

**WPLYW DZIAŁAŃ AGENCJI NASIENNEJ SP. Z O.O.
NA ROZWÓJ ROLNICTWA W LATACH 2016-2018
W KONTEKŚCIE WYKORZYSTANIA DO SIEWU ZIEMNIAKÓW
ODMIAN CHRONIONYCH WYŁĄCZNYM PRAWEM**

mgr Monika Kawczyńska

Agencja Nasienna Sp. z o.o., ul. Jana Dekana 6E, 64-100 Leszno

e-mail: monika.kawczynska@agencjanasienna.pl

Streszczenie w części referatowej na stronie 11

**BAKTERIOBÓJCZE DZIAŁANIE PREPARATU PPM
W KULTURACH IN VITRO ZIEMNIAKA**

mgr inż. Dorota Michałowska, dr inż. Agnieszka Przewodowska

mgr inż. Joanna Piskorz, mgr inż. Oksana Olejnik

IHAR-PIB Oddział w Boninie, Pracownia Zasobów Genowych i Kultur in vitro

e-mail: michalowska@ziemniak-bonin.pl

Zanieczyszczenia bakteryjne są dużym problemem w rozmnażaniu in vitro wszystkich gatunków roślin, w tym i ziemniaka. Szczególnie ważne jest to w kulturach wieloletnich, które są podstawą w bankach genów in vitro. Źródła bakterii endogennych zazwyczaj są trudne do określenia, właściwie na każdym etapie mikrorozmnażania może dojść do zanieczyszczenia hodowli in vitro. Prawidłowo przeprowadzona dezynfekcja eksplantatów w początkowej fazie nie wykazuje zanieczyszczeń bakteryjnych i mogą one nie być zauważone (Orlikowska i in. 2012). Objawem świadczącym o obecności bakterii endogennych, pojawiającym się kilka dni po pasażowaniu, jest zmętnienie podłoża pod wyszczepionym eksplantatem i wydzielające się wodniste „halo”. Dezynfekcja eksplantatów umożliwia usunięcie bakterii jedynie z ich powierzchni. Całkowite odkażenie wewnętrznych tkanek jest niemożliwe z powodu fitotoksyczności środków odkażających. Jedynie dodanie do pożywki hodowlanej biocydu może spowodować zahamowanie namnażania się bakterii endogennych.

MATERIAŁ I METODY

Materiał badawczy stanowiły rośliny in vitro 4 odmian: Finezja, Gawin, Harpun i Michalina, pozyskane z banku genów in vitro ziemniaka, w których stwierdzono zanieczyszczenia bakteryjne. Z preparatów dostępnych na rynku wybrano Plant Preservative Mixture™ (PPM™) – miksturę, która jest biocydem o szerokim spektrum zastosowania i jest polecana w hodowli tkanek roślinnych. Stosowana jest przeciw bakteriom i grzybom rosnącym w pożywce, jak i w zanieczyszczonych tkankach. W zależności od dawki i stopnia zakażenia może pełnić funkcje zarówno składnika biostatycznego, jak i środka zapobiegawczego.

Jednowęzłowe eksplantaty przeszczepiano na pożywkę MS (Murashige, Skoog) z dodatkiem preparatu bakteriobójczego. Standardowa pożywka MS z dodatkiem witamin, hydrolizatu kazeiny, myo-inozytolu, sacharozy i zestalona agarem (0,4%) z pH ustalonym na

poziomie 5,8 została poddana sterylizacji parą wodną w autoklawie z zachowaniem parametrów procesu, tj. temp. 121°C, ciśnienie 0,2 MPa i czas 15 minut. Do sterylnej pożywki, za pomocą filtrów strzykawkowych, pod komorą laminarną, dodano ustalone dawki preparatu: 0,3%, 0,4% i 0,5%.

Kultury *in vitro* utrzymywano w fitotronie z zachowaniem fotoperiodu 16 godz. dzień w temp. 22°C, oświetleniu 8 W·m² i 8 godz. noc w ciemności w temp. 20°C przez 4 tygodnie. Pierwszą obserwację kultur każdej serii wykonywano trzeciego dnia po wyszczepieniu eksplantatów. Do siódmego dnia dokładnie można zaobserwować wystąpienie mgielek wskazujących na obecność bakterii endogennych. Przez kolejne tygodnie opisywano wzrost i rozwój roślin *in vitro*, zwracając szczególną uwagę na skuteczność i fitotoksyczne działanie zastosowanego preparatu. Doświadczenie wykonano w czterech powtórzeniach, każdorazowo pasażując po 15 roślin dla każdej kombinacji oraz kontrolę.

WYNIKI

Dodany do podłoża preparat PPMTM w różnych dawkach nie wykazywał fitotoksycznego wpływu na wyszczepione eksplantaty, które rozwijały się prawidłowo i dobrze się korzeniły. Nawet najniższa dawka 0,3% w dużym stopniu eliminowała bakterie endogenne – 78,35%. Wyższe dawki – od 0,4% – to 100% kultur wolnych od zanieczyszczeń bakteryjnych (tab. 1).

Tabela 1

Procent kultur *in vitro*, w których wizualnie nie stwierdzono bakterii endogennych w zależności od zastosowanej dawki biocydu (średnia z 4 cykli)

Biocyd	Dawka (%)	Procent "czystych" kultur <i>in vitro</i> w odmianach				
		Finezja	Gawin	Harpun	Michalina	średnio
PPM TM	0,0	48,4	23,8	52,0	16,9	35,28
	0,3	100,0	60,0	66,7	86,7	78,35
	0,4	100,0	100,0	100,0	100,0	100,00
	0,5	100,0	100,0	100,0	100,0	100,00

Dodatkowo sprawdzono trwałość efektu zastosowanego we wcześniejszych pasażach biocydu PPMTM na dalszych etapach mikrorozmnażania. Do badań wykorzystano rośliny *in vitro*, w których stwierdzono ograniczenie zanieczyszczeń po zastosowaniu preparatu w badanych dawkach. Zaobserwowano, że tylko fragmenty szczytowe były wizualnie czyste, tzn. nie zauważono zmętnienia podłoża. Pozostałe fragmenty były zanieczyszczone bakteriami endogennymi.

WNIOSKI

1. Preparat PPMTM w badanych dawkach eliminował zanieczyszczenia bakteryjne w 78,35-100%, nie wykazując fitotoksycznego działania na rośliny *in vitro*.
2. Należy sprawdzić, po ilu pasażach zastosowane dawki PPMTM wyeliminują bakterie endogenne z kultur ziemniaka *in vitro*.

LITERATURA

1. Hegggers J. P., Cottingham J., Gusman J., Reagor L., McCoy L., Carino E., Cox R., Zhao J. G. 2002. The effectiveness of processed grapefruit seed extract as an antibacterial agent: II. Mechanism of action and *in vitro* toxicity. – J. Altern. Komplement. Med. 8(3): 333-340