

CERCETĂRI PRIVIND ÎNMULȚIREA ZMEURULUI ȘI MURULUI PRIN METODE CLASICE ȘI MODERNE

Sava Nina

REZUMAT

Cuvinte cheie: multiplicare, biotehnologie. zmeur. mur, butași

Multiplicarea zmeurului și murului fără ghimpi este o activitate importantă și trebuie să se facă pe baze științifice numai în unități specializate. În urma cercetărilor efectuate s-au desprins o serie de concluzii, importante pentru practica pomicolă. S-au studiat soiuri mai noi de zmeur și mur fără ghimpi, iar obiectivele stabilite la începutul cercetărilor au fost realizate în totalitate.

Înmulțirea prin drajoni se practică la speciile care formează muguri adventivi pe rădăcină. În timpul vegetației din acești muguri se formează lăstari cunoscuți sub numele de drajoni. Drajonii, stadial sunt juvenili deoarece se formează din meristeme secundare (periciclul). Juvenilitatea acestor drajoni se exprimă printr-o vitalitate pronunțată, capacitate mare de a forma rădăcini adventive și țesuturi meristematice. Cercetările din practica pomicolă au scos în evidență anumite măsuri tehnologice pentru a spori numărul de muguri adventivi de pe rădăcină. Numărul mugurilor adventivi de pe rădăcină poate spori considerabil, ceea ce atrage după sine un număr mare de drajoni. Dacă sistemul radicular este ușor rănit înainte de pornirea în vegetație.

Cultivarea in vitro a materialului vegetal (țesuturi meristematice, celule, embrioni somatici) prezintă numeroase avantaje, dintre care cel mai important este acela de a asigura o rată de multiplicare ce nu poate fi atinsă de nici una dintre metodele tradiționale.

Prin această modalitate, la multe specii de cultură, în special la plantele ornamentale, pomi și arbuști fructiferi și arbori, se asigură multiplicarea în masă și rapidă a noilor soiuri, ceea ce poate permite chiar schimbarea rapidă a sortimentului existent.

Cercetările cu privire la extinderea în cultură a unor soiuri valoroase de zmeur și mur prin metode convenționale și prin biotehnologie au vizat o serie de obiective clare, precise, cu șanse sigure de realizare.

Principalele obiective ale acestei cercetări au fost următoarele:

verificarea răspunsului unor soiuri de zmeur și mur fără ghimpi la înmulțirea in vitro.

precizarea mediului de cultură, care asigură multiplicarea inoculului inițial și formarea lăstarilor,

stabilirea hormonilor care asigură multiplicarea implantului și a concentrației acestora,

- efectuarea înrădăcinării lăstarilor obținuți in vitro concomitent cu aclimatizarea,
- testarea unor metode de înrădăcinare a lăstarilor obținuți in vitro,
- stabilirea ratei de multiplicare a noilor soiuri,

Obiectivele cu privire la înmulțirea prin metode convenționale au fost următoarele:

cercetarea unor metode convenționale cunoscute și mai puțin aplicate în multiplicarea zmeurului și murului,

influența substratului de înrădăcinare și a substanțelor cu acțiune rizogenică asupra procentului de înrădăcinare și dezvoltării sistemului radicular.

stabilirea momentului optim de efectuare a operațiunilor de multiplicare vegetativă a zmeurului și murului.

pretabilitatea soiurilor studiate la înmulțirea vegetativă.

stabilirea celei mai simple și eficiente metode convenționale de multiplicare.

Experiențele de laborator s-au desfășurat în laboratorul de microînmulțire de la Facultatea de Biotehnologie din București. Laboratorul specializat în biotehnologii vegetale este dotat cu aparatură modernă specifică acestui sector de activitate și dispune de cadre didactice și cercetători foarte bine pregătiți.

Cercetările de câmp au fost efectuate la societatea S.C. FRASINU S.A. Buzău, care este așezată în partea de sud a municipiului Buzău, pe soseaua Sloboziei, la km2.

Materialul biologic luat în studiu a fost reprezentat de 5 soiuri de zmeur, dintre care unul creat în România și 3 soiuri de mur fără ghimpi: două soiuri recent create comparate cu un soi cunoscut cu mult timp în urmă și greu de egalat din punct de vedere al însușirilor biologice și tehnologice.

