prof. T. Orlikowska, dr A.Trzewik, mgr K. Nowak, L. Ogórek

Metodyka

Mikrorozmnażanie maliny

Skierniewice 2017

Wprowadzenie

Malina jest rozmnażana wyłącznie wegetatywnie, co często prowadzi do zakładania nowych plantacji z roślin zakażonych wirusami i patogenicznymi grzybami, które w znacznym stopniu mogą pogarszać plonowanie. Z tego powodu, mateczniki do pozyskiwania sadzonek a także plantacje produkcyjne powinny być zakładane z sadzonek rozmnażanych w warunkach laboratoryjnych. Rośliny pochodzące z kultury *in vitro* mają duży wigor, który objawia się szybkim wzrostem wegetatywnym i wyraźnie większymi owocami w pierwszych kilku latach po posadzeniu. Rozmnażanie maliny w kulturach in vitro jest znane od wielu lat. W Polsce zostało zainicjowana w ówczesnym Instytucie Sadownictwa przez panią doktor Danutę Sobczykiewicz (1982; 1992) która wprowadziła istotne ulepszenia do znanych wcześniej procedur. Jednak, podobnie jak w odniesieniu do każdego gatunku roślin, niektóre odmiany są trudniejsze od innych, dlatego, aby je rozmnażać, trzeba modyfikować procedury i ta działalność trwa przez cały czas, wraz z pojawianiem się nowych odmian. W tym opracowaniu zostanie przedstawiony sposób mikrorozmnażania maliny, który powstał na bazie wyników doświadczeń prowadzonych w Instytucie na kilkunastu odmianach, także w ramach Programu Wieloletniego, zadania 1.5. Szczególny nacisk zostanie położony na kontrolowanie zanieczyszczeń bakteryjnych, które mają znaczenie dla ostatecznej jakości materiału nasadzeniowego.

Inicjacja kultur

Jest to niezwykle istotny etap, rzutujący na wyniki całego procesu mikrorozmnażania. Kultury nie powinny być inicjowane z materiału przypadkowego. Roślina, z której będą pobrane eksplantaty inicjalne powinna być obserwowana w czasie 1–2 sezonów wegetacyjnych pod kątem zdrowotności (braku objawów chorobowych) a także pokroju, siły wzrostu i owocowania typowego dla odmiany. Roślina taka powinna być szczególnie chroniona przed wektorami wirusów przez prewencyjne stosowanie środków ochrony roślin. W sezonie poprzedzającym pobranie eksplantatów powinna być przetestowana na obecność wirusów oraz patogenów grzybowych – gatunków rodzaju *Phytophthora* i *Verticillium*. Na kilka miesięcy przed pobraniem materiału, roślina powinna być posadzona do pojemnika i przeniesiona do szklarni, do warunków ograniczających intensywność oświetlenia a także dla większej kontroli fitosanitarnej. Roślina nie powinna być zraszana, nawadniana tylko do podłoża, a 1–2 tygodnie przed spodziewanym terminem pobrania podlewana mniej intensywnie. Pędy inicjalne można także pobierać z roślin polowych, jednak należy spodziewać się znacznie liczniejszych zakażeń bakteryjnych i grzybowych i sięgających 80% a także nekroz spowodowanym sterylizacją indukującą utlenianie fenoli.

