

### **Zadanie 1.17. Opracowanie technologii produkcji odwirusowanych sadzonek warzyw z zastosowaniem kultur tkanek**

Kierownik zadania: **prof. dr hab. K. Górecka**

Wykonawcy: dr W. Kiszczak, mgr U. Kowalska

Celem badań było opracowanie efektywnej technologii otrzymywania zdrowych sadzonek, ważnych gospodarczo warzyw: chrzanu i rabarbaru.

Pobrane pąki z karp rabarbaru i korzeni chrzanu, przechowywanych w chłodni (+4 °C), sterylizowano w 5% v/v roztworze PPM przez 4 godziny. Po tym czasie z pąków, w sterylnych warunkach, wypreparowano merystemy. Następnie przełożono je na dwie pożywki inicjalne na bazie MS z dodatkiem 30 g/l sacharozy zawierające:

- 1) 0,2 mg/l Kin (kinetyna), 1 mg/l IAA (kwas indolilo-3-octowy), 0,1% v/v PPM (Plant Preservative Mixture),
- 2) 2 mg/l BA (6-benzyloaminopuryna), 1mg/l IBA (kwas indolilo-3-masłowy), 0,1% v/v PPM.

W przypadku pąków rabarbaru i chrzanu otrzymano 95% czystych kultur. Dla merystemów chrzanu bardziej efektywna okazała się pożywka nr 1, większe namnożenie rabarbaru uzyskano na pożywce nr 2.

Następnie określono wpływ pożywki na intensywność organogenezy. Rozety chrzanu przełożono na 7 pożywek na bazie MS z 30g/l sacharozy zawierających:

- 3) 30 mg/l 2iP (2-izopentyloadenina), 0,01 mg/l IAA,
- 4) 5 mg/l TDZ (Thidiazuron), 1 mg/l NAA (kwas naftylo-1-octowy) 10 mg/l TDZ, 1 mg/l NAA,
- 5) 20 mg/l TDZ, 1 mg/l NAA,
- 6) 50 mg/l 2iP, 0,01mg/l IAA,
- 7) 40 mg/l 2iP, 0,1 mg/l IAA,
- 8) 0,2 mg/l BA, 1 mg/l NAA, 0,5 mg/l putrescyny.

Najwięcej prawidłowo wykształconych roślin uzyskano na pożywce z dodatkiem 2iP w stężeniu 30 i 50 mg/l w połączeniu z 0,01 mg/l IAA. Najwięcej nieukorzenionych rozet powstało na pożywce MS z 0,2 mg/l BA, 1 mg/l NAA i 0,5 mg/l putrescyny. W procesie mikrorozmnażania pożądane jest otrzymanie znacznej ilości zaczątków rozet z jednego eksplantatu. Najwięcej ich otrzymano wykładając eksplantat wyjściowy na pożywkę MS z 5 mg/l TDZ, 1 mg/l NAA.

W następnym eksperymencie dokonano wyboru optymalnego eksplantatu inicjalnego chrzanu i rabarbaru do mnożenia *in vitro*. Użyto rozety, liścia i fragmentu liścia. W przypadku chrzanu eksplantaty wyłożono na pożywki o numerach: 4, 5, 6, 9.

Eksplantaty wyjściowe rabarbaru wyłożono na pożywkę MS z dodatkiem 0,2 mg/l BA, 1 mg/l NAA i 0,5 mg/l putrescyny.

Wykorzystując, jako eksplantat, rozetę chrzanu, najwięcej prawidłowo wykształconych roślin otrzymano na pożywce MS z dodatkiem BA (0,2 mg/l), NAA (1 mg/l) i putrescyny (0,5 mg/l). Największą liczbę nieukorzenionych rozet uzyskano na pożywce MS wzbogaconej w TDZ (5 mg/l) i NAA (1 mg/l). W przypadku eksplantatu wyjściowego, jakim jest liść, najintensywniejszy proces organogenezy zanotowano na pożywce MS z dodatkiem BA (0,2 mg/l), NAA (1 mg/l) i putrescyny (0,5 mg/l). Natomiast wykładając fragment liścia, największe namnożenie w postaci ukorzenionych rozet otrzymano na pożywce MS z dodatkiem TDZ w stężeniu 10 mg/l w połączeniu z 1 mg/l NAA. W przypadku rabarbaru, wykładając na badaną pożywkę pojedynczą rozetę uzyskano 100% prawidłowo wykształconych roślin. Nie udało się uzyskać dobrych rezultatów umieszczając na badanej pożywce liście i ich fragmenty. Znaczna część wyłożonych eksplantatów zamarła.