

УДК 635.076:57.043

ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ ВИДОМ И СОРТОМ ЯГОДНЫХ КУЛЬТУР И РЕЗУЛЬТАТАМИ КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЯ ЧЕРЕНКОВ

Л. В. Горбунов¹
И. В. Петров²

¹Институт животноводства НААН, Харьков
²НИИ биологии Харьковского национального университета
им. В. Н. Каразина

E-mail: ilya_cryo@mail.ru

Получено 17.04.2012

Определены оптимальные параметры криоконсервирования черенков ягодных культур: черной смородины (сорта: Дачница, Ювильей, Софиевская, Китайская); красной смородины (Китаевская, Джокер, Святкова), крыжовника (Красень, Малахит, Колобок), малины (Новость Кузмина, Струйка, Скромница), что позволило увеличить жизнеспособность деконсервированных образцов в 2–5 раз по сравнению с существующими способами криоконсервирования. Получены максимальные показатели жизнеспособности черенков исследуемых сортов в результате их температурной адаптации (при $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$) в течение 14–60 сут, ступенчатого охлаждения образцов со скоростью $0,1\text{--}0,5\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{ч}$ до $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ (выдержка 3–7 сут), последующего прямого погружения в жидкий азот, хранения в течение 1–30 сут, отогрева со скоростью $70\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{мин}$. Установлено, что в области допустимых значений параметров, обеспечивающих максимальную жизнеспособность исследуемых черенков березы (контроль) влажность соответствует $32\div 40\%$, для черной смородины — $40\div 50\%$, для малины — $37\div 40\%$ в положительном диапазоне температур и $14\div 28\%$, $30\div 40\%$, $20\div 23\%$ — в отрицательном.

При помощи дисперсионного анализа показано, что вероятность развития деконсервированных черенков растений в значительной степени зависит от сорта и способа криоконсервирования. Отмечено, что сила влияния η^2_{A} , обусловленная индивидуальными свойствами исследуемых сортов ягодных культур, сопоставима с силой влияния η^2_{B} процедуры криоконсервирования.

Показаны отличия средних показателей жизнеспособности исследуемых сортов в пределах одного вида. Установлено, что эти показатели отличались: для черной смородины на 92%, красной — 54%, крыжовника — 48%, малины — 70%. Применение парного критерия Стьюдента позволило в среднем уменьшить в 3 раза ошибку репрезентативности выборки, что дало возможность повысить надежность результатов достоверности различия сравниваемых значений до уровня $P \geq 0,99$.

Выбор сорта черенков, а также способа криоконсервирования существенно влияет на воспроизводимость результатов эксперимента. Анализ воспроизводимости показателей жизнеспособности исследуемых черенков, проведенный при помощи коэффициента вариации C_v , показал, что в процессе криоконсервирования эта величина изменяется: для сортов черной смородины — от 5 до 91%, красной — 9–137%, крыжовника — 22–74%, малины — 18–105%.

Ключевые слова: черенки черной и красной смородины, крыжовника, малины, жизнеспособность, криоконсервирование.

Одной из проблем современной биотехнологии является сохранение необходимых генотипов растительного материала [1]. Наиболее перспективный способ сохранения генетического разнообразия растительного мира — применение методов криоконсервирования. Однако высокие коэффициенты вариации жизнеспособности деконсервированных черенков являются основной причиной низкой воспроизводимости результатов криобиотехнологического эксперимента. Поэтому для получения достоверных результатов необходимо неоднократное

повторение опытов, для которых требуется большое количество биологического материала [2]. Для снижения количества опытов при проведении многофакторного исследования следует повысить воспроизводимость результатов эксперимента, которая, в свою очередь, зависит от индивидуальных особенностей биообъекта и эффективности выбранного способа криоконсервирования.

Повышение воспроизводимости результатов сохранности черенков растений связано с необходимостью исследования их свойств, обусловленных видом и сортом.

Поэтому для сохранения генофонда растительных клеток нужно изучить воспроизводимость результатов криоконсервирования черенков различных сортов и определить оптимальные значения варьируемых параметров, обеспечивающие максимальную сохранность деконсервированных образцов.

Цель работы — исследовать влияние вида (черная и красная смородина, крыжовник, малина) и сорта ягодных культур на жизнеспособность их черенков после криоконсервирования.