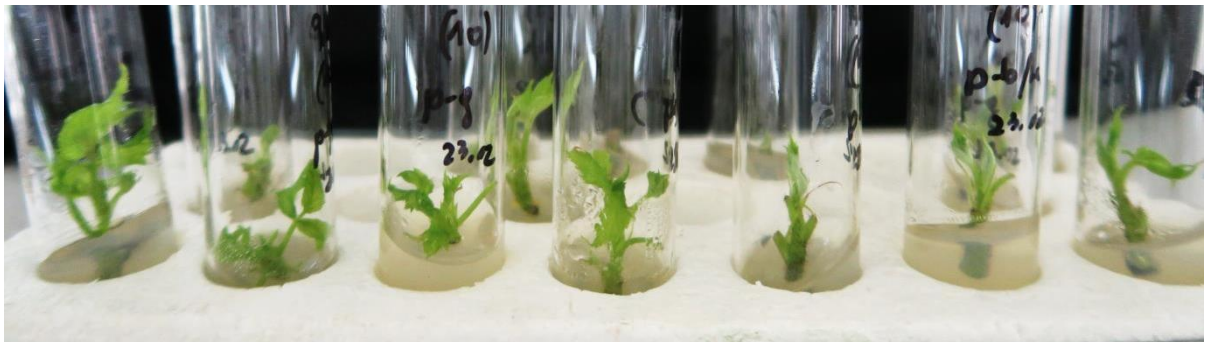
Zazwyczaj kultury są inicjowane z wierzchołków intensywnie rosnących pędów, pobranych w godzinach rannych i przeniesionych w pojemniku z wodą do laboratorium, tak szybko, jak to jest możliwe. Wierzchołki pędów pozbawione rozwiniętych liści powinny być płukane w wodzie bieżącej przez przynajmniej 1 godzinę (w słoiku zakrytym gazą). Następnym etapem jest kilkuminutowe wytrząsanie w wodzie z dodatkiem kropli detergentu. Po odlaniu tego płynu, wierzchołki powinny być płukane przez kilka sekund w 70% etanolu, a po jego usunięciu wytrząsane w 0,1% roztworze chlorku rtęci przez ok. 3 minuty. Bezpośrednio po tym czasie należy odlać płyn sterylizujący i pędy płukać 3–krotnie po 5 minut w sterylnej destylowanej wodzie. Pędy osuszać na sterylnej bibule i umieszczać pojedynczo w probówkach, po usunięciu rozwiniętych liści i skróceniu.

Eksplantaty inicjalne należy umieszczać na pożywce zawierającej połowę składu soli mineralnych wg Murashige i Skooga (MS) 1962) z witaminami WPM (Loyd i McCown 1981), z dodatkiem 0,5 mg/l benzyloaminopuryny (BAP) i 250 mg/l albuminy mlecznej (dla wcześniejszego ujawnienia się bakterii bytujących wewnątrz tkanek pędu) oraz 30 g/l sacharozy. Odczyn (pH) pożywki należy ustalić na 5,7 a przed autoklawowaniem dodać agar, np. Plant Agar (Duchefa) w ilości 5,0–6,0 g/l (w lecie więcej). Pożywki można przygotowywać z pojedynczych składników, ale łatwiej (i drożej) z mieszanek soli, np. firmy Duchefa.

Sterylizacja w autoklawie w temp. 121^{o}C powinna, w zależności od naczynia, w którym pożywka jest autoklawowana, trwać 20 min. (jeśli w probówkach i słoikach) a 30 min, w naczyniach 0,5–2,0 l.

Po umieszczeniu na pożywce, kultury powinny być przeniesione do pomieszczenia wzrostowego z temp. 20–22^{o}C, z niskim natężeniem światła, np.10–20 µmoli m^{-2} sek^{-1}. Przy bardziej intensywnym oświetleniu i w wyższej temperaturze utlenianie fenoli w pędach i towarzyszące im zamieranie pędów są bardziej intensywne. Co kilka dni należy kultury przeglądać i usuwać te z objawami zanieczyszczenia grzybowego lub bakteryjnego.

Do namnażania należy wybierać pędy zazielenione, nie wykazujące oznak zamierania (bez nekrozy) (Fot. 1). W przypadku, gdy pęd nie ma nekrozy ale do pożywki wypływają ciemne fenole, pęd należy przenieść na świeżą pożywkę i powtórzyć tę czynność nawet kilka razy.

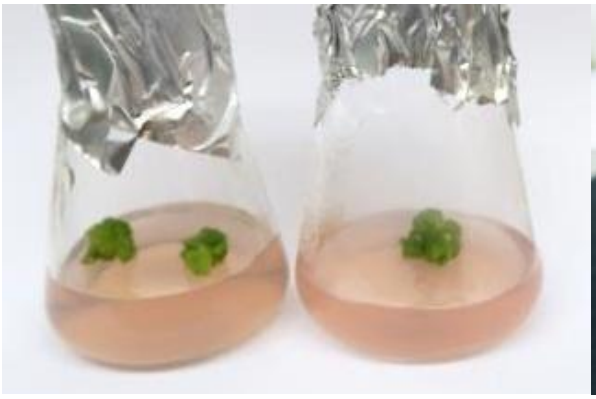


Fot. 1. Wierzchołki pędów maliny pobrane z roślin rosnących w szklarni po 6 tygodniach od inicjacji