Cercetările au fost efectuate în perioada 2010-2012 și s-au derulat pe două direcții. O primă direcție de cercetare a vizat multiplicarea zmeurului și murului prin metode de laborator (prin biotehnologie), iar cea de-a doua direcție a fost orientată către multiplicarea zmeurului și murului folosind metodele convenționale. Astfel, cercetarea de laborator s-a derulat în laboratorul de microînmulțire de la Facultatea de Biotehnologie din București, iar pentru verificarea metodelor convenționale de multiplicare s-a folosit baza tehnică și materială a societății S.C. Frasinu S.A din Buzău. Unitatea situată în imediata vecinătate a orașului Buzău, are profil agro-zootehnic și dispune de parcele experimentale cu teren foarte fertil, solarii și sere prevăzute cu parapeți de înrădăcinare și mese pentru cultura hidroponică. cameră climatică, sistem de irigat prin picurare, o livadă cu pomi columnari și forță de muncă calificată.

Pentru experiențele de laborator s-a testat pentru faza de inițiere mediul de cultură Murashig&Skoog în 3 variante pentru a stabili mediul care asigură cea mai bună evoluție a explantelor. Diferența dintre cele 3 variante de mediu de cultură a fost dată de concentrația regulatorului de creștere BAP. Prima variantă de mediu (V1) a conținut 0.1 mg/l BAP. cea de-a doua variantă de mediu (V2) a conținut 0.5 mg/l BAP. iar cea de-a treia variantă de mediu (V3) a conținut 1 mg/l BAP.

Multiplicarea denumită și faza de înmulțire a fost faza în care călușul a format lăstari tineri.

Pentru faza de multiplicare s-a folosit tot mediul de cultură Murashig & Skoog la care s-au adăugat următoarele substanțe: mio-inozitol -100 mg/l. vitamina B1 (tiamină) - 1 mg/l. acid nicotinic (vitamina B3) - 0.5 mg/l. vitamina B6 (piridoxină). zaharoză - 30 g/l, agar - 6 g/l, benzilaminopurina (BAP) - 1 mg/l, acid indolil butiric (IBA) - 0.1 mg/l, acidul giberelic (GA3) - 0,1 mg/l. Valoarea pH-ului a fost corectată la valoarea de 5.8. Această fază a durat aproximativ 3 săptămâni, iar temperatura din camera de creștere a fost de 21-24°C. La sfârșitul acestei faze lăstarii au ocupat tot spațiul din vas. după care s-a trecut la separarea lăstarilor și înrădăcinarea lor odată cu aclimatizarea.

Înrădăcinarea lăstarilor. Înrădăcinarea lăstarilor formați se poate face și pe mediu de cultură dar și în ex vitro. Eu am preferat să fac înrădăcinarea în ex vitro având în vedere că am lucrat cu o specie care înrădăcinează foarte ușor. dorind să scurtez și perioada de obținere a materialului.

Înrădăcinarea s-a făcut concomitent cu aclimatizarea. Am experimentat 3 modalități de înrădăcinare a lăstarilor: - înrădăcinarea lăstarilor în ghivece tip Jiffy introduse în camera de creștere. înrădăcinarea în ghivece tip Jiffy amplasate în seră pe platforma de înrădăcinare și înrădăcinarea lăstarilor în cultură hidroponică. Umiditatea din seră a fost asigurată de instalația de produs ceață artificială, care a funcționat timp de 2 secunde la 30 minute. Temperatura din această etapă a fost menținută la valoarea de 20-22 °C. iar rădăcinile au început să apară după 10-12 zile la cultura hidroponică și după 15 zile în ghivecele de tip Jiffy. La cultura hidroponică lăstarii au fost plantați în ghivece din material celulozic umplute cu perlit. după care ghivecele au fost așezate pe soluția de nutriție.

Toate cele 3 metode de înrădăcinare au fost experimentate în varianta fără hormoni de înrădăcinare și cu hormoni de înrădăcinare. Produsul folosit ca hormon de înrădăcinare a fost produsul Bioroots aplicat sub formă lichidă prin pulverizare imediat după plantarea butașilor, la concentrația recomandată de producător de 0.5 %. Produsul se aplică o singură dată. iar la sistemul hidroponic se introduce în soluția nutritivă.