Объектом исследования были черенки: черной смородины (*Ribes nigrum* L.) — сорта: Дачница, Ювелей, Софиевская, Китайская; красной смородины (*Ribes rubrum*) — Китаевская, Джокер, Святкова; крыжовника (*Ribes uva-crispa*) — Красень, Малахит, Колобок; малины (*Rubus idaeus* L.) — Новость Кузмина, Струйка, Скромница.

Черенки нарезали из однолетних побегов и делили на отдельные образцы (по 10 штук в каждом), длиной 5–12 см, диаметром 0,5–1,2 см. Черенки имели 2–5 вегетативных почек. Перед проведением исследования определяли начальную влажность и жизнеспособность образцов. Для исследования отбирали образцы с жизнеспособностью 100%.

Жизнеспособность черенков контролировали после каждого этапа высушивания и охлаждения. Для гидратации черенки помещали в эксикатор, размещая их над дистиллированной водой, и выдерживали 14 дней при температуре 5 °С, а затем культивировали в условиях *in vitro* в воде при 20 °С и *in vivo* (укоренение черенков в грунте). Набухание и развитие почек указывало на жизнеспособность исследуемых образцов. Процент жизнеспособности оценивали как отношение количества черенков с распустившимися почками в условиях *in vitro* или *in vivo* к общему их количеству.

Степень влажности для нативных черенков понижали с 50 до 20%, при температуре -2 ± 2 °С и влажности воздуха $85 \pm 5\%$ [4]. Влажность образцов h (%) определяли взвешиванием и рассчитывали по формуле:

$$h = [(m_0 - m_k) / m_0] \cdot 100\%,$$

где m_0 — начальная масса нативного образца, г;

m_k — конечная масса образца после обезвоживания до постоянной массы, г.

Разные скорости замораживания-отогрева, необходимые для криоконсервирования черенков, получали с помощью следующих способов.

Для осуществления режима охлаждения № 1 до температуры -20 и -30 °С, использовали скорости 0,5–1 °С/ч.

Режим № 2 основан на ступенчатом охлаждении со скоростью 0,01–0,1 °С/ч до -30 °С с интервалом 5 °С и выдержкой 1, 3 и 7 сут соответственно. Образцы помещали в бытовые термосы емкостью 1,5 и 2 л и переносили в рефрижераторы. Образцы, охлажденные до температуры -20 и -30 °С, погружали в жидкий азот со скоростью 600–800 °С/мин.

Хранили образцы в рефрижераторах при температурах -5 , -20 и -30 °С, а также в жидком азоте с выдержкой от одних суток до одного года. Оттаивание образцов проводили посредством их выдерживания при температуре воздуха 20 °С, что давало возможность получить скорость оттаивания 70 °С/мин, или со скоростью 1–3 °С/мин, помещая бытовой термос с образцами в холодильник при температуре 5 °С.

Для определения оптимальных значений варьируемых параметров изменяли скорости: дегидратации в процессе сушки — от 0,1 до 1% /сут; охлаждения — от 0,01 до 1 °С/ч; отогрева — 0,1 °С/ч и 70 °С/мин. Выдержка при температурах 5, -5 , -10 , -20 и -30 °С составляла от одних суток до одного года. Оптимизацию технологических параметров для каждого сорта ягодных культур проводили поэтапно после температурной адаптации -10 °С; охлаждения до -30 °С и -196 °С.

Статистический анализ полученных результатов осуществляли по общепринятым формулам качественного и количественного анализа [2]. Средние величины вычисляли для показателя жизнеспособности биообъекта после криоконсервирования [5]. Воспроизводимость результатов криоконсервирования определяли при помощи коэффициента вариации C_v как отношение среднеквадратического отклонения σ к средней величине M ($C_v = \sigma/M$). Повышение воспроизводимости оценивали как отношение коэффициентов вариации для предлагаемого способа и общепринятого.

Сравнительный анализ методов статистической обработки результатов деконсервированного объекта осуществляли в контрольной и опытной группах. Парный критерий Стьюдента t_d применяли для оценки средней разности между выборками с парносопряженными параметрами, а непарный t_d — с несвязанными [2].

Для определения доли влияния дисперсии исследуемого параметра применяли

показатель, определяющий силу влияния исследуемого фактора η_i : $\eta_i = \sigma_i^2 / \sigma_y^2$, $\sigma_y^2 = \Sigma \sigma_i^2$, где: σ_i^2 — дисперсии биологического, технологического и их совместного действия (биотехнологические факторы); σ_y^2 — общая дисперсия [3].

