

Praca wykonana w ramach Zadania 1.2 „Tworzenie i wdrażanie postępu biologicznego w systemie zrównoważonej produkcji sadowniczej (hodowla odpornościowa, jakościowa i adaptacyjna)”, Programu Wieloletniego (2015-2020), finansowanego przez MRiRW.

Autorzy: mgr inż. Agnieszka Faron-Szpilowska, dr inż. Maria Buczek

Metodyka rozmnażania nowych odmian malin

Materiał roślinny

Eksplantaty pędów malin w postaci pąków kątowych, pobierane są z roślin matecznych uprawianych w warunkach kontrolowanych (karkas). Rośliny te dodatkowo testowane są na obecność chorób wirusowych. Materiał do rozmnażania pobiera się w terminie V/VI przy użyciu sterylnych narzędzi.

Sterylizacja materiału roślinnego

Pobrane pąki wstępnie płukane są pod bieżącą wodą przez 90 min. i odkazane w 70% etanolu przez 30 sekund. Następnie płukane są wodą sterylną i umieszczane są w sterylnych naczyniach z 10% roztworem podchlorynu sodu z dodatkiem komercyjnego detergentu Ludwik lub Tweenu 20 i umieszczane są na wytrząsarce na 10 min. Ostatnim etapem sterylizacji jest trzykrotne przepłukanie eksplantatów wodą sterylną, każde po 10 min.

Inicjacja kultur, stabilizacja, selekcja

Izolacja pąków z wysterylizowanych eksplantatów odbywa się w komorze laminarnej w sterylnych warunkach. Pąki umieszcza się na zestalonej agarze pożywce inicjalnej o składzie wg. Murashige i Skooga za wyjątkiem KNO₃ i NH₄NO₃, które dodawane są w połowie przewidzianej dla pożywki MS. Pożywka zawiera chelat żelaza FeEDDHA w ilości 96 mg/l, benzyloamino purynę (BAP) w ilości 0,4 mg/l, kwas indolilomasłowy (IBA) w ilości 0,1 mg/l, sacharozę 30g/l, 7g/l agaru. Odczyn pożywki jest ustalany za pomocą 1 M NaOH i 1 M HCl na poziomie pH 5,7 przed autoklawowaniem. Stabilizacja kultur przez okres około 6 tygodni odbywa się w fitotronie w sterylnych warunkach, w którym utrzymywany jest fotoperiod 16 h/dzień, 8 h/noc oraz stała temperatura 23°C przy natężeniu światła 8 – 15 W/m². W tym czasie eliminowane są również kultury z zakażeniami.

Namnażanie kultur

Otrzymane w kulturach inicjalnych pędy, dzielone są i pasażowane na pożywkę namnożeńiową MS zawierającą chelat żelaza FeEDDHA w ilości 96 mg/l, benzyloamino purynę (BAP) w ilości 0,5mg/l, kwas indolilomasłowy (IBA) w ilości 0,2 mg/l, sacharozę 30g/l, 7g/l agaru. Odczyn pożywki jest ustalany za pomocą 1 M NaOH i 1 M HCl na poziomie pH 5,7 przed autoklawowaniem. Pasaże powtarzane są co 4 tygodnie do uzyskania pożądanej ilości pędów.

Ukorzenianie w warunkach sterylnych

Po namnożeniu właściwej ilości pędów, rośliny ukorzeniane są na pożywce agarowej MS z dodatkiem kwasu indolilomasłowego (IBA) w ilości 1,2 mg/l. Czas ukorzeniania 4 tygodnie.

Aklimatyzacja i adaptacja do uprawy w podłożu glebowym

Ukorzenione sadzonki po wyjęciu z pojemników myte są z pozostałości pożywki i sadzone do wielodoniczek wypełnionych podłożem (torf + perlit w stosunku 2:1). Następnie rośliny osłania się

folią i umieszcza w tzw. pokoju wzrostowym gdzie panują specjalne warunki: fotoperiod 16h/dzień i 8h/noc, temperatura 22°C. Rośliny systematycznie są podlewane i wietrzone, stopniowo wydłużając im czas bez osłon foliowych. Aklimatyzacja trwa 4 tygodnie i w tym czasie nawozi się sadzonki dwukrotnie preparatem Florovit (25 ml/10l). Zahartowane rośliny przenoszone są do szklarni, gdzie przebywają 4- 6 tygodni. Następnie przesadzane są do doniczek z podłożem torf + perlit i do dalszego wzrostu umieszczane w tunelu foliowym. Po około 4 tygodniach rośliny gotowe są do przeniesienia w warunki polowe.

Etap	Metodyka standardowa	Metodyka zmodyfikowana
Materiał	Pąki kątowe	Pąki kątowe
Sterylizacja - bieżąca woda - 70% etanol - płukanie wodą sterylną - podchloryn sodu - sterylna woda	120 min. 90 sekund 1 min. 15 %, 15 min. 3 x 10 min.	90 min. 30 sekund 1 min. 10%, 10 min. 3 x 10 min.
Inicjacja - pożywka - cytokinina (BAP) - auksyna (IBA) - stężenie sacharozy - pH - stabilizacja kultur	1/1 MS (1/2 N), FeEDTA 96 mg/l 0,4 mg/l 0,1 mg/l 30 g/l 5,7 6 tyg.	1/1 MS (1/2 N), FeEDDHA 96 mg/l 0,4 mg/l 0,1, mg/l 30 g/l 5,7 5 tyg.
Namnażanie kultur - pożywka - cytokinina (BAP) - auksyna (IBA) - stężenie sacharozy - pH - pasaż	1/1 MS (FeEDTA 96 mg/l) 0,4 mg/l 0,2 mg/l 30 g/l 5,7 Co 4 tyg.	1/1 MS (FeEDDHA 96 mg/l) 0,5 mg/l 0,2 mg/l 30 g/l 5,7 Co 4 tyg.
Ukorzenianie - Pożywka - auksyna (IBA) - Stężenie sacharozy - pH - czas ukorzeniania	1/1 MS 1,4 mg/l 30 g/l 5,7 6 tyg.	1/1 MS 1,2 mg/l 30 g/l 5,7 4-5 tyg.