în cadrul experiențelor de câmp s-a verificat comportarea la înmulțire a zmeurului și murului fără ghimpi în cazul folosirii anumitor metode. Astfel, la zmeur s-a testat comportarea celor 5 soiuri la înmulțirea prin drajoni maturi. înmulțirea prin drajoni tineri. înmulțirea prin butași verzi. Pentru a pune în evidență potențialul de formare a drajonilor maturi la zmeur. la intrarea plantelor în repaus s-a procedat la evaluarea drajonilor formați. Cu cât plantele au mai mulți ani de vegetație cu atât crește numărul de drajoni. în cazul experienței mele plantele au avut vârsta de 3 ani în momentul evaluării. Capacitatea fiecărui soi de a forma drajoni a fost pusă în evidență prin scoaterea manuală a tuturor plantelor formate.

Analizând rezultatele obținute în faza de inițiere la soiul Citria se observă că s-a pornit de la un material inițial (fragment uninodal) cu o greutate medie cuprinsă între 24.6 mg și 63.6 mg și s-a obținut un calus cu o greutate medie cuprinsă între 74.8 mg și 215.1 mg.

Rata de multiplicare (media/repetiție) a înregistrat valoarea minimă de 170.2 %. în timp ce valoarea maximă a fost de 218.0 % . media ratei de multiplicare pe soi fiind de 15.5.

La soiul Citria rata medie de multiplicare (media repetițiilor) a înregistrat valoarea de 197.5 %. ceea ce demonstrează că mediul de cultură folosit a stimulat evoluția materialului inoculat.

în baza studiului comparativ a valorilor înregistrate la cele 5 soiuri de zmeur s-a constatat că greutatea inițială a inoculului folosit la inițierea culturii a realizat creșteri mari sub influența mediului de cultură.

Rata de multiplicare a soiurilor studiate a înregistrat valori cuprinse între 196.2 % (Norna) și 216,9 (Willamette). Soiurile pot fi ierarhizate în funcție de rata de multiplicare astfel: Norna (196.2 %). Heritage (197,2%), Citria (197,5). Polka (205.2 %) și Willamette (216.9 %).

în ceea ce privește rata de multiplicare, soiul Orkan a depășit valoarea martorului cu 22.6 %. în timp ce soiul Silvan a fost depășit de martor cu 7.2 %. Față de media de multiplicare a soiurilor, tot soiul Orkan a avut valoare pozitivă a ratei de multiplicare, depășind cu 17.5 % media.

Faza de multiplicare a început odată cu trecerea călușului de pe mediul de inițiere și stabilizare pe mediul de multiplicare. La sfârșitul fazei de inițiere, călușul a fost scos din vasele de experimentare, clătit cu apă distilată și pasat de mediul de multiplicare din varianta VI. care a conținut hormoni de creștere.

Benzii aminopurina (BAP) este un regulator de creștere cu acțiune citochininică care stimulează diviziunea celulară.

Acidul indolilbutiric (IBA) are rol în stimularea proceselor de diviziune celulară și elongație a celulelor, controlează procesele de dominanță apicală. modifică permeabilitatea membranelor

celulare. Acidul giberelic (GAS) stimulează de asemenea diviziunea celulară, favorizează regenerarea lăstarilor, stimulează formarea lăstarilor axilari. întârzie instalarea senescenței celulelor și stimulează creșterea conținutului de clorofilă.

Față de soiul Citria. considerat martor, soiul Heritage a format un număr mare de lăstari buni de înrădăcinare, procentul fiind cu 85.5 % superior martorului. Soiul Willamette a realizat 65.6 lăstari pe soi. cu 44.6 % mai mult față de martor. Un soi cu capacitate ridicată de a forma lăstari a fost și soiul Polka și Norna. formând mai mulți lăstari față de martor cu 72.7 %, respectiv 63.5 % (145,19 %). Soiul Polka a format 78.6 lăstari, cu 33.1 mai mulți față de soiul martor.

Dintre cele 5 soiuri studiate, soiurile Heritage. Willamette. Norna și Polka au înregistrat valori mult mai mari față de soiul martor (Citria).