Для реализации режима охлаждения № 1 предложено термостатирующее устройство (рис. 1), скорость охлаждения в котором регулировали, изменяя напряжение от 0 до 25 В и сопротивление нагревательного элемента 30 и 70 Ом. Устройство помещали в морозильный ларь.

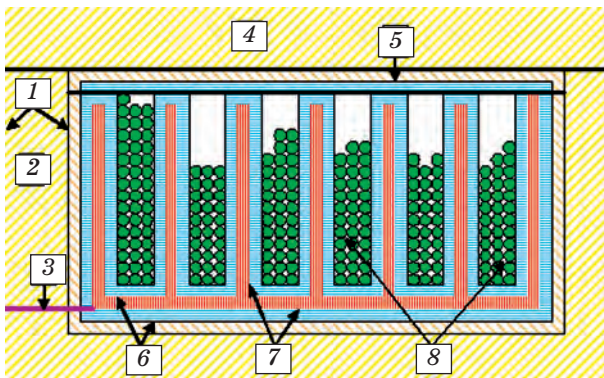


Рис. 1. Схема устройства, предназначенного для замораживания черенков плодово-ягодных культур:

- 1 — корпус устройства, изготовленный из пластика;
- 2 — пенопластовая термоизолирующая прослойка;
- 3 — электрический провод;
- 4 — внешняя крышка устройства;
- 5 — внутренняя крышка устройства;
- 6 — термостатирующий экран, изготовленный из нержавеющей стали толщиной 0,7 мм;
- 7 — вольфрамовая нить накала диаметром 1 мм в тефлоновой оболочке;
- 8 — черенки плодово-ягодных культур

Черенки черной смородины сохраняют 100% -ю жизнеспособность в результате применения различных режимов сушки, ступенчатого охлаждения со скоростью 0,1 °С/ч до -30 °С, погружения в жидкий азот, длительного хранения и последующего оттаивания со скоростью 70 °С/мин при условии, что уровень влажности образцов в диапазоне положительных температур превышает 37% (рис. 2, а), а в диапазоне отрицательных (-30...-196 °С) — 30%.

Для деконсервированных черенков малины максимальная жизнеспособность составила 88% при влажности образцов 23% (рис. 2, б). Влажность образцов при этом должна быть не ниже 20%. Превышение указанных значений влажности приводит к снижению жизнеспособности вследствие роста внутриклеточных кристаллов.

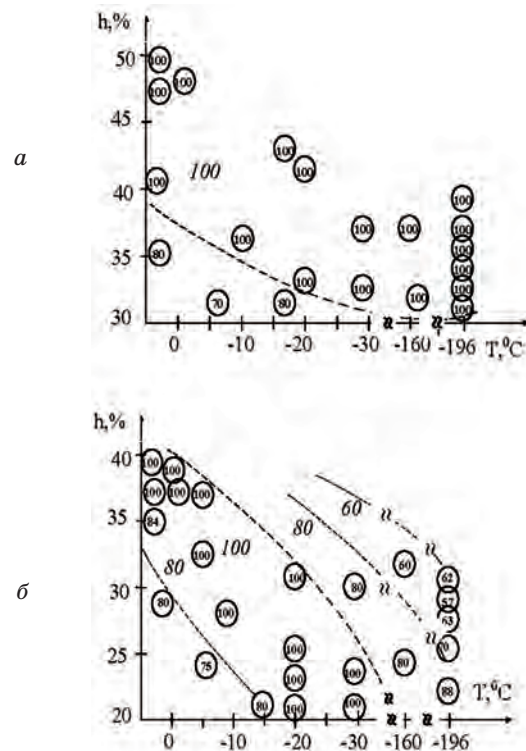


Рис. 2. Жизнеспособность черенков в зависимости от их влажности (h, %) и температуры (T, °С): скорость охлаждения 0,1 °С/ч, отогрева 70 °С/мин. Номер, очерченный кругом, отражает показатель жизнеспособности черенков (in vitro), пунктирной линией обозначен контур, ограничивающий одинаковые величины (а — черенки черной смородины Дачница, б — черенки малины Новость Кузмина)

В контроле для черенков березы показатели критической влажности составили 32 и 14%, соответственно. Ниже установленных значений жизнеспособность исследуемых образцов резко снижалась вследствие чрезмерного обезвоживания клеток (эффект плазмолиза) [6]. Показатель сохранности при этом остается на 100%-м уровне.

