

Zadanie 76 Badania nad możliwością zwiększenia zawartości składników bioaktywnych w owocach truskawki na drodze hybrydyzacji wewnątrz- i międzygatunkowej w obrębie rodzaju *Fragaria*

W roku 2015 badania prowadzono w ramach 3 tematów badawczych:

Temat badawczy 1

Ocena stopnia polimorfizmu DNA form rodzicielskich truskawki

Celem tego tematu badawczego była ocena zróżnicowania genetycznego wybranych genotypów z rodzaju *Fragaria*, użytych jako formy rodzicielskie w programie krzyżowań ukierunkowanym na uzyskanie potomstwa o wysokiej zawartości składników bioaktywnych w owocach i utworzenie biblioteki polimorficznych fragmentów DNA umożliwiających identyfikację mieszańców F₁. Badania molekularne przeprowadzono na roślinach 24 genotypów z rodzaju *Fragaria* (odmiany: 'Alba', 'Camarosa', 'Charlotte', 'Cifrance', 'Cigaline', 'Cilady', 'Clery', 'Darselect', 'Dora', 'Honeoye', 'Konfitura', 'Marina', 'Marmolada[®] Onebor', 'Panvik', 'Patty', 'Roxana', 'Spadeka' i 'Sugar Lia' oraz gatunki dzikie: *F. chiloensis* Yaquina A, *F. chiloensis* Yaquina Chile, *F. chiloensis* ssp. *chiloensis* f. *patagonica*, *F. virginiana* ssp. *glauca*, *F. nubicola* i *F. vesca* ssp. *vesca* Korsica), wytypowanych z kolekcji IO.

DNA do badań izolowano z w/w roślin metodą opartą na CTAB. Czystość uzyskanych preparatów określano na podstawie analizy elektroforegramów uzyskanych po elektroforezie horyzontalnej w żelu agarozowym oraz w oparciu o pomiar współczynników ekstynkcji próbki przy długości fali 230, 260, 280 i 320 nm. Polimorfizm DNA określano w oparciu o wyniki testów SSR, umożliwiających analizę regionów mikrosatelitarnych. Reakcje amplifikacji przeprowadzono w termocyklerze firmy MJ Research, w obecności 20 starterów mikrosatelitarnych, wytypowanych w pierwszym roku badań. Produkty amplifikacji rozdzielano elektroforetycznie w żelu agarozowym wybarwianym bromkiem etydyny. Dystans genetyczny oznaczono na podstawie analizy kodów binarnych 0/ 1 (metoda Jaccarda).

Łącznie na matrycach DNA wydzielonych z badanych genotypów rodzicielskich truskawki przeprowadzono 2.050 reakcji amplifikacji. W reakcjach z wytypowanymi starterami mikrosatelitarnymi uzyskano 128 polimorficznych amplikonów o długości od 140 do 800 pz, różnicujących wszystkie analizowane genotypy. Stopień pokrewieństwa badanych genotypów określono w granicach od 15 do 75%. Wyróżniono cztery klastery pokrewieństwa genetycznego. W pierwszym skupieniu wystąpiły odmiany 'Marmolada', 'Alba', 'Patty', 'Darselect' i 'Camarosa' (66%), w drugim - odmiany 'Dora' i 'Clery', skorelowana z nimi 'Sugar Lia' oraz 'Konfitura' i 'Honeoye'. Rośliny zgrupowane w klastrach pierwszym i drugim wykazywały pokrewieństwo z odmianami 'Panvik', 'Roxana' i 'Spadeka'. W trzecim klastrze znalazły się odmiany 'Cilady', 'Cifrance' i 'Cigaline', które wykazały pokrewieństwo z odmianą 'Marina'. W czwartym klastrze zgrupowane zostały rośliny reprezentujące gatunki dzikie *F. chiloensis* Yaquina A, *F. chiloensis* Yaquina Chile, *F. chiloensis* ssp. *chiloensis* f. *patagonica*, *F. virginiana* ssp. *glauca*, *F. nubicola* i *F. vesca* ssp. *vesca* Korsica.

W reakcjach z 9 parami starterów, przeznaczonymi do przygotowania profili genetycznych poszczególnych form wyjściowych, uzyskano 62 polimorficzne fragmenty DNA, stanowiące 99% wszystkich uzyskanych amplikonów. Długość uzyskanych amplikonów wahała się od 170 do 800 pz. Analizowane genotypy truskawki scharakteryzowano na podstawie 16-25 polimorficznych fragmentów DNA, w pełni odróżniających jej DNA od materiału genetycznego pozostałych badanych genotypów.

