

Zadanie 79 Analiza czynników warunkujących organogenezę agrestu (*Ribes grossularia* L.) w kulturach *in vitro* i *in vivo* oraz ocena genetyczna i fenotypowa otrzymanego materiału.

W roku 2014 badania prowadzono w ramach 3 tematów badawczych:

Temat badawczy 1

Analiza czynników warunkujących inicjację kultur agrestu: termin pobierania materiału inicjalnego, rodzaj eksplantatu, sposób odkażania, skład pożywki inicjalnej, oraz określenie stopnia wewnętrznej czystości mikrobiologicznej poszczególnych genotypów.

Celem tematu była inicjacja do warunków *in vitro* 15 genotypów agrestu oraz ocena stopnia obecności bakterii endogennych u poszczególnych genotypów. Materiałem badawczym było 15 genotypów agrestu: 8 odmian ustalonych 'Biały Triumf', 'Pax', 'Invicta', 'Kamieniar', 'Captivator', 'Resika', 'Hinsel', 'Hinnonmaki Rot' utrzymywane w warunkach karkasu i tunelu oraz 7 klonów selekcyjnych hodowli IO: 2/2, 2/33 86, 101, 102, 108, 117, utrzymywane w kolekcji polowej. Materiał inicjalny pobierano w dwóch terminach: pierwszy w miesiącach luty-marzec przed ruszeniem vegetacji z pąków śpiących oraz drugi w miesiącach maj-czerwiec z pąków będących w fazie intensywnego wzrostu. Pobierano dwa rodzaje eksplantatów: pąki wierzchołkowe i pąki boczne. Odkażone pąki wykładano na pożywkę inicjalną o składzie ½ makro- i mikro- elementów MS z dodatkiem BAP oraz albuminy mlecznej. W celu określenia, które eksplantaty są wolne od bakterii endogennych, z dolnych odcinków pędów pobierano fragmenty tkanek i wykładano je na 3 pożywki bakteryjne: PDA, KB oraz NA. Zarówno w terminie zimowym, jak i wiosennym następowały wypadki eksplantatów bezpośrednio po inicjacji kultur, spowodowane w większości zakażeniami powierzchniowymi jak również uszkodzeniami na skutek sterylizacji. Stopień przeżywalności eksplantatów zależał również od rodzaju eksplantatu. Więcej wypadków obserwowano wśród eksplantatów zakładanych z pąków bocznych, co było spowodowane tym, że agrest w pąkach bocznych tworzy rozety liściowe, które nie podejmują wzrostu i zamierają. Pąki boczne w terminie wiosennym wykładano wraz z fragmentem pędu, z którego obserwowano wyciek bakterii endogennych, co również było przyczyną zakażeń. Zaobserwowano bardzo duży wpływ wynikający z różnic odmianowych oraz miejsca utrzymywania roślin donorowych. Spośród badanych genotypów najłatwiej było zainicjować kultury odmian 'Resika' i 'Captivator' oraz klonów 2/2 i 117. Z klonów selekcyjnych utrzymywanych tylko w kolekcji polowej, kultury udało się zainicjować jedynie w terminie zimowym, gdyż w terminie wiosennym zakażenia sięgały 100%. W terminie wiosennym udało się zainicjować kultury jedynie z roślin, utrzymywanych w karkasie i tunelu. Szczególnie przydatne do tego są pąki wierzchołkowe, będące w fazie intensywnego wzrostu. W każdym z badanych genotypów zaobserwowano obecność bakterii endogennych. Spośród trzech pożywek bakteryjnych na pożywce KB zaobserwowano największy stopień wykrywalności bakterii endogennych.

Temat badawczy 2

Zbadanie wpływu makro i mikroelementów zawartych w pożywce na jakość kultur, zdolność podejmowania wzrostu i rozmnażania.

Celem badań był wybór podstawowej pożywki różniącej się składem makro i mikroelementów. Po przejściu okresu stabilizacji kultur podjęte zostały prace nad wytypowaniem optymalnego składu makro i mikroelementów, zapewniającego najlepszy wzrost oraz jakość pędów. Eksplantaty zostały wyłożone na trzy pożywki używane w kulturach *in vitro*: MS, WPM oraz QL bez regulatorów wzrostu, z dodatkiem witamin, sacharozy, agaru Difco Bacto. Wysokość pędów rosnących na trzech badanych pożywkach

była zbliżona, różnice w wysokości pędów były warunkowane genotypem agrestu. Najlepszą jakością tzn. wielkością liści, grubością pędów oraz zielonością wykazywały pędy rosnące na pożywce MS.

Temat badawczy 3

Rola poszczególnych składników pożywki tj. regulatorów wzrostu, cukru i czynnika zestalającego w procesie wzrostu, namnażania, przeciwdziałania wydzielania fenoli a także objawom witrifikacji w kulturach agrestu.

Celem badań było określenie i wybór poszczególnych składników pożywki dla zapewnienia optymalnych warunków wzrostu i namnażania agrestu w kulturach *in vitro* oraz przeciwdziałania objawom witrifikacji i wydzielania się fenoli. Dla wszystkich genotypów agrestu sprawdzano wpływ cytokinin BAP i kinetyny na namnażanie i jakość kultur. Pędy pozostające w obecności BAP dobrze mnożyły się, były zielone i żywotne, jednak następowało zahamowanie wydłużania pędów, tworzyły się zbite, trudne od oddzielenia rozety. Dodatek kinetyny powodował wydłużanie się pędów, ale jednocześnie większy był odsetek pędów brązowych. Na etapie namnażania pędów u niektórych genotypów zaobserwowano zjawisko witrifikacji pędów. W celu eliminowania tego zjawiska eksplantaty wykładano na pożywkę w obecności zredukowanego do 1/2 stężenia jonów azotowych w pożywce MS. U większości genotypów zjawisko to zostało zahamowane. Dla wszystkich genotypów agrestu sprawdzono wpływ rodzaju cukru sacharozy i glukozy na wysokość pędów i jakość kultur. Zarówno pomiary długości pędów, jak też ocena wizualna jakości kultur wskazują, że zastosowany rodzaj cukru nie miał wpływu na kultury *in vitro* agrestu. Badano wpływ czynnika zestalającego pożywkę na wysokość pędów i jakość kultur. Zastosowano agary Plant i Bacto oraz Gerlite. Najniższą wysokość jak również cechy jakościowe wykazywały pędy wyłożone na pożywkę zestaloną agarem Plant. Pędy utrzymywane na pożywce zestalanej Gerlitem były najwyższe, miały najbardziej zielony kolor, a w kątach liści zaobserwowano wzrost pąków kątowych. Dla 4 genotypów agrestu, u których stwierdzono zwiększoną obecność fenoli w pożywce badano wpływ dodatku 10 µm tiosiarczanu srebra (STS). We wszystkich przypadkach czynnik ten ograniczał w sposób znaczący namnażanie pędów i nie wpływał na zahamowanie wydzielania się fenoli.