Таким образом, различные виды растений имеют разные области допустимых значений влажности и температуры охлаждения черенков. Определение оптимальных параметров криоконсервирования черенков черной смородины и малины дало возможность увеличить жизнеспособность деконсервированных образцов в 2–5 раз по сравнению с существующими способами криоконсервирования [6–11].

Максимальные показатели жизнеспособности образцов (рис. 3) исследуемых сортов получены в результате их температурной адаптации (при -10 °С) в течение 14–60 суток, ступенчатого охлаждения со скоростью 0,1–0,5 °С/ч до -30 °С (выдержка 3–7 суток),

последующего прямого погружения в жидкий азот, хранения в течение 1–30 суток, отогрева со скоростью 70 °С/мин.

Длительность выдержки исследуемых образцов при температуре –10 °С определяли по показателю влажности (рис. 4) в соответствии с величиной, установленной для каждого вида черенков [4].

Анализ проб, состоящих из 5 образцов, полученных на разных этапах криоконсервирования, проводили при помощи парного и непарного критерия Стьюдента.

В пределах одного вида средние показатели жизнеспособности для разных сортов отличались: для черной смородины — на 92%, красной — 54%, крыжовника — 48%,



Рис. 3. Культивирование черенков ягодных культур *in vitro*

Жизнеспособность черенков различных сортов ягодных культур на различных этапах криоконсервирования

Вид	Сорт	Жизнеспособность V (%) и изменение жизнеспособности ΔV (%) черенков после охлаждения до температуры					
		–10 °С		–30 °С		–196 °С	
		ΔV±m	V±m	ΔV±m	V±m	ΔV±m	V±m
Черная смородина	Дачница	2,0±2 ^a	98,0±2 ^a	4,0 ±2,4 ^a	94,0 ±4 ^a	2,0±2,0 ^a	92,0±5,8 ^a
	Ювильей	20,0±7,1 ^b	80,0±7,1 ^b	16,0±2,4 ^b	62,0±8,6 ^b	12,0±3,7 ^b	54,0±13,6 ^b
	Софиевка	6,0±4	94,0±4	34,0±10,8 ^b	60,0±14,1 ^b	54,0±12,1 ^c	6,0±2 ^c
	Китайская	14,0±4	86,0±4	74,0±2,4 ^c	12,0±3,7 ^c	12,0±3,7 ^d	0,0±0 ^d
Красная смородина	Китаевская	8,0±3,7 ^a	92,0±3,7 ^a	8,0±3,7 ^a	84,0±6,8 ^a	30,0±4,5 ^a	54,0±7,5 ^a
	Джокер	32,0±3,7 ^b	68,0±3,7 ^b	62,0±2,0 ^b	6,0±2,4 ^b	2,0±2,0 ^b	4,0±2,4 ^b
	Святкова	34,0±4,0	66,0±4,0	66,0±4,0	0,0±0 ^c	0,0±0	0,0±0
Крыжовник	Красень	16,0±8,1	84,0±8,1	14,0±2,4	70,0±7,1	20,0±8,9	30,0±9,1
	Малахит	18,0±8,0 ^a	82,0±8,0 ^a	14,0±2,4 ^a	68,0±7,3 ^a	20,0±8,9	48,0±15,9 ^a
	Колобок	60,0 ±3,2 ^b	40,0 ±3,2 ^b	32,0±2,0 ^b	6,0±2,4 ^b	8,0±3,7	0,0±0 ^b
Малина	Нов. Кузьмина	4,0±2,4	96,0±2,4	14,0±6,0	82,0±8,0	12,0±2,0 ^a	70,0±7,1 ^a
	Струйка	6,0±2,4 ^a	94,0±2,4 ^a	36,0±10,8 ^a	58,0±12,8 ^a	58,0±12,8 ^b	0,0±0 ^b
	Скромница	32,0±3,7 ^b	68,0±3,7 ^b	64,0±2,4 ^b	4,0±2,4 ^b	4,0±2,4 ^c	0,0±0

Примечание: *m* — ошибка среднеквадратичного отклонения; *n* ≥ 50 — количество черенков в каждой пробе; индексами а, б, с, d обозначены значения, имеющие достоверность различия *P* ≥ 0,95, в пределах каждого столбца и вида растения.