La murul fără ghimpi numărul lăstarilor apți de înrădăcinare a fost mai mare față de specia zmeur, valoarea minimă a numărului de lăstari situându-se aproape de nivelul maxim înregistrat la zmeur. Pe inocul s-au obținut 3.3 lăstari la soiul Thorn Free. considerat martor și 3.7 lăstari la soiul Orkan. în timp ce soiul Silvan a avut valoarea de 3.1 lăstari. Martorul a fost depășit numai de soiul Orkan. Soiul Silvan a format față de martor cu 4.7 % mai puțini lăstari, iar soiul Orkan a format cu 12,6 % mai mulți lăstari.

Lăstarii obținuți in vitro au fost scoși din vasele de cultură, clătiți cu apă distilată și pregătiți pentru înrădăcinare.

Lăstarii obținuți pe mediul de cultură au fost condiționați pe două categorii de lungime: - 2-3 cm și 3-5 cm. La varianta V2 de înrădăcinare a zmeurului în camera de creștere, lăstarii de 2-3 cm lungime au avut în medie un procent de înrădăcinare de 82.5 %. iar lăstarii de 3-5 cm lungime au avut un procent mediu de înrădăcinare de 85.3 %.

Această scădere a procentului de înrădăcinare poate fi explicată printr-un control mai slab al factorilor de vegetație din seră.

În cadrul acestui sistem procentul de lăstari înrădăcinați a fost foarte ridicat în ambele variante. La varianta cu soluție nutritivă fără hormoni de înrădăcinare procentul de lăstari înrădăcinați a fost de 95.7 % pentru lăstarii de 2-3 cm și de 96.4 % pentru lăstarii de 3-5 cm.

Adăugarea produsului Bioroots în soluția nutritivă a crescut procentul de lăstari înrădăcinați, dar procentul de creștere a fost redus. La varianta V2 procentul de înrădăcinare a avut valori ridicate fiind apropiate de 100 %.

La murul fără ghimpi sistemul hidroponic a asigurat o înrădăcinare a lăstarilor de 2-3 cm într-un procent mediu de 97,5 % (VI) și de 99.2 % (VI) în cazul lăstarilor de 3-5 cm lungime. La

varianta V2 între cele două categorii de lungime a lăstarilor nu a existat diferență, procentul de înrădăcinare fiind de 100 %.

La înmulțirea zmeurului prin drajoni maturi, soiurile Norna și Polka au format cel mai mare număr de tulpini, urmate foarte aproape de soiul Willamette, iar cel mai mic număr de tulpini l-a format soiul Heritage și Citria. Cu toate acestea chiar la soiurile care au format mai puține tulpini rezultatele sunt bune și pot fi luate în considerare de producătorii de material săditor din aceste soiuri. Numărul de drajoni ce pot fi obținuți la hectar este cuprins între 44.328 buc. (Heritage) și 68.659 buc. (Polka). Cele 5 soiuri au avut un potențial mediu de producție de tulpini, de 57.860 buc. / ha. înmulțirea prin drajoni tineri a început prin tăierea tulpinilor de la suprafața solului. Ca urmare, numărul drajonilor apăruiți la suprafața solului a fost mare. Soiul Willamette a format 23 de drajoni, iar soiurile Heritage și Polka au format în medie 21 de drajoni. Soiul Norna a format cel mai mic număr de tulpini. Numărul mediu de drajoni tineri ce pot fi obținuți la hectar se cifrează la 65.259 buc. După detașarea drajonilor de planta mamă s-a făcut mocirlirea acestora și plantarea imediată la locul de producție, conform distanțelor de plantare. Observațiile au continuat pentru a preciza și procentul de prindere a noilor drajoni. Prinderea a fost foarte bună în proporție de 100 % la toate soiurile. Acest procent ridicat de prindere s-a explicat prin faptul că flecare drajon a prezentat și o porțiune de rădăcină de la planta mamă, care a absorbit imediat apa din sol. De asemenea mocirla din jurul rădăcinii și udarea de la plantare a asigurat o umiditate corespunzătoare și suficientă pentru a menține turgescența drajonului și a favoriza creșterea noilor rădăcini.

Înmulțirea prin butași verzi la zmeur s-a făcut în seră pe substrat de nisip. Nisipul de râu a asigurat un procent mediu de înrădăcinare a butașilor verzi de 73 %, valoarea minimă fiind înregistrată de soiul Polka (59.4 %), iar cea maximă de soiul Heritage (89.2 %). Sub influența hormonului de înrădăcinare, procentul de butași înrădăcinați a crescut la 90.2 %.

La varianta simplă de înrădăcinare a butașilor verzi numai soiul Heritage a depășit martorul cu 10.8 %. Ca urmare a aplicării substanței de înrădăcinare, trei soiuri au depășit martorul cu procente cuprinse între 0.5 % (Norna) și 8.5 % (Willamette).

La cele 3 soiuri de mur fără ghimpi s-a experimentat multiplicarea prin butași, minibutași și butași de ochi (uninodali). S-au experimentat două substraturi de înrădăcinare. Primul substrat a fost reprezentat de un amestec între nisipul de râu și turbă în proporții egale, iar cel de-al doilea substrat a fost un amestec în proporții egale între nisip de râu și perlit.

Butășii au avut dimensiunea de 30 cm, minibutașii de 15 cm, iar butășii uninodali au cuprins un singur mugur cu 2-3 cm din tulpina mamă, situați la partea inferioară a mugurului.

Butașii și minibutașii au fost plantați în rânduri la 5 x 4-5 cm (400-500 butași/m²).

Deși nu este o specie reticentă la emiterea de rădăcini adventive am studiat și efectul substanței Bioroots asupra înrădăcinării.

Experiențele au fost efectuate în condiții de solar pe pat de înrădăcinare efectuat la nivelul solului. Nefiind o specie pretențioasă față de temperatură și substrat am procedat la valorificarea condițiilor de vegetație din solar. Rezultatele obținute au fost foarte încurajatoare și pot fi extinse la scară largă. Diferențele mici dintre procente de înrădăcinare înregistrate între cele două substraturi pot fi puse pe seama fertilității amestecului, turba fiind amestecată din fabricație cu un adaos nutritiv. Astfel, procentul de înrădăcinare al butașilor în cazul amestecului din nisip și turbă a fost în medie de 88.6 % și de 97.1 % când s-a aplicat produsul Bioroots. Același tip de butași, puși într-un amestec de nisip și perlit au înrădăcinat într-un procent de 86,2 % când substratul nu a conținut hormon de înrădăcinare și de 95.7 % când s-a aplicat Bioroots.

Între soiuri au existat diferențe foarte mici legate de procentul de înrădăcinare.

Minibutașii au fost plantați cu mugurul superior la nivelul substratului și au avut lungimea de 15 cm. Substratul format din nisip și turbă a asigurat un procent mediu de înrădăcinare a celor trei soiuri de 84,2 % și 88.9 %. Substratul din nisip și perlit a condus la înrădăcinarea medie de 87,2 % și 98.1 % (când se folosește hormonul de înrădăcinare).

Ținând cont de capacitatea de formare a rădăcinilor la specia mur am experimentat disponibilitatea acestuia de a forma rădăcini atunci când este fasonat foarte scurt. Pentru acest experiment am folosit aceleași substraturi de cultură, numai că butașii au avut un singur nod (un singur mugur). Înainte de plantare, butașii de ochi au fost umectați și ținuți în pungi timp de 7 zile la temperatura de 24-26 °C. În acest interval de timp pe butașii de ochi s-au format primordiile de rădăcini și numai după aceasta s-au plantat.

Plantarea s-a făcut prin așezarea butașilor pe suprafața substratului de înrădăcinare, care s-a acoperit cu un strat fin din același substrat. S-a făcut udarea corespunzătoare, iar temperatura și umiditatea s-a asigurat în parametrii optimi. Când plantele au ajuns la înălțimea de cca 5 cm s-au făcut primele investigații cu privire la procentul de înrădăcinare.

În acest caz nu s-a aplicat hormon de înrădăcinare, deoarece în momentul plantării toți butașii de ochi au avut primordii de rădăcini inițiate.

Prin această metodă pe ambele substraturi de înrădăcinare, butașii au înrădăcinat într-un procent foarte mare cuprins între 98,7-100 %. Substratul format din nisip și turbă a asigurat un procent de înrădăcinare de 100 % la soiul Silvan și Thorn Free. Această metodă permite înrădăcinare butașilor aproape de 100 %, oferind cel mai ridicat randament.