

Криосохранение гермоплазмы малины в Казахстане

И.Ю. КОВАЛЬЧУК, Т.Т. ТУРДИЕВ

Институт биологии и биотехнологии растений, г. Алматы, Казахстан

Cryopreservation of Raspberry Hermoplasma at Kazakhstan

I.YU. KOVALCHUK, T.T. TURDIEV

Institute of Biology and Biotechnology of Plants, Almaty, Kazakhstan

Малина является одной из самых витаминосодержащих ягодных культур. В Казахстане гермоплазма малины сохраняется, главным образом, в полевых условиях. Однако при содержании полевых генных банков возникают серьезные проблемы: природные бедствия, вредители и болезни, а также высокая стоимость поддержания коллекций в поле. Криосохранение в жидком азоте – возможность сохранять гермоплазму в течение длительного времени на минимальном пространстве с минимальными затратами. В настоящее время для криосохранения апексов *in vitro* малины наиболее подходящими являются методы витрификации и инкапсуляции-дегидратации. Для этих методов оптимизировали протоколы криоконсервирования. Изучали влияние продолжительности холодовой акклиматизации, действие криопротекторов и состава восстановительных питательных сред на жизнеспособность меристем после криосохранения.

Установлено, что оптимальной является 3-недельная акклиматизация переменной температурой при -1°C 16 ч, затем при 22°C – 8 ч. Для метода витрификации эффективна выдержка меристем 1–2 суток на среде для прекультивирования с 0,3 М сахарозой, содержанием агара 3,5 г/л и джелрайта 1,75 г/л. Обработка меристем криопротектором PVS2 в жидкой среде MC с 0,4 М сахарозой осуществляется в течение 20 мин в холодильнике, размораживание – в контейнере с водой при 25°C 1 мин с последующей посадкой на восстановительную среду.

Для метода инкапсуляции-дегидратации эффективно поместить меристемы в альгинатные шарики (инкапсуляция меристем 3%-м альгинатом в жидкой среде MC со 100 мМ хлоридом кальция). Постоянное перемешивание меристем в альгинатных шариках в среде MC с 0,75 М сахарозой производится автоматическим шейкером в течение 18 ч. Подсушивание альгинатных шариков с меристемой длится 4 ч, гидратация в 1,2 М сахарозе – 5 мин. Размораживание осуществляется в контейнере с водой при 25°C в течение 1 мин с последующей посадкой на восстановительную среду.

Проведено сравнение эффективности методов витрификации и инкапсуляции-дегидратации для криоконсервирования апикальных меристем малины. Для одних сортов эффективен метод витрификации, который обеспечивает высокий уровень жизнеспособности меристем малины, так регенерация побегов из меристем после замораживания и оттаивания сорта Анар и гибрида 12/4 составляла 75 и 86,7% соответственно. Для других сортов эффективнее метод инкапсуляции-дегидратации. В зависимости от сорта сохраняют жизнеспособность и регенерируют побеги после замораживания в жидком азоте от 32,4 до 100% меристем.

Raspberry is one of the most vitamin-containing small-fruit crops. Hermoplasma of raspberry is mainly preserved in field conditions in Kazakhstan. However, under maintaining the field genetic banks the serious problems result from nature distresses, pests and diseases, as well as from high cost of keeping up the collections in field. The cryopreservation in liquid nitrogen is the capacity to preserve hermoplasma during long time on minimal area with minimal costs. Now the most suitable are the vitrification and encapsulation-dehydration methods for *in vitro* cryopreservation of raspberry apexes. The cryopreservation protocols of these methods were optimized. The effect of cold acclimatization term, activity of cryoprotectants and composition of reducing nutrient media on viability of meristems after cryopreservation were studied.

It has been established that the optimal is 3 weeks' acclimatization with variable temperature at -1°C for 16 hrs, then at 22°C for 8 hrs. For the vitrification method the maintaining of meristems for 1–2 days on medium for preculturing with 0.3 M sucrose, 3.5 g/l agar content and 1.75g/l gelrite is effective. The meristems with PVS2 cryoprotectant in MC liquid medium with 0.4 M sucrose for 20 min in freezing chamber were treated and thawing was done in container with water at 25°C for 1 min with following placing in recover medium. For the encapsulation-dehydration it is effectively to place the meristems in alginate beads (encapsulation of meristems with 3% alginate in MC liquid medium with 100mM calcium chloride). The regular mixing of meristems in alginate beads in MC medium with 0.75 M sucrose by automated shaker for 18 hrs. Drying of alginate beads with meristem for 4 hrs. Hydration in 1.2 M sucrose for 5 min. Thawing in container with water at 25°C for 1 min with following placing into recovery medium.

The comparison of efficiency of vitrification and encapsulation-dehydration methods for cryopreservation of apical meristems of raspberry has been carried out. For some varieties the vitrification method is effective, providing high level of viability of raspberry meristems, herewith regeneration of scions from meristems after freezing and thawing of Anar variety and 12/4 hybrid consists 75 and 86.7%, accordingly. For other varieties the encapsulation-dehydration method is more effective. Depending on the variety of the scions preserve viability and regenerate after freezing in liquid nitrogen from 32.4 up to 100% of meristems.