Рис. 4. Взвешивание и сушка образцов

малины — на 70% (таблица). При использовании непарного критерия Стьюдента достоверность различия анализируемых сортов составила для 4 групп черной смородины, 3 групп красной смородины, 2 групп крыжовника, малины с уровнем достоверности $P \geq 0,95$. С применением парного критерия Стьюдента для анализа показателя, усредняющего изменение жизнеспособности ΔV между группами черенков после охлаждения до -30°C и -196°C , ошибка репрезентативности выборки в среднем уменьшилась в 3 раза, что дало возможность повысить достоверность сравниваемых значений до уровня $P \geq 0,99$. Исключением являются данные, полученные для значений жизнеспособности черенков ниже 10%.

Для оценки вариации жизнеспособности деконсервированных черенков разного сорта проведен двухфакторный дисперсионный анализ [2] на основе применения средней величины V и ее разности ΔV . Установлено, что усредненная жизнеспособность деконсервированных черенков красной смородины, крыжовника, малины зависит от выбранного сорта и этапа криоконсервирования. Сила влияния η^2_A (отношение выделенной дисперсии к общей) [3], обусловленная индивидуальными свойствами биообъекта (сортом), составила 0,30, 0,32 и 0,32, что дало значения, сопоставимые с технологическим фактором (процедура криоконсервирования)

η^2_B — 0,43, 0,36 и 0,39 соответственно. Совместное воздействие указанных факторов определило силу влияния η^2_{AB} — 0,23, 0,18 и 0,22, а неучтенных факторов η^2_z — 0,03, 0,14 и 0,06 соответственно.

Установлено, что жизнеспособность черенков черной смородины зависит только от способа криоконсервирования. Сила влияния η^2_A , обусловленная индивидуальными свойствами биообъекта (сортом), составила для черенков 0,09 при уровне достоверности полученных результатов $P \geq 0,95$. Процедура криоконсервирования обладает силой влияния $\eta^2_B = 0,65$. Совместное воздействие биологического и технологического факторов определило силу влияния $\eta^2_{AB} = 0,14$, а неучтенных факторов $\eta^2_z = 0,11$.

Проведение однофакторного анализа на основе критерия Стьюдента дало возможность установить достоверность различия жизнеспособности деконсервированных черенков в зависимости от их сорта, в то время как двухфакторный дисперсионный анализ позволил установить влияние процедуры криоконсервирования и индивидуальных свойств биообъекта.

При переходе к показателям разности средних ΔV сила совместного влияния биологического и технологического факторов η^2_{AB} значительно возрастает: для черенков черной смородины — до 0,40; красной смородины — 0,42; крыжовника — 0,35;

малины — 0,38. При этом сила влияния биологического фактора η^2_A составила — 0,11; 0,15; 0,16; 0,16, а технологического η^2_B — 0,27; 0,36; 0,27; 0,25 соответственно при $P \geq 0,95$. Следовательно, при переходе к показателям разности средних ΔV оценки жизнеспособности черенков черной и красной смородины, крыжовника, малины совместное влияние биологических и физических параметров увеличивает силу влияния в несколько раз.

Анализ воспроизводимости показателей жизнеспособности исследуемых черенков, проведенный при помощи коэффициента вариации C_v , показал, что в процессе криоконсервирования с первого до третьего этапов эта величина изменяется: для сортов черной смородины — от 5 до 91%, красной — 9–137%, крыжовника — 22–74%, малины — 18–105%. Очевидно, различие жизнеспособности черенков разного сорта связано с ростом внутриклеточных кристаллов и зависит от концентрации сахаров в цитоплазме клетки. Однако это явление нуждается в дополнительном исследовании.

Таким образом, для различных видов растений установлены разные области допустимых значений влажности и температуры охлаждения черенков. Определены оптимальные параметры криоконсервирования черенков черной смородины, малины и кры-

жовника, предложен способ замораживания, который дал возможность увеличить жизнеспособность деконсервированных образцов в 2–5 раз по сравнению с существующими способами криоконсервирования.