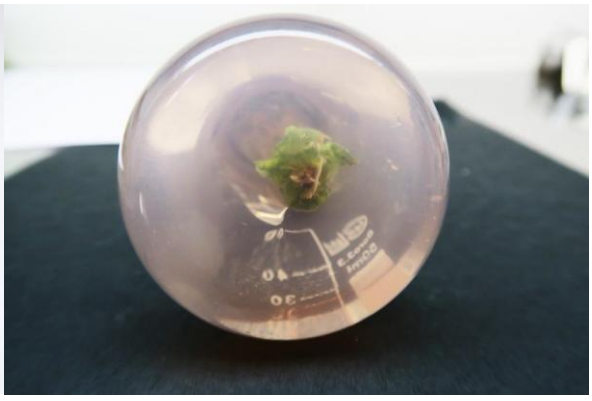
Po 4–6 tygodniach wszystkie zielone pędy nie wykazujące objawów zakażenia należy przenieść na pożywkę zawierającą cały komplet soli MS z witaminami WPM (Lloyd i McComb 1981) i BAP od 0,6 do 1,0 mg/l, z 30 g/l sacharozy, zestaloną 6–7 g/l agaru Plant. Wskazane jest umieszczanie pędów pojedynczo, ponieważ w dalszym ciągu mogą ujawniać się zanieczyszczenia mikrobiologiczne pochodzące z tkanek wewnętrznych. W czasie 2–3 pasażu pędy powinny rozpocząć rozkrzewianie z pąków kątowych (Fot. 2). Podczas przeszczepiania, dolne części pędów należy przenosić na pożywkę bakteriologiczną NA lub 523 w celu wykrycia bakterii endogennych. Kultury, których podstawy okazały się zakażone, należy odrzucać (Fot. 3).

Rozkrzewiające się pędy należy co 4–5 tygodni przenosić na świeżą pożywkę, większe pędy pojedynczo, a mniejsze po 2–3 i prowadzić je w populacjach pochodzących z poszczególnych eksplantatów inicjalnych. W ten sposób można wychwycić pędy reagujące nietypowo, np. rozkrzewiające się silniej od innych (może to świadczyć np. o obecności fitoplazm) lub nie rozkrzewiających się wcale. Mogą także pojawić się pędy o szklistych liściach lub kalusujące u podstawy pędu lub dolnych liści. Wszystkie pędy nietypowe należy bezwzględnie usuwać aby uniknąć w przyszłości rozmnożenia się eksplantatów ze zmianami somaklonalnymi.

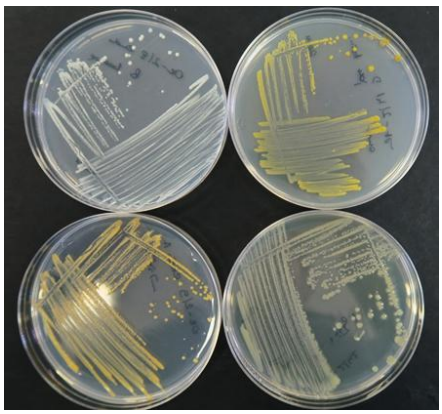
Takie zmiany mogą już powstać uprzednio w pąkach pobranych z rośliny lub nastąpić w reakcji na stres spowodowany odkażaniem.



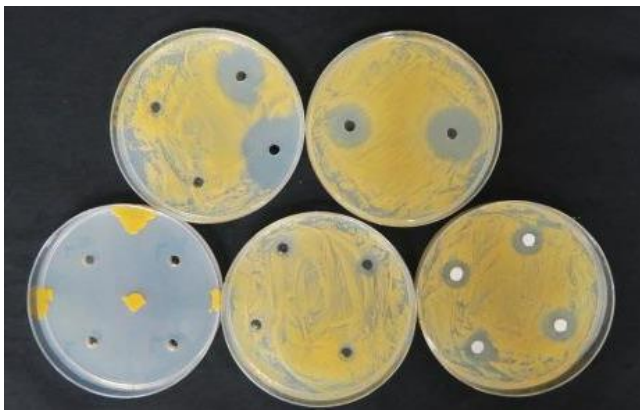
Fot. 2. Kultury maliny po 14 tygodniach od inicjacji



Fot. 3. Zanieczyszczenie bakteryjne wyciekające do pożywki



Fot. 4. Izolaty bakterii z maliny



Fot. 5. Antybiogramy dla jednej z bakterii. Od lewej, górny rząd: PPMTM, $HgCl_2$, dolny rząd: rifampicyna 50 mg/l, NaOCl dwie szalki z różnymi stężeniami preparatu

W przypadku, gdy stwierdzono przy pomocy testów ELISA lub molekularnych obecność wirusów w roślinach inicjalnych, należy kultury zakładać z wierzchołków pędów roślin poddanych termoterapii (temperatura jest zależna od rodzaju wirusa, najczęściej jest to ok. 35–37^{o}C). Z uwagi na małą ilość białka i/lub materiału genetycznego wirusa w pędach rozmnażanych *in vitro,* testy należy wielokrotnie powtarzać.

