариантах ‘-LN’ и ‘+LN’, между этими показателями получена достоверная положительная связь ($r=0,551$, $p=0,001$). На рисунке 3 представлено варьирование уровня посткриогенной регенерации в выборке из 27 сортов, хранящихся в криобанке ВИР.

Международная организация по сохранению биоразнообразия (IPGRI) рекомендовала сохранять в криобанках образцы с минимальным уровнем посткриогенной регенерации (‘+LN’) не менее 20% (Engelmann, Takagi, 2000). В дальнейшем, с совершенствованием методов криоконсервации, этот пороговый уровень повышался. Так, Dussert с соавторами (Dussert et al., 2003) на основе статистических расчетов рекомендовали закладывать в криобанк образцы с уровнем посткриогенной регенерации не менее 39%, что, по расчетам авторов, должно соответствовать компромиссу между возможностью восстановления образца после длительного криохранения и числом заложённых в криобанк эксплантов.

В публикации Volk с соавторами (Volk et al., 2017) приводится расчетная таблица, позволяющая на основе двух показателей (число заложённых в криобанк апексов и средний уровень их посткриогенной регенерации в контроле ‘+LN’) прогнозировать с высокой вероятностью (0,95) число жизнеспособных апексов, которые можно извлечь из криобанка в случае определённого образца. В каждом криобанке принимаются такие решения самостоятельно с учетом стоимости работ и необходимости обеспечения жизнеспособности дублетных коллекций (Volk et al., 2017), поэтому регламенты закладки в разных криобанках отличаются (см. Приложение 1/ see Supplement 1).

Уровень посткриогенной регенерации 27 образцов криоколлекции малины, хранящихся в криобанке ВИР, варьирует от 24 до 89% (см. рис. 3; см. Приложение 4/ see Supplement 4); из них рекомендованный уровень 39% и выше имеют 16 сортов малины (в приложении 4 эти образцы отмечены*/ in Supplement 4 these accessions are marked with*). Согласно рекомендациям (Dussert et al., 2003; Volk et al., 2017) при низких значениях регенерации, менее 39%, обусловленных генотипическими особенностями образца, число заложённых на длительное хранение в криобанк эксплантов должно быть увеличено (до более 90) или требуется модификация протокола для этого образца.

Дифференциация образцов криоколлекции малины по реакции на кратковременное погружение в жидкий азот. На следующем этапе были обобщены данные по реакции на кратковременное, на один час, погружение в жидкий азот у образцов расширенной выборки, включающей 11 сортов малины, данное исследование, и 16 сортов, криоконсервация которых была проведена ранее (Ukhatova et al., 2017; Kamnev et al., 2022). Образцы были сгруппированы по степени снижения регенерационной способности в контрольном варианте ‘+LN’ в сравнении с соответствующим показателем в варианте ‘-LN’.

Для выявления различий между генотипами использовали анализ главных компонент, по результатам которого были выделены два фактора: с фактором 1 (80,9% дисперсии) связан средний уровень регенерации в обоих вариантах (‘-LN’ и ‘+LN’) и с фактором 2 (19,0%) – специ-

фическая реакция сорта на кратковременное погружение апексов в жидкий азот (степень снижения уровня регенерации). На основе полученных результатов выборка из 27 сортов может быть разделена на четыре группы по

их реакции на кратковременное, на один час, погружение в жидкий азот. На рисунке 4 эти группы обозначены как 1-4 и цифрой 5 отмечен один сорт 'Скромница'.

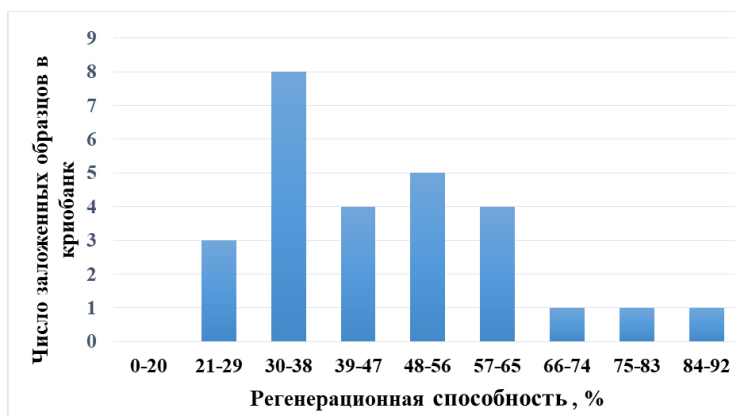


Рис. 3. Средние значения частот посткриогенной регенерации в контрольном варианте '+LN' у 27 сортов малины из криоколлекции ВИР

