



Ocena potencjału regeneracyjnego wybranych genotypów maliny właściwej (*Rubus idaeus* L.) in vitro

WSTĘP

Malina właściwa jest ważnym gospodarczo gatunkiem roślin jagodowych. Pod względem produkcji owoców (120 tys. ton; 2025) Polska plasuje się na 1. miejscu w Europie i 5. miejscu na świecie. Duża popularność uprawy maliny wynika z walorów smakowych owoców, ich wysokiej zawartości substancji bioaktywnych oraz popytu ze strony przemysłu przetwórczego. W produkcji towarowej istotną rolę odgrywa odmiana. Hodowla twórcza maliny stanowi ważną część programów hodowlanych prowadzonych w IO-PIB. Wyzwania stojące przed hodowcami roślin malin to uzyskanie nowych genotypów łączących w sobie pożądane cechy, takie jak odporność na choroby, wysoka jakość owoców oraz długa trwałość pozbiorcza.

Efektywna regeneracja pędów przybyszowych in vitro jest ważnym czynnikiem w procesie ulepszania właściwości odmian roślin uprawnych z wykorzystaniem metod biotechnologicznych, w tym transformacji genetycznej. Regeneracja przybyszowa maliny właściwej w znacznym stopniu zależy od genotypu i nadal jest ograniczona do kilku odmian.

Celem badań była ocena zdolności regeneracyjnych różnych genotypów maliny, odmiany Polana i klonów hodowlanych (L-15 i L-41), pochodzących z programu hodowlanego Zakładu Hodowli Roślin Ogrodniczych IO-PIB.



MATERIAŁY I METODY

Materiałem badawczym były 3 genotypy maliny:

Klon L15 – kod hodowlany BP-202136-02 (Schönemann × Schönemann), o umiarkowanej sile wzrostu i pędach pokrytych kolcami. Owoce duże, o średniej zawartości ekstraktu, antocyjanów, polifenoli i kwasu askorbinowego.

Klon L41 – kod hodowlany BP-202123-02 (Tulameen × M-378 (Glen Ample × Polka)), o umiarkowanej sile wzrostu i pędach pokrytych nielicznymi kolcami. Owoce średniej wielkości, o średniej zawartości ekstraktu, antocyjanów i kwasu askorbinowego oraz wysokiej zawartości polifenoli.

'Polana' – odmiana wyhodowana w Sadowniczym Zakładzie Doświadczalnym w Brzeznej.

Eksplantatami inicjalnymi były **ogonki i blaszki liściowe** pobierane z kultur in vitro, zainicjowanych z pąków kątowych i mnożonych na pożywce MS zawierającej 0,6 mg·L⁻¹ BAP.