Namnażanie pędów

Kultury na tym etapie przenosimy na pożywkę MS zawierającą dodatkowo 85,75 mg/l $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ z witaminami WPM, 30 g/l sacharozy i 5–6 g/l agaru Plant. Stężenie BAP na tym etapie może wynosić od 0,5 do 1,5 mg/l, w zależności od zdolności genotypu do namnażania. Przy zbyt małym stężeniu tworzy się mało pędów (1–2 w czasie 4–6 tygodni), kultury starzeją się szybciej, pędy nie wydłużają się, żółkną liście dolne. Jeśli stężenie BAP jest zbyt wysokie, tworzy się dużo pędów (6–10), najczęściej krótszych od 1cm i często nadmiernie uwodnionych, w wyniku czego liście przybierają wygląd szklisty. Jest bardzo trudno wyjść zarówno ze starzenia się jak i szklistości, dlatego należy kultury ciągle obserwować, aby nie przeoczyć objawów, a gdy zaczynają się pojawiać, natychmiast pędy przenieść na pożywkę z mniejszym (lub większym) stężeniem BAP. Liczba pąków kątowych jest zależna w dużym stopniu od genotypu (Fot. 6 i 7). W przypadku inicjacji kultur

Fot. 6. Prawidłowa proliferacja maliny, wielopędy z jednego słoika

Fot. 7. Pędy maliny z jednego wielopędu

Fot. 8. Pędy maliny ukorzenione w różnym stopniu

z genotypów rozmnażanych w laboratorium po raz pierwszy, w tym czasie, kiedy już mamy kilkadziesiąt pędów a współczynnik namnażania uważamy za zbyt mały lub zbyt duży, należy założyć doświadczenie ze stężeniem BAP, ewentualnie z obecnością IBA, aby wytypować właściwy. Niektóre genotypy wymagają na tym etapie dodatku auksyny do pożywki (0,1 lub 0,05 mg/l IBA), ale reakcja na nadmierną ilość tego regulatora objawia się przede wszystkim epinastią (zwieszaniem liści), co powoduje wypychanie eksplantatu z pożywki i jego starzenie. Na etapie namnażania pędów mogą pojawić się objawy niedoboru żelaza (przejaśnienia blaszek liściowych pomiędzy nerwami). Należy wówczas zastąpić FeNaEDTA chelatem FeEDDHA w stężeniu 50 mg/l. Nie należy przekraczać długości okresu bez przeszczepiania powyżej 6 tygodni, ponieważ może w przypadku niektórych genotypów, pojawiać się regeneracja przybyszowa, tzn. pąki tworzą się w innych miejscach niż w kątach liści, np. na kalusie u podstawy pędu lub na liściach dotykających do pożywki. Pędy przybyszowe są niebezpieczne z powodu zagrożenia zmianami somaklonalnymi. Z tego powodu nie należy ich używać do rozmnażania ani ukorzeniania.

Podczas intensywnego namnażania pędów może dojść do pojawiania się zanieczyszczeń grzybowych lub bakteryjnych. Kolonie grzybowe, jeśli nie są wynikiem ujawniania się grzybów endofitycznych, mogą pochodzić z obecności w słoikach owadów lub roztoczy, np. wciornastków, które mogą na swoich ciałach roznosić mikroorganizmy i je rozprzestrzeniać odwiedzając kolejne naczynia. Z tego powodu jest konieczna inspekcja wszystkich kultur

co tydzień i w przypadku podejrzenia takiego rozwlekania, kultury zanieczyszczone należy natychmiast wyłączyć i wysterylizować w autoklawie, a kultury w naczyniach niezanieczyszczonych zabezpieczyć przed „odwiedzinami" przez owinięcie nasady wieczka paskiem folii spożywczej. Przez cały czas, w kilku miejscach w fitotronie powinny wisieć tablice lepowe w kolorze żółtym i niebieskim, aby wcześnie zaobserwować ewentualną obecność wektorów.