Вероятность развития деконсервированных черенков растений в значительной степени зависит от его сортотипа, способа криоконсервирования и культивирования. Выбор сорта черенков, а также способа криоконсервирования существенно влияют на воспроизводимость результатов эксперимента.

Установлено видовое отличие между результатами криоконсервирования черенков черной и красной смородины, крыжовника и малины. В пределах одного вида средние показатели для разных сортов деконсервированных черенков черной смородины изменялись до 92%, красной — 54%, крыжовника — 48%, малины — 70%.

Для черенков красной смородины, крыжовника и малины сила совместного воздействия биологического и технологического факторов оказывает значительное влияние на жизнеспособность деконсервированного объекта.

Авторы выражают благодарность сотрудникам лаборатории сохранения НИЦРРУ Института растениеводства им. В. Я. Юрьева за помощь в выполнении данной работы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Виноградова Ю. К., Горбунов Ю. Н., Макридин А. И. и др. Разработка принципов сохранения и воспроизводства генетических фиторесурсов / *Фундаментальные основы управления биологическими ресурсами*. — М., 2005. — С. 343–351.
2. Лакин Б. Ф. Биометрия. — М.: Высш. шк., 1990. — 254 с.
3. Плохинский Н.А. Биометрия. — М.: Изд-во МГУ, 1961. — 362 с.
4. Горбунов Л. В., Шилянова Т. П., Рябчун В. К. Оптимізація умов дегідратації живців плодово-ягідних культур // *Генет. ресурси росл.* — 2008. — № 5. — С. 182–187.
5. Горбунов Л. В. Воспроизводимость результатов криоконсервирования черенков различных сортов семечковых плодовых деревьев // *Пробл. криобиол.* — 2009. — № 4. — С. 473–480.
6. Туманов И. И., Красавцев О. А., Хвалин Н. Н. Повышение морозостойкости березы и черной смородины до -253 °С путем закаливания // *Докл. АН СССР*. — 1959. — Т. 127. — С. 1301.
7. Sakai A. Survival of the twig of woody plants at -196 °C // *Nature*. — 1960. — V. 185. — P. 393.
8. Towill L. E., Philip L. Forsline Cryopreservation of sour cherry (*Prunus cerasus* L.) using a dormant vegetative bud method // *Cryoletters*. — 1999. — V. 20. — P. 215–225.
9. Y. L. Wang, X., Liu L. Analysis of genetic variation in surviving apple shoots following cryopreservation by vitrification // *Plant Sci.* — 2004. — V. 166. — P. 677–685.
10. Popov A. S., Popova E. V., Nikishina T., Vysotskaya O. N. Cryobank of plant genetic resources in Russian Academy of Sciences // *Int. J. Refr.* — 2006. — V. 29. — P. 403–410.
11. Вержук В. Г., Филиппенко Г. И., Тихонова Н. Г., Жестков А. С. Способы криосохранения генплазмы плодовых культур на примере смородины, жимолости и крыжовника // *Биофиз. живой клетки*. — 2008. — Т. 9. — С. 35–36.

ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК МІЖ ВИДОМ І СОРТОМ ЯГІДНИХ КУЛЬТУР ТА РЕЗУЛЬТАТАМИ КРІОКОНСЕРВУВАННЯ ЖИВЦІВ

Л. В. Горбунов¹, І. В. Петров²

¹Інститут тваринництва НААН, Харків
²НДІ біології Харківського національного університету ім. В. Н. Каразіна

E-mail: ilya_cryo@mail.ru

Визначено оптимальні параметри кріоконсервування живців ягідних культур: чорної смородини (сорт: Дачниця, Ювілей, Софіївська, Китайська); червоної смородини (Китайська, Джокер, Святкова); агрусу (Красень, Малахіт, Колобок); малини (Новость Кузміна, Струйка, Скромниця), що дало змогу збільшити життєздатність деконсервованих зразків у 2–5 разів порівняно з існуючими способами кріоконсервування. Одержано максимальні показники життєздатності живців після температурної адаптації при $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ протягом 14–60 діб, ступінчастого охолодження зразків зі швидкістю $0,1\text{--}0,5\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{год}$ до $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ з витримкою 3–7 діб, за наступного прямого занурення в рідкий азот, зберігання строком від 1 до 30 діб і відігрівання зі швидкістю $70\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{хв}$. Встановлено, що в діапазоні допустимих значень параметрів, що забезпечують максимальну життєздатність досліджуваних живців берези (контроль), значення вологості відповідають $32\pm 40\%$, для чорної смородини — $40\pm 50\%$, малини $37\pm 40\%$ у позитивному діапазоні температур і $14\pm 28\%$, $30\pm 40\%$, $20\pm 23\%$ — у негативному.