Fig. 3. Average frequencies of post-cryogenic regeneration in '+LN' control variant for 27 raspberry cultivars from the VIR cryogenic collection

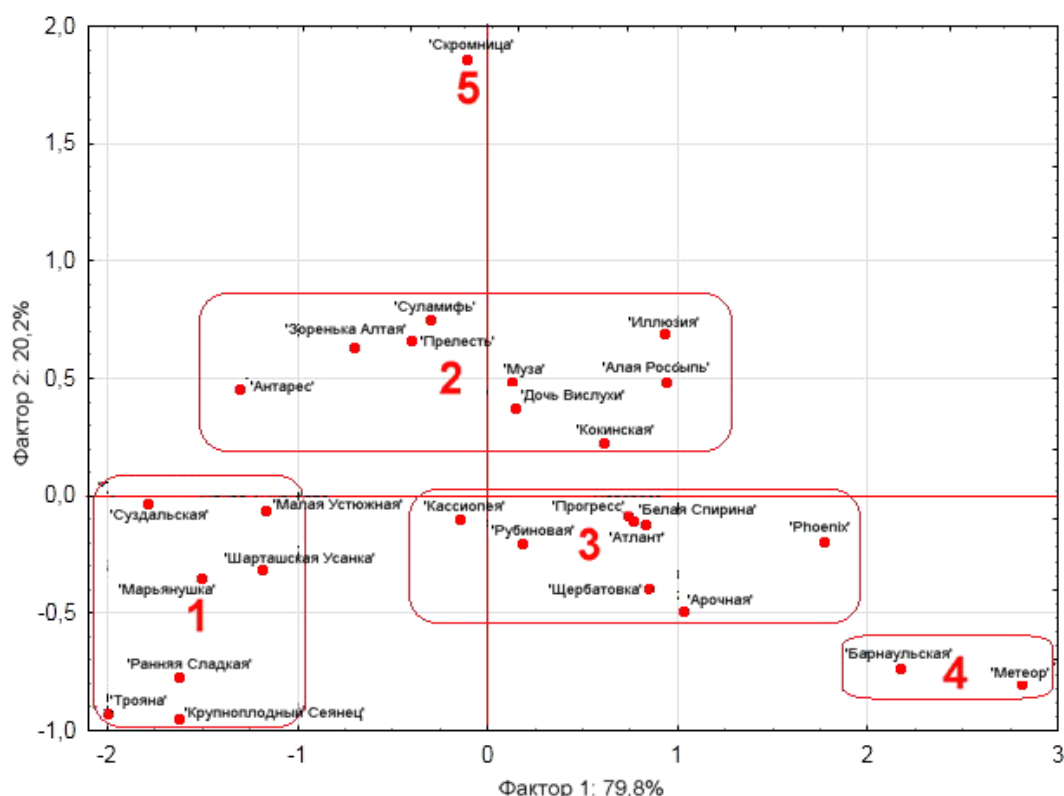


Рис. 4. Дифференциация 27 сортов малины в пространстве факторов 1 и 2 по реакции на кратковременное погружение в жидкий азот (1 час)

Fig. 4. Differentiation of 27 raspberry cultivars in space of factors 1 and 2 based on response to short-term immersion in liquid nitrogen (1 hour)

Группа 1 включала семь сортов: 'Крупноплодный сеянец', 'Малая Устюжная', 'Марьянушка', 'Ранняя сладкая', 'Суздальская', 'Трояна', 'Шарташская Усанка' (см. рис. 4), регенерационная способность которых в контрольном варианте '-LN' варьировала от 36,6 до 58,5%, среднее значение составляло $47,8 \pm 3,0\%$. В контрольном варианте '+LN' показатели посткриогенной регенерации сортов группы 1 варьировали от 26,7 до 39,3% со средним значением $34,7 \pm 1,5\%$. Таким образом, сорта этой группы характеризовались низким или средним уровнем регенерации в варианте '-LN', а в варианте '+LN' уровень регенерации снижался слабо.

