

Збереженість меристем батату *Ipomoea batatas* L. після кріоконсервування методом вітрифікації

Г.В. Мозговська¹, Н.О. Шевченко², Т.М. Мірошніченко¹,
Т.В. Івченко¹, Н.О. Баштан¹, Т.І. Віценя¹

¹Інститут овочівництва і баштанництва НААН України, сел. Селекційне, Харківська область

²Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків

Survival of Sweet Potatoes (*Ipomoea batatas* L.) Meristems After Cryopreservation by Vitrification

A.V. Mozgovska¹, N.O. Shevchenko², T.M. Miroshnychenko¹,
T.V. Ivchenko¹, N.O. Bashtan¹, T.I. Vytsenya¹

¹Institute of Vegetable and Melon Growing of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine,
Selektsiine village, Kharkiv region, Ukraine

²Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv

Методи, які базуються на вітрифікації, передбачають занурення біологічного матеріалу безпосередньо у рідкий азот або його шугу, що не потребує коштовного обладнання. Для забезпечення переходу внутрішньоклітинного вмісту у скловидний стан без утворення кристалів необхідно ретельно дотримуватися умов обробки меристем. У нашому дослідженні це досягалося двома способами: за допомогою розчинів, які вітрифікуються, та дегідратації потоком стерильного повітря.

Мета роботи – дослідження впливу кріоконсервування методом вітрифікації на збереженість меристем батату.

Апікальні та латеральні меристеми виділяли з трижневих пагонів регенерантів багату сорту Bonita, які культивували *in vitro* на агаризованому середовищі MS. Експланти переносили на рідке середовище MS із додаванням 0,3М сахарози і витримували у темряві протягом доби. Меристеми були поділені на експериментальні групи: 1 – 120-хвилинна дегідратація потоком стерильного повітря з наступним зануренням у рідкий азот на кінчику голки, відігрів у середовищі MS; 2 – 20-хвилинна витримка у розчині 2М гліцерину з 0,4М сахарозою, потім у PVS2 (30% гліцерину, 15% EG, 15% ДМСО та 0,4М сахарози) протягом 60 хв; 3 – витримка у розчині 2М гліцерину з 0,4М сахарозою протягом 20 хв, потім у модифікованому PVS1 (22% гліцерин; 13% 1,2-ПД; 13% EG, 6% ДМСО та 0,4М сахарози) протягом 60 хв. Меристеми груп 2 та 3 кріоконсервували у металевих контейнерах для мікрокалориметра прямим зануренням у рідкий азот. Зразки відігрівали у середовищі MS із додаванням 12% сахарози. Деконсервовані експланти усіх груп переносили на агаризоване середовище MS із додаванням 3% сахарози, 3 мг/л гіберелінової кислоти та 0,01 мг/л індолилцптової кислоти. Збереженість зразків визначали за кількістю меристем, які протягом 14 діб мали зелене забарвлення.

Показано, що найбільшу кількість збережених зразків було одержано у групах 1 та 3 (84%). У групі 2 цей показник був дещо менший – 77%. Незважаючи на те, що значущої різниці між експериментальними групами не встановлено, інтерес викликає спосіб кріоконсервування меристем, дегідратованих потоком стерильного повітря, оскільки він не потребує застосування кріопротекторів.

Можна зробити висновок, що для розробки ефективних способів кріоконсервування меристем батату слід застосовувати дегідратацію зразків перед зануренням у рідкий азот потоком стерильного повітря або модифікованим PVS1.

The vitrification-based methods foresee the immersion of biological material directly into liquid nitrogen or its slush, where no expensive equipment is required. In order to ensure the intracellular content transition into vitreous state with no crystal formation, the conditions for meristem processing should be thoroughly observed. Here, we managed to achieve it using two ways, *i. e.* the vitrifying solutions and dehydration with sterile air flow.

The research aim was to investigate the impact of cryopreservation by vitrification on the sweet potatoes meristem survival.

The apical and lateral meristems were isolated from three-week shoots of plants-regenerants of sweet potato varieties Bonita, which were cultured *in vitro* on nutritive agar MS medium. The specimens were transferred into a liquid MS medium, supplemented with 0.3 M sucrose and exposed at dark for 1 day. The meristems were divided into the following experimental groups: the group 1 comprised a 120-min dehydration with sterile air flow, followed by immersion into liquid nitrogen at the needle tip, then warming in MS medium; the group 2 was a 20-min exposure in 2 M glycerol solution with 0.4 M sucrose, then in PVS 2 (30% glycerol; 15% EG; 15% DMSO and 0.4 M sucrose) for 60 min; the group 3 was a 20-min exposure in 2 M glycerol solution with 0.4 M sucrose, then in modified PVS1 solution (22% glycerol; 13% 1,2-PD; 13% EG; 6% DMSO and 0.4M sucrose for 60 min. The meristems of groups 2 and 3 were cryopreserved in metal containers for microcalorimeter via direct immersion into liquid nitrogen. The specimens were warmed in MS medium, supplemented with 12% sucrose. The post-cryo explants of all the groups were transferred into the agar MS medium, supplemented with 3% sucrose, 3 mg/l gibberellic acid and 0.01 mg/l indoleacetic acid. The survival was determined by the number of meristems, which had a green color for 14 days.

The highest number of preserved specimens was demonstrated as obtained in the groups 1 and 3 (84%). In the group 2, this index was slightly lower, *i. e.* 77%. Despite no significant difference revealed between the experimental groups, of a special interest is the cryopreservation method of meristems, dehydrated with the sterile air flow, since no cryoprotectant use is needed.

We may conclude here, that in order to design the efficient ways for sweet potato meristem cryopreservation, one should apply the specimen dehydration via the sterile air flow or with modified PVS1 prior to immersion into liquid nitrogen.