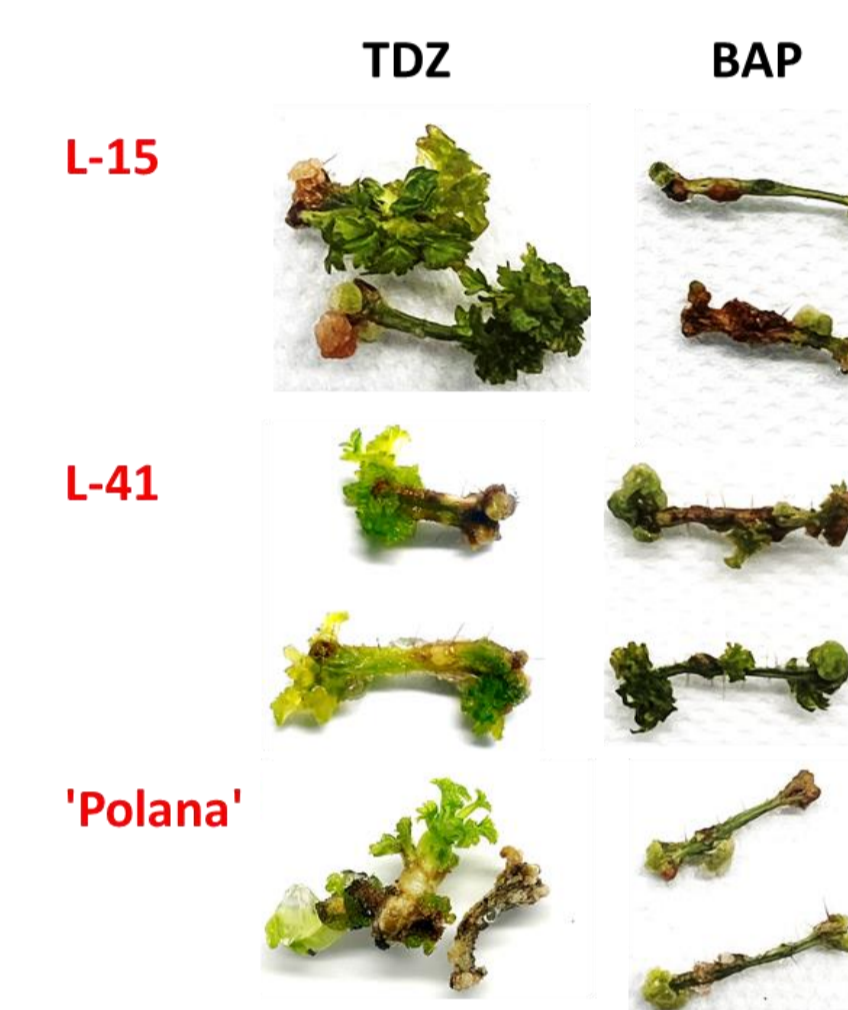
W celu określenia optymalnych warunków efektywnej regeneracji pędów różnych genotypów maliny, zastosowano pożywkę MS i WPM o zróżnicowanym składzie mineralnym, w których standardowy chelat FeEDTA zastąpiono FeEDDHA i zawierającą różne typy i stężenia cytokininy (1 - 2 mg·L⁻¹ BAP; 0,5 - 2,0 mg·L⁻¹ TDZ) podane pojedynczo lub łącznie z auksyną (IAA, IBA lub NAA) w stężeniu 0,2-0,5 mg·L⁻¹. Kultury umieszczono w fitotronie, w temperaturze 23±2°C, 2 tygodnie w ciemności, a następnie 3 tygodnie w świetle emitowanym przez świetlówkę LED (białe ciepłe). Zainicjowane pędy przenoszono na pożywkę uzupełnioną 0,5 mg L⁻¹ BAP w celu uzyskania dalszego rozwoju pędów.

WYNIKI

Doświadczenie 1. Oceniano wpływ pożywki mineralnej oraz rodzaj i stężenie cytokininy na inicjację regeneracji na blaszkach i ogonkach liściowych.

- U wszystkich genotypów po 5 tygodniach wzrostu na pożywce inicjalnej obserwowano tworzenie tkanki kalusowej oraz pojedynczych, drobnych pędów.
- Efektywność regeneracji i rodzaj tworzących się struktur zależało od składu mineralnego pożywki, rodzaju cytokininy i typu eksplantatu
- Wyższą zdolność regeneracyjną obserwowano po zastosowaniu pożywki MS w porównaniu z WPM oraz TDZ w porównaniu z BAP.

Regulator wzrostu (mg·L ⁻¹)	Pożywka mineralna	% eksplantatów żywych i inicjujących regenerację (1. pasaż)					
		L-15		L-41		'Polana'	
		Ogonki	Blaszki	Ogonki	Blaszki	Ogonki	Blaszki
0,5 TDZ	MS	97,6	90,6	87,0	100	75,6	83,3
	WPM	8,3	50	55	16,7	16,7	16,7
1TDZ	MS	88,8	81,6	84,2	83,3	72,9	83,3
	WPM	8,3	50	33,3	16,7	33,3	16,7
2 BAP	MS	42,0	33,3	41,7	100	50	66,7
	WPM	16,7	25	66,6	0	16,7	16,7
0,5 TDZ +1 BAP	MS	73,9	90,2	84,5	100	64,5	90
	WPM	55,5	50	33,3	0	33,3	16,7
2 TDZ	MS	66,7	33,3	58,3	50	35,8	16,7
	WPM	50	16,7	61,1	0	0	0



Doświadczenie 2. Oceniano wpływ auksyny dodanej do pożywki MS zawierającej TDZ na indukcję regeneracji na ogonkach i blaszkach liściowych.