Группа 2 включала девять сортов: 'Алая россыпь', 'Антарес', 'Дочь Вислухи', 'Зоренька Алтай', 'Иллюзия', 'Муза', 'Прелесть', 'Суламифь', 'Кокинская', у которых уровень регенерации в варианте '-LN' был относительно высоким, варьирование от 63,8 до 92,5% со средним значением $81,1 \pm 3,2\%$, и в варианте '+LN' уровень регенерации снижался сильно, варьирование от 26,7 до 52,5%, среднее значение $41,1 \pm 3,1$.

Группа 3 включала восемь сортов: 'Phoenix', 'Арочная', 'Атлант', 'Белая Спирина', 'Кассиопея', 'Прогресс', 'Рубиновая', 'Щербатовка' (см. рис. 4), у которых уровень регенерации в варианте '+LN' снижался средне. В варианте '-LN' уровень регенерации сортов этой группы варьировал от 71,1 до 83,3%, средний уровень составлял $81,1 \pm 2,4\%$; в варианте '+LN' уровень посткриогенной регенерации варьировал от 46,7 до 70,1%, среднее значение составляло $58,4 \pm 2,6\%$.

Группа 4 включала два сорта: 'Барнаульская' и 'Метеор' с высоким уровнем регенерации в варианте '-LN'. В варианте '+LN' уровень посткриогенной регенерации у этих сортов снижался слабо. Так, в контрольном варианте '-LN' частота регенерации у сортов группы 4 варьировала от 92,6 до 100%, средний уровень – $96,3 \pm 3,7$. В варианте '+LN' частота посткриогенной регенерации снижалась незначительно: у сорта 'Барнаульская' до 81,1%, а у сорта 'Метеор' до 89,3%. Средний уровень регенерации апексов после воздействия жидкого азота составлял $85,2 \pm 4,1\%$.

Сорт малины 'Скромница' (номер 5, см. рис. 4) выделялся высоким уровнем регенерации в варианте '-LN' (96,7%), но при помещении в жидкий азот (в варианте '+LN') уровень регенерации у этого сорта снижался очень сильно до $24,2 \pm 5,6\%$.

Заключение

В культуру *in vitro* было введено 11 образцов российских сортов малины, которые в результате проведенной работы включены в *in vitro* коллекцию ВИР. После микро-размножения апексы микропобегов этих сортов были использованы для криоконсервации. В настоящее время состав криоколлекции сортов малины, сохраняемой в криобанке ВИР, включает 27 образцов, уровень посткриогенной регенерации которых в варианте '+LN' варьи-

рует от 24 до 89%. Результаты анализа главных компонент позволили разделить 27 сортов малины на группы по их реакции на кратковременное погружение в жидкий азот. Все 27 образцов заложены на долгосрочное хранение в криобанк ВИР из расчета как минимум 90 эксплантов на образец, размещенных в девяти криопробирках.

