

**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 2017 badania prowadzono w ramach 3 tematów badawczych:

Temat 1: Zbadanie potencjału regeneracyjnego agrestu oraz określenie warunków organogenezy przybyszowej w kulturach *in vitro*.

Celem tematu było sprawdzenie zdolności agrestu do wytwarzania pędów przybyszowych z młodych liści w warunkach kultur *in vitro*.

Badania w 2017 roku były kontynuacją prac wykonanych w roku ubiegłym i obejmowały doświadczenia nad wpływem długości okresu indukcji regeneracji oraz inicjowaniem kompetencji do organogenezy na etapie kultur matecznych. Materiałem do badań było 5 genotypów agrestu: 'Pax' 'Invicta', 'Hinsel', klon 86 oraz klon 2/33. Sprawdzano wpływ długości okresu indukcji przez 7 i 14 dni na pożywkach indukcyjnych z 0,25 oraz 0,5 mg/l tidiazuronu (TDZ) a następnie eksplantaty przekładano pożywki regeneracyjne: pierwsza 0,1 mg/l TDZ, oraz druga 0,5 mg/l meta-topoliny (mT). Kondycjonowanie kultur matecznych prowadzono na pożywce z dodatkiem 0,2 mg/l TDZ przez 30 dni.

Zastosowane kombinacje pożywek nie wpływały jednoznacznie na częstotliwość pojawiania się pędów przybyszowych. Zaznaczyła się zwiększona kompetencja do regeneracji przybyszowej zależna od genotypu. Badane trzy odmiany agrestu, bez względu na zastosowane czynniki, wykazywały bardzo małą zdolność do regeneracji przybyszowej. Wyraźnie więcej pędów przybyszowych wytworzyły klony agrestu 86 i 2/33. Zdecydowanie więcej pędów przybyszowych wytworzyło się po okresie 14-dniowej indukcji regeneracji w porównaniu do 7-dniowej. Pożywka regeneracyjna z TDZ wpływała na zwiększenie wielkości kalusa w porównaniu do pożywki regeneracyjnej z mT. Kondycjonowanie kultur matecznych, na pożywce z TDZ nie wpłynęło na zwiększenie częstotliwości pojawiania się pędów przybyszowych w porównaniu do kontroli na pożywce z mT.

Temat 2: Poznanie reakcji kultur *in vitro* agrestu na stres niskich temperatur oraz wpływ tego czynnika na indukcję procesów rozwojowych.

Celem badań było okresowe przechowywanie kultur w warunkach niskich temperatur i zbadanie wpływu tego czynnika na zdolność przeżywania, podejmowania wzrostu i rozkrzewiania kultur po przeniesieniu do fitotronu.

Materiałem badawczym były ustabilizowane kultury 10 genotypów agrestu. Realizowane w 2017 roku badania były kontynuacją prac wykonanych w roku ubiegłym i obejmowały doświadczenia nad wpływem długości okresu chłodzenia na kultury agrestu w temperaturach 2°C i 4°C. W temperaturze 2°C kultury przebywały przez 2 i 4 i 6 miesięcy. W temperaturze 4°C kultury przebywały przez 6 miesięcy. Oceniano ogólną liczbę pędów, procent pędów nekrotycznych oraz jakość kultur po tym okresie w skali 1-5. W dalszej kolejności sprawdzano zdolność namnażania w I i II pasażu po przeniesieniu do fitotronu.

Odsetek pędów nekrotycznych we wszystkich 3 okresach chłodzenia w temperaturze 2°C był największy u odmiany 'Hinsel' oraz klonu 117, u pozostałych genotypów po 2 i 4 miesiącach znikomy, a po 6 miesiącach zamieranie pędów było większe, jednak w stopniu umożliwiającym odtworzenie kultur w następnych pasażach. Również jakość kultur była wysoka po 2 i 4 miesiącach chłodzenia i obniżyła się dopiero po 6 miesiącach. W I pasażu największy współczynnik namnażania odnotowano po 2 miesiącach chłodzenia z wyjątkiem odmiany 'Resika' i klonu 86. Liczba pędów >1cm była najwyższa w kulturach po 4

miesiącach chłodzenia. Odsetek pędów nekrotycznych był największy po 6-miesięcznym chłodzeniu, jednak tendencja ta nie utrzymała się w kolejnym pasażu. W II pasażu największy współczynnik rozmnażania oraz udział pędów wyższych obserwowano po 4-miesięcznym chłodzeniu kultur w temperaturze 2°C.

Porównując stan kultur agrestu po 6 miesiącach chłodzenia w temperaturach 2°C i 4°C zanotowano wyraźne różnice w jakości kultur. Kultury ośmiu z badanych genotypów przechowywane w temperaturze 2°C były lepszej jakości od kultur przechowywanych w 4°C. Odnotowano wyższą liczbę pędów ogółem oraz niższy odsetek pędów nekrotycznych. Tendencja ta utrzymała się w I pasażu, kiedy kultury po chłodni w 2°C i 4°C porównywano do kontroli przebywającej w fitotronie. W kulturach agrestu po chłodni zaobserwowano większy udział pędów wyższych w porównaniu do kontroli. Najniższy odsetek pędów nekrotycznych wystąpił w kulturach chłodzonych w temperaturze 2°C zarówno w I jak i II pasażu po chłodni w porównaniu do kontroli. W kulturach po chłodzeniu w II pasażu nastąpiło zwiększenie współczynnika namnażania oraz udział pędów wyższych dla większości genotypów.

### Temat 3: Założenie tradycyjnych mateczników i rozpoczęcie oceny fenotypowej otrzymanego materiału w warunkach in vivo.

Celem badań było uzyskanie materiału do założenia doświadczenia porównawczego, pochodzącego z zarówno z kultur in vitro jak i z rozmnożenia tradycyjnego przez sadzonki zielne. Materiałem do ukorzenia w kulturach in vitro były dobrze ukształtowane pędy  $\geq 1$  cm, pochodzące z ustabilizowanych kultur 15 genotypów agrestu. Ukorzenie in vitro prowadzono dwuetapowo. Pierwszy etap przez pięć dni w ciemności na pożywce z auksyną. Drugi etap na świetle na pożywce bez regulatorów. Po ukorzeniu in vitro rośliny poddano aklimatyzacji do warunków szklarniowych. Do rozmnażania tradycyjnego przez sadzonki zielne pobierano wierzchołki młodych, tegorocznych pędów.

Ukorzenie in vitro pędów agrestu udaje się, jeżeli pędy mają wysokość powyżej 1 cm. W zależności od odmiany procent ukorzenia in vitro wynosił od 20 do ponad 90 procent. Aklimatyzacja ukorzenionych in vitro pędów agrestu przebiegała w zależności od odmiany od 50 do 100 procent. Ukorzenie sadzonek zielnych dla wszystkich genotypów prowadzono w tym samym okresie wegetacji w szklarni. Powodzenie ukorzenia agrestu z sadzonek zielnych było zależne od genotypu i wynosiło od 20 do 100 procent. Rośliny z kultur in vitro, które pomyślnie przeszły etap aklimatyzacji odznaczały się dużym wigorem i silnym wzrostem w porównaniu do roślin uzyskanych z sadzonek zielnych. Z uzyskanych sadzonek założono doświadczenie odmianowo – porównawcze w Sadzie Doświadczalnym IO w Dąbrowicach.