Probl Cryobiol Cryomed 2018; 28(2):156
https://doi.org/10.15407/cryo28.02.156

Збереженість меристем батату за різних режимів кріоконсервування

Н.О. Шевченко[1], Т.В. Івченко[2], Г.В. Мозговська[2], Т.М. Мірошниченко[2], Н.О. Баштан[2]
[1]Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків
[2]Інститут овочівництва і баштанництва НААН України, сел. Селекційне, Харківська область

Survival of Sweet Potato Meristems Under Different Cryopreservation Regimens

N.O. Shevchenko[1], T.V. Ivchenko[2], A.V. Mozgovska[2], T.M. Miroshnychenko[2], N.O. Bashtan[2]
[1]Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine
[2]Institute of Vegetable and Melon Growing of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Selektsiine village, Kharkiv region, Ukraine

Інтродукція овочевих культур із високим вмістом біологічно активних сполук залишається актуальною задачею сільського господарства. Однією з овочевих рослин, яка успішно культивується на території Європи, є батат (*Ipomoea batatas*). Його кореневі бульби містять високий вміст цукрів, які визначають смак батату, а також білки, вітаміни групи В, аскорбінову кислоту, каротиноїди, макро- і мікроелементи [A.E.Z. Triqui, 2008]. Ефективними методами збереження рослинного різноманіття та створення генетичних колекцій рослин є культивування *in vitro* та кріоконсервування. Однак для визначення можливості довготривалого збереження меристематичних тканин батату необхідно розробити спосіб кріоконсервування, який забезпечив би високий рівень життєздатності рослинного матеріалу.

Мета дослідження – порівняння різних режимів кріоконсервування меристем батату.

Об'єктом дослідження були апікальні та латеральні меристеми, виділені з рослин-регенерантів батату сорту Bonita, які культивували *in vitro*. У стерильних умовах дисцизійною голкою відокремлювали меристеми розміром до 1 мм із 1–2 примордіями, які розміщували по 5 штук у скляні флакони на агаризоване живильне середовище з додаванням 0,1 мг/л бензиламінопурину, 0,5 мг/л нафтилоцтової кислоти та 2,0 мг/л гіберелової кислоти. Перед кріоконсервуванням експлантати оброблювали розчинами кріопротекторів протягом 60 хв за температури 22ºС, після чого поміщали у кріопробірки об'ємом 1,8 мл. Кріоконсервування меристем, насичених 1,5 М ДМСО, проводили зі швидкістю 1 град/хв до –30°С із наступним зануренням у рідкий азот; розчинами для вітрифікації (1 М сахарози + 2 М гліцерину + 2,5 М етиленгліколю (PVS)) та (44% гліцерину + 44% сахарози (PVS3) прямим зануренням у рідкий азот. Об'єкти відігрівали шляхом занурення кріопробірок у водяну баню з температурою 40°С. Збереженість визначали за кількістю меристем, які протягом 14 діб мали зелене забарвлення.

Спостереження за деконсервованими меристемами показало, що найбільшу кількість збережених зразків було одержано після застосування PVSN – 75%. Використання 1,5 М ДМСО дозволило отримати 65% збережених меристем. Найменша збереженість визначалася для зразків, оброблених PVS3 (40%), що може пояснюватися токсичним впливом даного розчину на меристеми.

Для створення колекції сортів батату в низькотемпературному банку доцільним є використання методу вітрифікації із застосуванням PVSN, що обумовлено високим рівнем збереженості деконсервованих зразків та простою виконання.

The introduction of vegetable crops with a high content of biologically active compounds into agriculture has still remained an actual task. The sweet potato (*Ipomoea batatas*) is one of the vegetables successfully cultivated in Europe. Its root tubers are rich in sugars, which determine its taste, as well as the proteins, B vitamins, ascorbic acid, carotenoids, macro- and microelements [A.E.Z. Triqui, 2008]. The *in vitro* culture and cryopreservation are the efficient methods for preserving plant diversity and establishing plant genetic collections. However, in order to determine the possibility for a long-term preservation of sweet potato meristem tissues it is necessary to design the cryopreservation technique, which could provide a high viability level for plant material.

This research was aimed to compare different regimens for cryopreservation of sweet potato meristems.

The apical and lateral meristems, isolated from *in vitro* cultured plant-regenerants of Bonita variety sweet potato were the research objects. The meristems of up to 1 mm size with 1–2 primordias were separated with a discission needle under sterile conditions, then placed by 5 pieces into glass vials with agarized nutrient medium, supplemented with 0.1 mg/l benzylaminopurine, 0.5 mg/l naphthylacetic acid and 2.0 mg/l gibberellic acid. Prior to cryopreservation the explants were treated with cryoprotectant solutions for 60 min at 22°C, and then placed in 1.8 ml cryovials. The meristems, saturated with 1.5 M dimethyl sulfoxide were cryopreserved with 1 deg/min cooling rate down to –30°C, followed by immersion into liquid nitrogen; the ones treated with the solutions for vitrification (1 M sucrose + 2 M glycerol + 2.5 M ethylene glycol (PVSN) and (44% glycerol + 44% sucrose (PVS3)) were directly immersed into liquid nitrogen. The objects were thawed by immersing cryovials into a 40°C water bath. The survival was determined by a number of meristems, which remained green within 14 days.

The observation of thawed meristem showed that the highest number of survived specimens was obtained after PVSN application, *i. e.* 75%. The use of 1.5 M dimethyl sulfoxide allowed obtaining about 65% of the survived meristems. The lowest survival (40%) was found in the PVS3-processed samples, which might be explained by a toxic effect of this solution on meristems.

Thus, in order to establish the collections of sweet potato varieties at a low temperature bank, it is expedient to apply the vitrification with PVSN due to a high survival rate of frozen-thawed samples and its simplicity.