References/Литература

- Chang Y., Reed B.M. Extended cold acclimation and recovery medium alteration improve regrowth of *Rubus* shoot tips following cryopreservation. *CryoLetters*. 1999;20:371-376.
- Condello E., Růžic D., Panis B., Caboni E. Raspberry cryopreservation by droplet vitrification technique. *Acta Horticulture*. 2011;918:965-969. DOI: 10.17660/Acta Hort.2011.918.127
- Dunaeva S.E., Krasovskaya L.S., Gavrilenko T.A. *Ex situ* conservation of biological resources of the genus *Rubus* (Rosaceae). *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2022;183(1):236-253. [in Russian] (Дунаева С.Е., Красовская Л.С., Гавриленко Т.А. Сохранение генетических ресурсов рода *Rubus* (Rosaceae) *ex situ*. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2022;183(1):236-253). DOI: 10.30901/2227-8834-2022-1-236-253
- Dunaeva S.E., Osledkin Yu.S. Bacterial microorganisms associated with the plant tissues culture: identification and possible role. *Agricultural biology*. 2015;50(1):3-15. [in Russian] (Дунаева С.Е., Оследкин Ю.С. Бактериальные микроорганизмы, ассоциированные с тканями растений в культуре *in vitro*: идентификация и возможная роль. *Сельскохозяйственная биология*. 2015;50(1):3-15).
- Dunaeva S.E., Pendinen G.I., Antonova O.Y., Shvachko N.A., Ukhatoeva Yu.V., Shuvalova L.E., Volkova N.N., Gavrilenko T.A. Preservation of vegetatively propagated crops in *in vitro* and cryo-collections: methodological guidelines. (Sokhraneniye vegetativno razmnozhayemykh kul'tur v *in vitro* i krio kollekttsiyakh: metodicheskiye ukazaniya). T.A. Gavrilenko (ed.). 2nd ed. St. Petersburg: VIR; 2017. [in Russian] (Дунаева С.Е., Пендинен Г.И., Антонова О.Ю., Швачко Н.А., Ухатова Ю.В., Шувалова Л.Е., Волкова Н.Н., Гавриленко Т.А. Сохранение вегетативно размножаемых культур в *in vitro* и крио коллекциях: методические указания / под ред. Т.А. Гавриленко. 2-е изд. Санкт-Петербург: ВИР; 2017).
- Dussert S., Engelmann F., Noiroit M. Development of probabilistic tools to assist in the establishment and management of cryopreserved plant germplasm collections. *CryoLetters*. 2003;24(3):149-160.
- Edesi J., Tolonen J., Ruotsalainen A.L., Aspi J., Häggman H. Cryopreservation enables long-term conservation of critically endangered species *Rubus humulifolius*. *Biodiversity and Conservation*. 2020;29(1):303-314. DOI: 10.1007/s10531-019-01883-9
- Eremeeva N.B., Makarova N.V., Zhidkova E.M., Maximova V.P., Lesova E.A. Ultrasonic and microwave activation of raspberry extract: antioxidant and anti-carcinogenic properties. *Foods and Raw Materials*. 2019;7(2):264-273. DOI: 10.21603/2308-4057-2019-2-264-273
- Evdokimenko S.N., Podgaetsky M.A. State of raspberry assortment in Russia and problems of its improvement. *Pomiculture and small fruits culture in Russia*. 2019;59:294-300. [in Russian] (Евдокименко С.Н., Подгаецкий М.А. Состояние сортимента малины в России и проблемы его улучшения. *Плодоводство и ягодоводство России*. 2019;59:294-300). DOI: 10.31676/2073-4948-2019-59-294-300
- Gavrilenko T.A., Shvachko N.A., Volkova N.N., Ukhatoeva Yu.V. A modified droplet vitrification method for cryopreservation of shoot tips from *in vitro* potato plants. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2019;23(4):422-429. [in Russian] (Гавриленко Т.А., Швачко Н.А., Волкова Н.Н., Ухатова Ю.В. Модифицированный метод капель-витрификации для криоконсервации апексов *in vitro* растений картофеля. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2019;23(4):422-429). DOI: 10.18699/VJ19.505