Kontrola zanieczyszczeń bakteryjnych

Obecność zanieczyszczeń bakteryjnych pochodzi najczęściej z masowego namnażania się bakterii endogennych, które w stanie utajonym mogą przetrwać wiele pasaży, a ujawnić się w wyniku zaistnienia czynnika stresowego, np. opóźnienia przeszczepiania, podwyższenia temperatury w pomieszczeniu wzrostowym lub przechowywania w niskiej temperaturze, wtedy, kiedy pojawi się azot organiczny w wyniku reakcji troficznych. Bakterie mogą także znaleźć się w kulturach przez „wpadnięcie" do naczyń wraz z powietrzem laboratoryjnym lub z odzieży czy włosów personelu szczepiącego albo z niedostatecznie wysterylizowanej pożywki. Te ostanie objawiają się głównie, jako kolonie o kształcie soczewki wewnątrz pożywki agarowej, a więc łatwo je rozpoznać. Bakterie, które dostały się z zewnątrz można rozpoznać po tym, że w fazie inicjalnej kolonie powstają w pewnym oddaleniu od eksplantatów ale, jeśli kultury takie nie zostaną usunięte, kolonie bakteryjne rozrosną się i zanieczyszczą także eksplantaty roślinne. Najgroźniejsza sytuacja jest wówczas, gdy pędy przeszczepi się na źle wysterylizowaną pożywkę, wówczas zanieczyszczenie obejmie całą partię kultur. Dlatego jest wskazane, aby kultury przeszczepiać na pożywkę po kilku dniach od autoklawowania, aby bakterie miały czas ujawnić się. Pożywki z tej partii nie należy używać. Najtrudniej jest uniknąć i ograniczyć zanieczyszczenia pochodzące z tkanek roślinnych, żyjące w stanie utajonym. W tym przypadku bakterie są żywe, ale nie namnażają się masowo i nie wyciekają do pożywki roślinnej, a kiedy zaczną się namnażać i staną się widoczne, zanieczyszczenia dotyczą już wielu, a czasem wszystkich kultur.

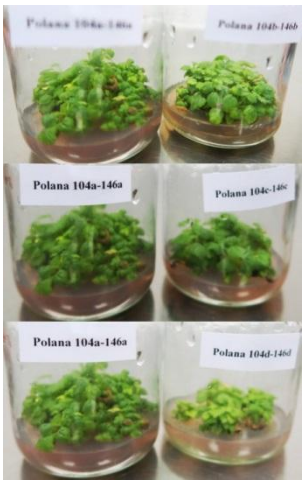
W celu zapobiegnięcia masowemu namnażaniu się bakterii, należy je wyizolować odcinając w czasie przeszczepiania dolne odcinki pędów i wykładając te fragmenty, a także robiąc wymazy z pożywki spod eksplantatu na pożywki bakteryjne, np. NA lub 523. Kultury trzeba oczyścić przez posiewy z pojedynczych kolonii (Fot. 4), a następnie określić ich wrażliwość na biocydy – antybiotyki, PPM^{TM}, NaOCl, wykonując testy antybiogramowe (Fig. 5). Na podstawie wyników testu należy sprawdzić w doświadczeniu na niewielkiej liczbie pędów, czy biocyd, który ogranicza wzrost bakterii nie jest szkodliwy dla rozmnażanej rośliny (Fot. 10). Najczęściej do pożywki do namnażania włącza się preparat PPM ^{TM}, który zabezpiecza przed wyciekaniem bakterii z tkanek do pożywki i rozlewaniem się bakterii na pożywce ale bakterii w tkankach nie niszczy. Ta metoda jest prosta, ale znacznie zwiększa koszty pożywki. Kolejnym biocydem, który najczęściej jest używany i raczej nie jest szkodliwy dla kultur jest antybiotyk rifampicyna (najczęściej stosowany w stężeniu 50 mg/l). Rifampicyna także ogranicza rozlewanie się bakterii ale nie eliminuje ich z pędów. Tu ujemną stroną jest konieczność nabycia krążków testowych i pożywek bakteriologicznych np. NA, 523 i Muller-Hilton oraz konieczność podania antybiotyku po autoklawowaniu, do przestudzonej pożywki. Metodę trzecią można zastosować w stosunku do kultur eksploatowanych przez dłuższy okres. Jak wykazały doświadczenia wykonywane w ramach Programu Wieloletniego, pędy wytworzone na pożywce do namnażania można całkowicie uwolnić od bakterii przez stosowanie biocydów w podciśnieniu wytworzonym przy użyciu pompy próżniowej. Pędy do uwalniania powinny być silne ale nie zestarzałe, np. wycięte z kultur 4–5 tygodniowych.