За допомогою дисперсійного аналізу показано, що вірогідність розвитку деконсервованих живців рослин значною мірою залежить від сорту і способу кріоконсервування. Відзначено, що сила впливу η^2_{A} , зумовлена індивідуальними властивостями досліджуваних сортів ягідних культур, є порівнянною із силою впливу η^2_{B} процедури кріоконсервування.

Показано відмінності середніх показників життєздатності досліджуваних сортів у межах одного виду. Встановлено, що ці показники відрізнялися: для чорної смородини — на 92%, червоної — 54%, агрусу — 48%, малини — 70%. Використання парного критерію Стьюдента дало змогу в середньому зменшити в 3 рази помилку репрезентативності вибірки, що уможливило підвищення надійності результатів достовірності відмінностей порівнюваних значень до рівня $P \geq 0,99$.

Вибір сорту живців, а також способу кріоконсервування істотно впливає на відтворюваність результатів експерименту. Аналіз відтворюваності показників життєздатності досліджуваних живців, проведений за допомогою коефіцієнта варіації S_v , показав, що в процесі кріоконсервування ця величина змінюється: для сортів чорної смородини — від 5 до 91%, червоної — 9–137%, агрусу — 22–74%, малини — 18–105%.

Ключові слова: живці чорної та червоної смородини, агрусу, малини, життєздатність, кріоконсервування.

INTERRELATION BETWEEN TYPE AND CULTIVAR OF BERRY-LIKE CROP AND CUTTINGS CRYOPRESERVATION RESULTS

L. V. Gorbunov¹, I. V. Petrov²

¹Institute of Animal Breeding of National Academy of Agricultural Sciences, Kharkiv

²Research Institute of Biology Karazin Kharkiv National University

E-mail: ilya_cryo@mail.ru

Optimal cryopreservation parameters were determined for the berry-like crop cuttings: blackcurrant (Dachnica, Yuviley, Sofiiivska, Kitayskaya); redcurrant (Kitaivska, Djoker, Svyatkova); gooseberries (Krasen, Malachite, Kolobok); raspberries (Novost' Kuz'mina, Struyka, Skromnica). This procedure allowed increasing viability of deconservation samples in 2–5 times compared to the existing methods of cryopreservation. Maximal values of cutting viability were obtained after their temperature adaptation at $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ during 14–60 days, stepwise cooling of the samples with $0.1\text{--}0.5\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{hr}$ rate down to $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ (exposure 3–7 days), direct plunging into liquid nitrogen, storage from 1 to 30 days and thawing rate of $70\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$. It was found that the in the region of allowable values for maximum viability of investigated birch (control) cuttings humidity values correspond $32\pm 40\%$, for blackcurrant are $40\pm 50\%$, and raspberries $37\pm 40\%$ in affirmative temperature span and $14\pm 28\%$, $30\pm 40\%$, $20\pm 23\%$ in below zero.

Using dispersion analysis it has been established that the development probability of frozen-thawed plant cuttings significantly depends on the selected cultivar and cryopreservation method. It is noted that the force of influence η^2_{A} , due to the individual properties of the studied cultivars of berries, is comparable to that of the force of influence η^2_{B} of cryopreservation procedures.

The differences of average indexes of viability of the studied cultivars were showed within a single species. It was found that these rates are different for black currant by 92%, redcurrant — 54%, gooseberries — 48%, raspberries — 70%. Using paired Student's t-test has reduced to 3 times the error of representativeness of the sample that enabled to improve the reliability of the significance of differences compared to the values of the $P \geq 0,99$. Selection of the cuttings' cultivars and cryopreservation method significantly affect the reproducibility of experimental results. The analysis of reproducibility of indexes of viability of the studied cuttings held by the coefficient of variation, showed that during the cryopreservation this value is changed to blackcurrant cultivars from 5 to 91%, redcurrant — 9–137%, gooseberries 22–74%, raspberry 18–105%.

Key words: cuttings black and red currants, gooseberries, raspberries, viability, cryopreservation.