- Engelmann F., Takagi H. (eds) Cryopreservation of tropical plant germplasm. Current research progress and applications. IPGRI; 2000.
- FAOSTAT. The Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2023. Available from: https://www.fao.org/faostat/en/#rankings/countries_by_commodity [accessed Nov. 15, 2025]
- Jenderek M.M., Ambruzs B.D., Yeater K.M., Reed B.M. Evaluating shoot-tip regrowth of 25 *Rubus* L. species and hybrids after 15 to 20 years of cryopreserved storage. *Cryobiology*. 2025;118:105159. DOI: 10.1016/j.cryobiol.2024.105159
- Jenderek M.M., Reed B.M. Cryopreserved storage of clonal germplasm in the USDA National Plant Germplasm System. *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*. 2017;53(4):299-308. DOI: 10.1007/s11627-017-9828-3
- Kamnev A.M., Dunaeva S.E., Volkova N.N., Lisitsyna O.V., Gavrilenko T.A. Cryopreservation of raspberry cultivar accessions bred in Russia from the VIR *in vitro* collection. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2022;5(1):17-27. [in Russian] (Камнев А.М., Дунаева С.Е., Волкова Н.Н., Лисицына О.В., Гавриленко Т.А. Криоконсервация образцов сортов малины отечественной селекции из *in vitro* коллекции ВИР. *Биотехнология и селекция растений*. 2022;5(1):17-27). DOI: 10.30901/2658-6266-2022-1-02
- Kovalchuk I., Turdiev T., Kushnarenko S., Rakhimbaev I., Reed B.M. Cryopreservation of raspberry cultivars: testing techniques for long-term storage of Kazakhstan's plant germplasm. *The Asian and Australasian Journal of Plant Science and Biotechnology*. 2010;4(1):1-4.
- Ma X.Y., Blystad D., Wang Q.C., Tong L., Stensbøl Ø., Zhang D., Hamborg Z. Establishment of an efficient and wide-spectrum droplet-vitrification cryopreservation for raspberry (*Rubus idaeus* L.) germplasm and assessments of genetic integrity and vegetative growth in the regenerants. *Plant Cell Tissue Organ Culture*. 2024;159(3):58. DOI: 10.1007/s11240-024-02919-x
- Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 1962;15:473-497. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x
- Nukari A., Uosukainen M., Laamanen J., Rantala S. Cryopreservation of horticultural plants at MTT. In: A. Grapin, E.R.J. Keller, P.T. Lynch, B. Panis, A. Revilla Bahillo, F. Engelmann (eds). *Cryopreservation of crop species in Europe : COST Action 871 : CryoPlanet : Proceeding of the final meeting; 2011 February 08-11; Angers, France*. Brussels: COST; 2011. p.93-97.
- Nukari A., Uosukainen M., Rokka V.M., Antonius K., Wang Q., Valkonen J.P.T., Cryopreservation techniques and their application in vegetatively propagated crop plants in Finland. *Agricultural and Food Science*. 2009;18:117-128. DOI: journal.fi/afs/article/view/5941/53139
- Panis B., Piette B., Swennen R. Droplet vitrification of apical meristems: a cryopreservation protocol applicable to all *Musaceae*. *Plant Science*. 2005;168:45-55. DOI: 10.1016/j.plantsci.2004.07.022
- Reed B.M. Cold acclimation as a method to improve survival of cryopreserved *Rubus* meristems. *CryoLetters*. 1988;9:166-171.
- Reed B.M. Implementing cryogenic storage of clonally propagated plants. *CryoLetters*. 2001;22:97-104.
- Reed B.M. Cryopreservation of temperate berry crops. In: B.M. Reed (ed.). *Plant cryopreservation: A practical guide*. New York: Springer; 2008. p.333-364.
- Reed B.M., Hummer K.E., Gupta S., Chang Y., Medium and long-term storage of *Rubus* germplasm. *Acta Horticulture*. 2008;777:91-97.
- Reed B.M., Lagerstedt H.B. Freeze preservation of apical meristems of *Rubus* in liquid nitrogen. *HortScience*. 1987;22:302-303.
- Reed B.M., Sarasan V., Kane M., Bunn E., Pence V.C. Biodiversity conservation and conservation biotechnology tools. *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*. 2011;47:1-4. DOI: 10.1007/s11627-010-9337-0
- Sakai A., Kobayashi S., Oiyama I. Cryopreservation of nucellar cells of navel orange (*Citrus sinensis* Osb. var. *brasiliensis* Tanaka) by vitrification. *Plant Cell Reports*. 1990;9(1):30-33. DOI: 10.1007/bf00232130
- State Register of varieties and hybrids of agricultural plants admitted for usage (National List): official publication. Moscow: Rosinformagrotech; 2024. [in Russian] (Государственный реестр сортов и гибридов сельскохозяйственных растений, допущенных к использованию: официальное издание. Москва: Росинформагротех; 2024). URL: <https://gossortrf.ru/upload/iblock/00a/clri6obhduexq6t1f6awcrsp6vm6psk.pdf> [дата обращения: 15.12.2025].
- Tuohimetsä S., Nukari A. Modified droplet-vitrification cryopreservation of arctic bramble (*Rubus arcticus*) and hybrid arctic bramble. *Acta Horticulture*. 2019;1234:225-232. DOI: 10.17660/ActaHortic.2019.1234.30
- Turdiyev T., Kovalchuk I., Mukhitdinova Z., Hunger O., Frolov S., Kabyzbekova B. Micropropagation of berry crops for creation of germplasm cryobanks. *Brazilian Journal of Biology*. 2024;84:e266975. DOI: 10.1590/1519-6984.266975
- Ukhatova Y.V., Dunaeva S.E., Antonova O.Y., Apalikova O.V., Pozdniakova K.S., Novikova L.Y., Shuvalova L.E., Gavrilenko T.A. Cryopreservation of red raspberry cultivars from the VIR *in vitro* collection using a modified droplet vitrification method. *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*. 2017;53:394-401. DOI: 10.1007/s11627-017-9860-3
- Viss P.R., Brooks E.M., Driver J.A. A simplified method for the control of bacterial contamination in shoot cultures of woody plants. *Plant Science Letters*. 1984;34:203-209.
- Volk G.M., Henk A.D., Jenderek M.M., Richards C.M. Probabilistic viability calculations for cryopreserving vegetatively propagated collections in genebanks. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 2017;64(7):1613-1622. DOI: 10.1007/s10722-016-0460-6
- Vujović T., Ružić D., Cerović R. Effect of the duration of liquid nitrogen storage on the regrowth of blackberry cryopreserved by droplet vitrification. *Contemporary Agriculture*. 2017;66:44-50. DOI: 10.1515/contagri-2017-0008
- Vujović T., Sylvestre I., Ružić D., Engelmann F. Droplet-vitrification of apical shoot tips of *Rubus fruticosus* L. and *Prunus cerasifera* Ehrh. *Scientia Horticulturae*. 2011;130(1):222-228. DOI: 10.1016/j.scienta.2011.06.049
- Vysotskaya O.N., Mochammed A.I., Butenko R.G. Cryopreservation of red raspberry meristems (*Rubus idaeus* L.) isolated from *in vitro* plantlets. *Biology Bulletin*. 1999;26(1):19-22.
- Yuurieva N., Sinetova M., Messineva E., Kulichenko I., Fomenkov F., Vysotskaya O., Osipova E., Baikalova A., Prudnikova O., Titova M., Nosov A.V., Popova E. Plants, cells, algae, and cyanobacteria *in vitro* and cryobank collections at the Institute of Plant Physiology, Russian Academy of Sciences – a platform for research and production center. *Biology*. 2023;12:838. DOI: 10.3390/biology12060838