Należy z nich usunąć liście, poddać infiltracji w roztworze chlorku rtęci w podciśnieniu, przepłukać w sterylnej wodzie i umieścić na pożywce do namnażania. Śmiertelność pędów jest wysoka, 50–70%, ale te, które przeżyją nie wykazują obecności bakterii przez wiele miesięcy, można je zatem użyć do stworzenia czystego matecznika.

Ukorzenianie pędów

Do ukorzeniania należy przeznaczać pędy o wysokości 1,5 do 2 cm, wycinane z kultur 5–6 tygodniowych. Powinny być silne, dostatecznie zdrewniałe, nie uwodnione nadmiernie. Należy z nich usunąć liście dolne, ponieważ, jeśli znajdą się w pożywce może wytworzyć się na nich kalus i korzenie, nie związane z pędem, które odpadną przy sadzeniu do podłoża. Pożywka do ukorzeniania powinna zawierać sole MS i witaminy, a także 50 mg/l FeEDDHA zamiast FeNaEDTA i od 0,5 do 1,5 mg/l IBA. Przez pierwsze 5 dni słoiki z pędami na pożywce do ukorzeniania powinny być umieszczone w ciemności, gdzie następuje inicjacja korzeni a następnie zostać przeniesione pod światło o intensywności ok. 50–60 μmoli m^{-2} sek^{-1}. Ten zabieg pozwala na inaktywację nadmiernej ilości auksyny, która jest niezbędna do inicjacji korzeni, ale po tym okresie utrudnia ich wyrastanie. Ukorzenianie maliny trwa ok. 4 tygodni. Mikrosadzonka powinna mieć kilka, 3–5 korzeni, i być na tyle długa, aby można ją było posadzić pewnie w podłożu (co najmniej 2,5 cm). Na Fot. 6 przedstawiono pięć mikropędów nadających się do ukorzeniania. Sadzonki niskie i z mniejszą liczbą korzeni (Fot. 8) gorzej się aklimatyzują (Fot. 9). W tym czasie na ogół bakterie endogenne nie rozmnażają się nadmiernie, a więc ich ograniczanie przez dodatek biocydów do pożywki nie jest konieczne. Jednak, w przypadku niektórych roślin (i bakterii), jeśli jest ich dużo mogą utrudniać aklimatyzację w podłożu. A więc, jeśli bakterie były bardzo widoczne w kulturach do namnażania i są podejrzenia, że mogą utrudniać ukorzenianie, należy biocydy, np. PPM, włączać także do pożywki do ukorzeniania.

Fot. 9. Mikrorośliny maliny w czasie aklimatyzacji posadzone do skrzynek grupami o jednakowym stopniu ukorzenienia, po 1 miesiącu wzrostu w szklarni



Fot. 10. Wpływ biocydów stosowanych w dwóch kolejnych pasażach na namnażanie maliny odmiany Polana. Kolejno parami: kontrola i rifampicyna 50 mg/l; kontrola i PPM 0,2%; kontrola i PPM 0,4%