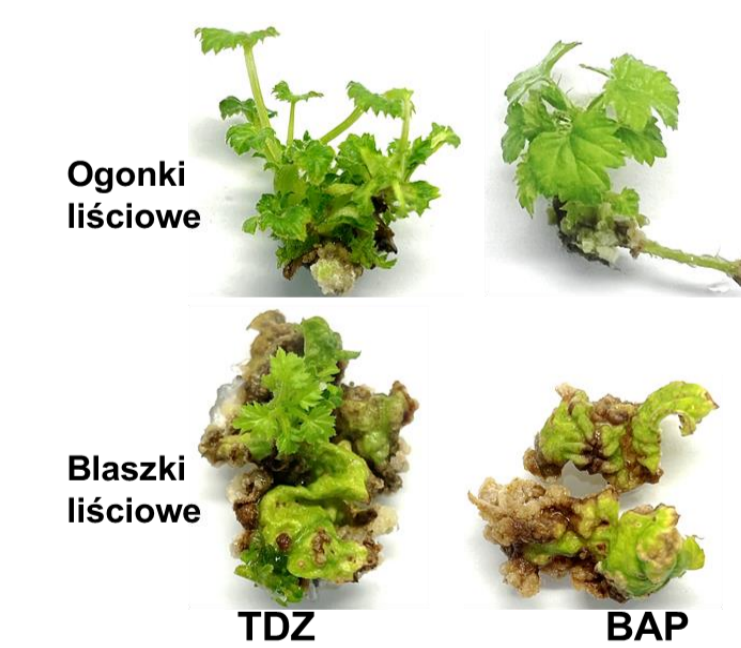
- U wszystkich genotypów maliny auksyna dodana do pożywki z TDZ miała niekorzystny wpływ na procesy regeneracyjne na eksplantatach liściowych
- Niezależnie od typu auksyny, jej obecność wpływała na tworzenie nieorganogenego kalusa i zamieranie eksplantatów.



Doświadczenie 3. Oceniano następczy wpływ pożywki indukcyjnej na tworzenie pędów przybyszowych na pożywce regeneracyjnej zawierającej 0,5 mg·L⁻¹ BAP.

- U wszystkich genotypów maliny obserwowano korzystny następczy wpływ tidiazuronu na tworzenie organogenego kalusa i pędów przybyszowych (6-11 /eksplantat) na ogonkach liściowych umieszczonych w 2. pasażu na pożywce regeneracyjnej.
- Blaszki liściowe cechowały się niższą zdolnością regeneracyjną w badanych warunkach. Po przeniesieniu na pożywkę z BAP większość z nich zamierała, a tylko nieliczne rosnące w 1. pasażu na pożywce z TDZ, tworzyły pojedyncze pędy.

Regulator wzrostu (mg·L ⁻¹)	Rodzaj odpowiedzi	% eksplantatów żywych i regenerujących pędy (2. pasaż)					
		L-15		L-41		'Polana'	
		Ogonki	Blaszki	Ogonki	Blaszki	Ogonki	Blaszki
0,5 TDZ	E. żywe (%)	75	55,5	100	65	85,7	50
	Pędy (%)	75	17,5	75	25	20	0
1TDZ	E. żywe (%)	94,4	33,3	100	16,7	92,8	0
	Pędy (%)	94,4	0	68,2	0	66,7	0
2 BAP	E. żywe (%)	52,8	20	50	8,3	65,2	33,3
	Pędy (%)	50	20	33,3	0	0	0



WNIOSKI

Uzyskanie wysokiej frekwencji indukcji a następnie tworzenia pędów przybyszowych na ogonkach liściowych wskazuje, iż przedstawiona metoda regeneracji przybyszowej z powodzeniem może być wykorzystana w procesie transformacji genetycznej wszystkich badanych genotypów maliny.

Ewentualne wykorzystanie blaszek liściowych jako eksplantatów inicjalnych podczas transformacji wymaga dalszej optymalizacji warunków indukcji i rozwoju pędów przybyszowych.