Информация об авторах

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

Леонид Леонидович Малышев, кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник, отдел генетических ресурсов овса, ржи, ячменя, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, l.malyshv@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8595-1336>

Ольга Владимировна Лисицына, ведущий специалист, отдел биотехнологии, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, olgalis86@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6632-3465>

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

Information about the authors

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

Leonid L. Malyshev, Cand. Sci. (Agriculture), Leading Researcher, Department of Oat, Rye, Barley Genetic Resources, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, l.malyshev@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8595-1336>

Olga V. Lisitsyna, Leading Specialist, Biotechnology Department, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, olgalis86@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6632-3465>

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

Вклад авторов:

Дунаева С.Е.: курирование данных, написание статьи;

Мальшев Л.Л.: статистический анализ данных;

Лисицына О.В.: микроразмножение и криоконсервация образцов, закладка в криобанк;

Гавриленко Т.А.: планирование, написание статьи, рецензирование и редактирование.

Contribution of the authors:

Dunaeva S.E.: data curation, article writing;

Malyshev L.L.: statistical data analysis;

Lisitsyna O.V.: micropropagation and cryopreservation of accessions, cryobanking;

Gavrilenko T.A.: planning, article writing, reviewing and editing.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Статья поступила в редакцию 29.09.2025; одобрена после рецензирования 16.01.2026; принята к публикации 16.02.2026.

The article was submitted on 29.09.2025; approved after reviewing on 16.01.2026; accepted for publication on 16.02.2026.