



# Kriogeniczny Bank Genów historycznych odmian jabłoni w PAN Ogrodzie Botanicznym - CZRB w Powsinie

Konrad Woliński, Maciej Niedzielski, Wiesław Podyma, Jerzy Puchalski

## Wprowadzenie:

Od 2009 roku w PAN Ogrodzie Botanicznym - Centrum Zachowania Różnorodności Biologicznej w Powsinie, przechowywane są długoterminowo historyczne odmiany jabłoni (*Malus x domestica* Borkh.). Do tego celu posłużono się technikami kriogenicznymi, zamrażając pąki spoczynkowe w ultraniskiej temperaturze par ciekłego azotu ( $-160^{\circ}\text{C}$ ). W banku kriogenicznym znajduje się obecnie 207 starych odmian tego gatunku.

W ramach prowadzonych prac badano skutki zamrażania dla każdej z wybranych odmian, poprzez szacowanie stopnia uszkodzeń tkanek na podłużnych przekrojach pędów i pąków. Końcowym testem efektywności przyjętej metody była ocena wyników okulizacji rozmrożonych pąków na skarłających podkładkach sadowniczych (M 26).



## Metodyka:

Jednoroczne pędy z pąkami śpiącymi zbierano zimą (styczeń), w momencie spoczynku fizycznego roślin oraz oddziaływania ujemnych temperatur [1]. Pędy poddawano fragmentacji na odcinki długości ok. 1,5 cm z jednym pąkiem śpiącym. Wybierano jedynie najlepiej wykształcone, ze środkowej sekcji pędu i tylko te przeznaczano do dalszego wykorzystania. Następnie pąki suszono do 30% zawartości wody [2]. Czynność tę prowadzono w komorze w stałej temperaturze  $-4^{\circ}\text{C}$ , przez różny, właściwy dla odmiany okres czasu. Stopień odwodnienia kontrolowano za pomocą codziennych pomiarów masy suszonych fragmentów. Po osiągnięciu oczekiwanego poziomu wilgotności i zapakowaniu do kriofiolek [3], przystępowano do właściwego procesu zamrażania. Pąki zamrażano od  $0^{\circ}\text{C}$  do  $-10^{\circ}\text{C}$  z szybkością  $0,1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ , po osiągnięciu wymaganej temperatury po 15 minutach kontynuowano obniżanie temperatury do  $(-35^{\circ}\text{C})$  przy tej samej szybkości schładzania [4]. Próbki w tej temperaturze przechowywano przez 24 godziny. Po upływie tego czasu próbki przenoszono do zbiorników przechowalniczych i utrzymywano w fazie gazowej ciekłego azotu [5]. Próbki kontroli, przygotowane w celu sprawdzenia efektywności zamrażania, po 3-6 tygodniach rozmrażano i oceniano żywotność pąków oraz ich zdolność regeneracji. Pąki rozmrażano w łaźni wodnej o temperaturze  $37^{\circ}\text{C}$  przez 5 minut [6]. Po rozmrożeniu fragmenty pędów uwadniano przez umieszczenie ich w wilgotnym torfie w temperaturze  $2^{\circ}\text{C}$  na 10 dni. Zdolność regeneracji oceniano przez okulizację pąków na podkładkach wegetatywnych (M 26) szczepiąc po 6 pąków z każdej odmiany [7]. Regenerację pąków na podkładkach obserwowano do października następnego roku [8].



## Wyniki i podsumowanie:

Pozytywne wyniki regeneracji, uzyskano dla niemal 75% odmian. W odniesieniu do pąków okulizacja przyniosła pozytywne rezultaty dla bez mała 39%. W najlepszym pod tym względem sezonie 2015/2016 zregenerowano 86% odmian, przy regeneracji pąków na poziomie 55,5%.

Obserwowany jest przy tym wyraźny wpływ proveniencji odmian na zdolność do zachowania przez nie żywotności na wysokim poziomie. Pąki odmian wywodzących się z zachodu Europy posiadały średnio mniejszą zdolność do regeneracji na podkładce oraz prezentowały więcej uszkodzeń na przekrojach poprzecznych w porównaniu z odmianami wschodnioeuropejskimi. Podobnie negatywny wpływ na zachowanie żywotności ma niekorzystny przebieg temperatury w okresie poprzedzających zbiorów (niestabilna pogoda, odwilż, brak odpowiednich termicznych warunków zimowych). Przekładają się one na niewłaściwe zahartowanie materiału, które ma podstawowy wpływ na niepowodzenie w przechowywaniu kriogenicznym pąków. Z tego też powodu okres zbioru materiału jest stosunkowo krótki, ogranicza się do stycznia i pierwszych dni lutego, a obserwacja warunków termicznych ma kluczowe znaczenie dla osiągnięcia pozytywnego efektu.

Wyniki z 8 sezonów prowadzenia kolekcji kriogenicznej pozwalają stwierdzić, że głębokie zamrażanie i przechowywanie pąków jabłoni w ultraniskich temperaturach par ciekłego azotu jest metodą skuteczną i odpowiednią dla większości odmian jabłoni. Kolekcja kriogeniczna wyróżnia się przy tym zdecydowanie mniejszymi nakładami finansowymi związanymi z jej obsługą w porównaniu z tradycyjnym sposobem ochrony odmian roślin owocowych (sad kolekcyjny). Cechuje się także wysokim stopniem odizolowania materiałów w niej zgromadzonych od niekorzystnych czynników otoczenia oraz korzystną miniaturyzacją, pozwalającą na przechowywanie kilkudziesięciu odmian w relatywnie niewielkim zbiorniku. Opracowana i sprawdzona w działaniu metodyka pozwala zaś na szybkie i skuteczne włączanie nowych obiektów do kolekcji.

