

## ДУГОТРАЈНА КОНЗЕРВАЦИЈА ГЕРМПЛАЗМЕ ВОЋАКА ПРИМЕНОМ РАЗЛИЧИТИХ ТЕХНИКА КРИОПРЕЗЕРВАЦИЈЕ У ИНСТИТУТУ ЗА ВОЋАРСТВО, ЧАЧАК

Вујовић Татјана, Ружић Ђурђина, Анђелић Татјана, Јевремовић Дарко, Радичевић Сања, Ђорђевић Милена

Институт за воћарство, Краља Петра I бр. 9, 32000 Чачак, Република Србија

E-mail: tvujovic@institut-cacak.org

Чување биљног материјала на изузетно ниским температурама (течни азот, -196°C) је веома значајна метода за дуготрајну конзервацију биљне гермплазме. Пошто криопрезервација значајно снижава трошкове и ризике везане за одржавање биљних колекција у пољским условима, ова метода је препозната као комплементарна конвенционалним методама чувања. Програм примене овакве стратегије у очувању биљних генетичких ресурса је инициран и у Институту за воћарство, Чачак. Истраживања су фокусирана на оптимизацију протокола за различите технике криопрезервације које се базирају на феномену витрификације и на њихову примену у конзервацији гермплазме континенталних воћака. Техника инкапсулације-дехидрације је успешно примењена у криопрезервацији џанарике, купине *чачанска бестрна* и малине 'Latham'. Испитивање примене технике витрификација у конзервацији гермплазме *Prunus-a* и *Malus-a* је показало да се значајно повећање капацитета регенерације криопрезервираних врхова изданака подлоге за трешњу 'Gisela 5' и јабуке 'Gala Must' може постићи варирањем дужине дехидрације и/или врсте коришћених витрификационих раствора. Оптимизација протокола за технику „droplet“ витрификације код представника родова *Prunus* (шљиве *црвенаранка*, *ситница*, *пожегача*, *крина*, џанарика и подлога 'Gisela 5'), *Malus* (јабука 'Gala Must') и *Rubus* (купина *чачанска бестрна*) је постигнута испитивањем утицаја различитих витрификационих раствора, дужине третмана, температуре дехидрације и дужине рехидрације на поновно растење криопрезервираних експлантата. Последњих година, иницирана су такође и истраживања примене ново развијених „V cryo-plate“ и „D cryo-plate“ метода криопрезервације. Ове методе омогућавају превазилажење извесних ограничења везаних за недовољну дехидрацију, оштећење и губитак биљног материјала, као и манипулативних проблема у протоколима других техника витрификације. Коришћењем ових метода успешно су криопрезервирани врхови *in vitro* изданака различитих аутохтоних шљива (*црвенаранка*, *пожегача*, *ситница*, *моравка*, *белошљива*), џанарике, подлоге 'Gisela 5', јагоде 'Clery', боровнице 'Toro' и *монголске боровнице*. Поред криопрезервације *in vitro* експлантата, у Институту се врше и испитивања утицаја криотретмана на репродуктивну способност полена *in vitro* и *in vivo* код различитих сорти шљиве (*ваљевка*, *валерија*, *чачанска лепотица*) и трешње ('Kordia', 'Summit').

Кључне речи: инкапсулација-дехидрација, витрификација, „droplet“ витрификација, „V cryo-plate“ и „D cryo-plate“ методе, криопрезервација полена

## LONG-TERM CONSERVATION OF FRUIT TREE GERMPLASM USING DIFFERENT CRYOPRESERVATION TECHNIQUES AT FRUIT RESEARCH INSTITUTE, ČAČAK

Vujović Tatjana, Ružić Đurđina, Anđelić Tatjana, Jevremović Darko, Radičević Sanja, Dorđević Milena

Fruit Reserach Institute, Kralja Petra I no. 9, 32000 Čačak, Republic of Serbia

E-mail: tvujovic@institut-cacak.org

Storage of plant material at ultra-low temperature (liquid nitrogen,  $-196^{\circ}\text{C}$ ), has become important tool for long-term conservation of plant germplasm. Since cryopreservation reduces cost and risks linked to management of field germplasm collections, it has become a complementary approach to conventional conservation methods. Program for application of this strategy has also been initiated within Department of Fruit Physiology of FRI, Čačak. Most of the research is focused on optimization of the protocols for different vitrification-based cryopreservation techniques and their application for conserving fruit tree genotypes. Encapsulation-dehydration technique has been successfully applied for cryopreservation of myrobalan, blackberry 'Čačanska Bestrna' and raspberry 'Latham'. Research on application of vitrification technique for conservation of *Prunus* and *Malus* germplasm has shown that significant increase in regrowth of cryopreserved shoot tips of cherry rootstock 'Gisela 5' and apple 'Gala Must' can be achieved by varying duration of dehydration and/or type of vitrification solution (VS) employed. Optimization of the droplet-vitrification protocol in representatives of *Prunus* (plums 'Crvena Ranka', 'Sitnica', 'Požegača' and 'Krina', myrobalan, rootstock 'Gisela 5'), *Malus* (apple 'Gala Must') and *Rubus* (blackberry 'Čačanska Bestrna') genera was performed by evaluating the effect of different VSs, treatment durations, temperature of dehydration and duration of unloading on recovery of cryopreserved explants. Recently, the research on application of newly developed V and D cryo-plate techniques has been initiated, too. These methods allow overcoming disadvantages of other vitrification procedures such as mistiming dehydration, damage and loss of material and manipulative problems. Shoot tips of number of autochthonous plums ('Crvena Ranka', 'Požegača', 'Sitnica', 'Moravka', 'Belošljiva'), myrobalan, rootstock 'Gisela 5', strawberry 'Clery', blueberry 'Toro' and saskatoon were successfully cryopreserved using these methods. Besides cryopreservation of in vitro explants, the effect of cryo-treatment on pollen reproductive ability in vitro and in vivo has also been examined in different plum ('Valjevka', 'Valerija', 'Čačanska Lepotica') and sweet cherry ('Kordia', 'Summit') cultivars.

Key words: encapsulation-dehydration, vitrification, droplet-vitrification, V and D cryo-plate methods, pollen cryopreservation

Acknowledgements. Ministry of Education, Science and Technological Development of RS (Contract number: 451-03-9/2021-14/200215) and the Science Fund of RS, PROMIS, #6062279, CryoPlum"