Aklimatyzacja do warunków szklarni

Ukorzenione pędy wyjmuje się z agaru, płucze w wodzie dla usunięcia resztek pożywki i przenosi do szklarni lub pomieszczenia aklimatyzacyjnego z oświetleniem. Podłoże do mikrosadzonek nie powinno być wcześniej używane ogrodniczo. Dobrą mieszanką jest torf wysoki z domieszką grubego perlitu (10:1). Podłoże należy zabezpieczyć przed ziemiórką, której larwy mogą wyrządzić duże szkody młodym roślinom oraz przeciw rozwojowi szarej pleśni na liściach. Do podłoża należy dodać nawóz wieloskładnikowy, a potem w odstępach 1 tygodnia stosować nawóz w płynie, np. Cristalon. Mikrosadzonki sadzi się w skrzynkach lub mikroplatach, umieszczając je w tunelikach foliowych ustawionych na parapecie szklarni. W celu przyspieszenia wzrostu mikrosadzonek można stosować opryski Huwasanem, 2–3 w odstępach 7–dniowych. Początkowo, przez ok. 1 tydzień tuneliki powinny być szczelnie zamknięte aby młode liście, które nie mają dobrze wykształconej tkanki okrywającej nie więdły. Po ok. 10 dniach, tuneliki należy stopniowo uchylać, najlepiej rozpocząć tę czynność w godzinach rannych lub w dni pochmurne. Mikrorośliny sadzone wczesną wiosną i jesienią należy doświetlać lampami sodowymi. Należy im stworzyć warunki do szybkiego wzrostu, a więc temperatura powinna być w granicach 18–25^{o}C, naświetlenie o natężeniu umożliwiającym asymilację, dostateczna ilość wody i nawozów mineralnych, Jeśli ich potencjał do szybkiego wzrostu nie zostanie wykorzystany, aklimatyzacja i dalszy wzrost ulegną zahamowaniu. Szklarnia przeznaczona do aklimatyzacji powinna być w dobrym stanie fitosanitarnym, bez upraw towarzyszących, zaopatrzona w cieniowanie, doświetlanie i wentylację oraz z możliwością regulowania temperatury, wówczas rośliny maliny zaaklimatyzują się w 100%. Za roślinę zaaklimatyzowaną należy uznać taką, która rozpoczęła wzrost, ma zielone, sztywne liście, która nie więdnie w czasie słonecznego dnia bez zraszania i która wytworzyła nowe korzenie. Można ją wówczas posadzić do doniczek, wynieść do tunelu ziemnego i szkółkować tak, aby mogła przetrwać zimę. Rośliny, które były posadzone w szklarni latem powinny spędzić zimę w nieogrzewanym tunelu, ponieważ mogą nie być dostatecznie zdrewniałe aby zimować w polu. Rośliny rosnące w polu należy nawozić właściwie, aby wykorzystać ich potencjał do szybkiego wzrostu. W stosunku do tych roślin należy stosować najlepsze praktyki szkółkarskie.

Tabela 1. Pożywki proponowane do mikrorozmnażania maliny

Sole mineralne	Witaminy	Regulatory wzrostu	Sacharoza	Agar
Inicjacja kultur				
½ MS	Lloyd i McCown	BAP 0,5 mg/l	30 g/l; albumina mleczna 250 mg/l	Plant 5,7g/l
Namnażanie pędów				
MS; + $MgSO_4$ 85,45 mg/l; FeEDDHA 50 mg/l zamiast NaFeEDTA	Lloyd i McCown	BAP 0,5-1,5 mg/l ew. IBA 0,05-0,1 mg/l	30 g/l	Plant 6-7 g/l
Ukorzenianie pędów				
MS; FeEDDHA 50 mg/l zamiast NaFeEDTA	Lloyd i McCown	IBA 1 mg/l,	30 g/l	Plant 6 g/l

Literatura

Lloyd G., McCown B. 1980. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurer, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip cultures. Comb. Proc. Int. Plant Prop. Soc. 30: 421-427

Murashige T. Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15: 473-497

Orlikowska T., Sobiczewski P., Zawadzka M., Zenkteler E. 2010. Kontrola i zwalczanie zakażeń i zanieczyszczeń bakteryjnych w kulturach roślinnych in vitro. Biotechnologia 2(89): 57-71

Orlikowska T., Zawadzka M. 2006. Bakterie w kulturach tkanek roślinnych in vitro. Biotechnologia 4(75): 64-77

Sobczykiewicz D. 1984. Mass production of raspberry plantlets through micropropagation and rooting them directly in sand-peat mixture. Fruit Sci. Rep. XI (2): 73-77

Sobczykiewicz D. Micropropagation of raspberry (*Rubus idaeus* L.). W: Bajaj Y.P.S. (ed.). Biotechnology in Agriculture and Forestry, vol. 18. High-Tech Micropropagation II. Springer-Verlag, pp. 339-353

Zawadzka M., Orlikowska T. 2006. The influence of FeEDDHA in red raspberry cultures during shoot multiplication and adventitious regeneration from leaf explants. Plant Cell Tiss. Organ Cult. 85: 145-149

Praca została wykonana w ramach zadania 1.5 Programu Wieloletniego „Działania na rzecz poprawy konkurencyjności i innowacyjności sektora ogrodniczego z uwzględnieniem jakości i bezpieczeństwa żywności oraz ochrony środowiska naturalnego", finansowanego przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi.