

## Sprawozdanie za 2018 rok – streszczenie

### **Zadanie 1.5. System oceny jakości, zdrowotności, czystości odmianowej i tożsamości genetycznej roślin ogrodniczych rozmnażanych metodą *in vitro***

**Kierownik zadania:** dr A. Wojtania

Pozostali wykonawcy: dr hab. M. Cieślińska, dr J. Góraj-Koniarska, dr W. Kiszczak, mgr U. Kowalska, dr D. Kucharska, dr T. Malinowski, dr hab. A. Marasek-Ciołakowska, mgr M. Markiewicz, dr hab. B. Matysiak, dr hab. M. Podwyszyńska i inni.

Cel badań:

Celem badań prowadzonych w 2018 roku była aklimatyzacja w warunkach *ex vitro* oraz ocena zdrowotności, stabilności genetycznej i kondycji fizjologicznej mikrosadzonek truskawki, maliny, jagody kamczackiej i czosnku pochodzących z rozmnażania metodą *in vitro*.

Opis zrealizowanych prac:

1) Wykazano, że na efektywność ukorzenia i aklimatyzacji mikrosadzonek w warunkach *ex vitro* badanych genotypów wpływają warunki ich wzrostu podczas ostatniego pasażu *in vitro* (skład mineralny pożywki, rodzaj i stężenie auksyny, obecność biocydów) oraz rodzaj sadzonki, podłoża, sposób aplikacji ukorzeniacza i nawożenie mineralne.

2) Wykonano testy na obecność patogenów.

Rośliny czosnku rozmnożone metodą *in vitro* zostały dwukrotnie przebadane metodą RT-PCR na obecność czterech wirusów, których obecność wcześniej stwierdzono w wyjściowym materiale roślinnym: SLV (*Shallot latent virus* = *Garlic latent virus* = GLV), LYSV (*Leek yellow stripe virus* = *Garlic mosaic virus* = GMV), OYDV (*Onion yellow dwarf virus*) i GCLV (*Garlic common latent virus*). W żadnej z badanych roślin nie stwierdzono obecności wirusów.

Rośliny truskawki przebadano na obecność 4 wirusów: SMoV (*Strawberry mottle virus*), SCrV (*Strawberry crinkle virus*), SMYEV (*Strawberry mild yellow edge virus*) i SVBV (*Strawberry vein banding virus*). U odmiany 'Grandarosa', w jednej próbie (G64) stwierdzono obecność wirusa cętkowanej plamistości liści truskawki (SMoV).

Wykonane testy na obecność *Phytophthora* u roślin maliny 'Polka' i 'Polana' przy użyciu techniki PCR ze starterami specyficznymi oraz analiza profilu RNA metodą NGS (next generation sequencing) u jagody kamczackiej nie wykazały obecności patogenów.

3) Wykazano następczy wpływ składu pożywki do ukorzenia mikrosadzonek *in vitro* na rozwój potencjału fotosyntetycznego i parametrów biochemicznych roślin w czasie aklimatyzacji do warunków *ex vitro*.

4) Oceniono stabilność genetyczną mikrosadzonek truskawki, maliny, jagody kamczackiej oraz czosnku po ok. 3 latach rozmnażania *in vitro*. Wytypowano po 5 par starterów AFLP dla truskawki, maliny oraz czosnku, 4 pary starterów AFLP dla jagody kamczackiej. Dla jagody i czosnku wytypowano także markery ISSR: dla jagody – 4 startery, dla czosnku 5. U mikrosadzonek czosnku, w obu analizach wyższy poziom polimorfizmu wykazano dla odmiany 'Jarus' (11,1% - ISSR, 10,2% - AFLP) niż 'Ornak' (7,1% - ISSR, 7,8% - AFLP).

W analizie AFLP uzyskano bardzo dużą liczbę produktów reakcji różnicowego PCR. Wydaje się, że w dalszych badaniach bardziej użyteczne byłoby zastosowanie starterów z dodatkowymi trzema nukleotydami na końcach 3', co ograniczyłoby liczbę uzyskanych produktów reakcji. U jagody kamczackiej, analiza AFLP wykazała zmienność na poziomie 0% i 2,45%, a analiza ISSR na poziomie 2,8% i 1,8%, kolejno dla odmian 'Wojtek' i 'Zojka'. Analiza AFLP wykazała, że rośliny maliny odmiany 'Polana' i 'Polka' uzyskane w wyniku namnażania metodą *in vitro* wykazywały zmienność na poziomie DNA wynoszącą odpowiednio 16% i 15,2%. W przypadku mikrosadzonek truskawki, wyższy średni poziom zmienności genetycznej obserwowano u odm. 'Selva' (3,15%) niż u roślin odm. 'Grandarosa' (2,56%).

Opis najważniejszych osiągnięć:

Dla każdego genotypu określono czynniki pozwalające na uzyskanie efektywnej aklimatyzacji mikrosadzonek w warunkach *ex vitro*. Uzyskano materiał roślinny czosnku wolny od wirusów (SLV, LYSV, GCLV, OYDV) poprzez stymulację wzrostu i rozwoju merystemów wierzchołkowych izolowanych z roślin matecznych i następnie wielokrotnie pasażowanych w celu namnożenia pędów w kulturach *in vitro* oraz w wyniku zabiegów: chemio- i termoterapii.

Wykorzystanie uzyskanych wyników:

Opracowane metody będą częścią procedur prowadzących do uzyskania wysokiej jakości kwalifikowanego materiału rozmnożeniowego.