Temat badawczy 2

Ocena możliwości hybrydyzacji wybranych genotypów z rodzaju *Fragaria*

Celem tego tematu była ocena możliwości skrzyżowania wybranych form rodzicielskich z rodzaju *Fragaria* na podstawie wyników krzyżowań wewnątrz- i międzygatunkowych, ukierunkowanych na uzyskanie mieszańców F₁ o wysokiej zawartości składników bioaktywnych (antyoksydacyjnych) w owocach. Przedmiotem badań były wybrane formy rodzicielskie truskawki odznaczające się wysoką zawartością składników bioaktywnych w owocach ('Alba', 'Alice', 'Asia', 'Camarosa', 'Candiss', 'Chandler', 'Charlotte', 'Cifrance', 'Cigaline', 'Cilady', 'Clery', 'Darselect', 'Dora', 'Honeoye', 'Konfitura', 'Madeleine', 'Marmolada', 'Onda', 'Patty', 'Roxana', 'Sophie', 'Spadeka', 'Sugar Lia', 'Elsanta', 'Grandarosa', 'Matis', 'Panvik', 'Pink Rosa'), jak również oktoploidalne gatunki dzikie z rodzaju *Fragaria*, jak *F. chiloensis* (*F. chil.* Yaquina A, *F. chil.* Yaquina B, *F. chil.* Yaquina Chile, *F. chil.* Del Norte, *F. chil.* ssp. *chil.* f. *patagonica*) oraz *F. virginiana* (*F. virginiana* ssp. *glauca*). Podjęto także próby hybrydyzacji oktoploidalnych odmian truskawki *F. x ananassa* z gatunkami diploidalnymi, jak *F. nubicola* czy *F. vesca* ssp. *vesca* Korsica.

Krzyżowanie odmian przeprowadzono wczesną wiosną 2015 roku w szklarni. W przypadku tych kombinacji, z których uzyskano mniej niż 5 w pełni rozwiniętych owoców, krzyżowania powtórzono w maju w polu. W maju i czerwcu w szklarni dokonano wysiewu nasion, a przez kolejne tygodnie produkowano i pielęgnowano siewki. We wrześniu wszystkie siewki posadzono w kwaterze polowej.

Łącznie wykonano 74 kombinacje krzyżowań, w tym 50 krzyżowań wewnątrzgatunkowych i 24 krzyżowania międzygatunkowe. Zapyłono 946 kwiatów (379 w szklarni i 567 w polu) i uzyskano 621 owoców (294 w szklarni oraz 327 w polu). W przypadku 5 kombinacji krzyżowań międzygatunkowych z zapyłonych kwiatów nie uzyskano żadnego owocu. Nasiona, uzyskane w kolejnych 5 kombinacjach krzyżowań międzygatunkowych i 1 kombinacji krzyżowań wewnątrzgatunkowych, nie skiełkowały. W większości krzyżowań międzygatunkowych, owoce i nasiona otrzymano tylko w szklarni. Mieszzańce międzygatunkowe, w łącznej liczbie 1.310, otrzymano w przypadku 14 kombinacji krzyżowań, co stanowi 58,3% ogólnej liczby wykonanych kombinacji krzyżowań międzygatunkowych. W wyniku krzyżowań wewnątrzgatunkowych (49 kombinacji) otrzymano łącznie 4.787 siewek.

Temat badawczy 3

Ocena fenotypowa siewek pod względem plonu owoców i jego jakości oraz zdrowotności roślin

Celem tego tematu była ocena mieszańców F_1 truskawki uzyskanych w wyniku krzyżowań wewnątrz- i międzygatunkowych wybranych form rodzicielskich z rodzaju *Fragaria*, pod kątem ich plenności, jakości owoców (ich wielkości, atrakcyjności i jędrności) oraz tolerancji roślin na ważne gospodarczo choroby liści. Przedmiotem badań były 6.354 siewki F_1 , wysadzone w polu jesienią 2014 roku (I seria doświadczenia) oraz 6.097 siewek posadzonych jesienią 2015 roku (II seria doświadczenia). Siewki z I serii doświadczenia oceniono pod kątem ich plenności oraz wielkości, atrakcyjności i jędrności owoców oraz stopnia porażenia roślin przez grzyby wywołujące białą i czerwoną plamistość liści oraz mączniaka prawdziwego truskawki. Siewki z II serii doświadczenia oceniono pod względem ich porażenia przez w/w choroby grzybowe liści. Do oceny plenności i cech jakości owoców użyto skali bonitacyjnej 1-5, zaś do oceny porażenia siewek przez patogeny grzybowe użyto skali bonitacyjnej 0-5.

W serii I doświadczenia młode, niespełna roczne siewki w większości plonowały bardzo słabo. Ponad 68% siewek oceniono jako bardzo mało plenne, a 22,6% - jako mało plenne. Tylko 77 siewek (1,2%) określono jako bardzo plenne, zaś 198 siewek (3,1%) – jako plenne. Najwięcej, bo aż 2.006 siewek (31,6%) wytwarzało owoce średniej wielkości. Owoce małe lub bardzo małe posiadało łącznie 1.831 siewek (28,8%). Bardzo dużymi owocami wyróżniało się 721 mieszańców (11,4% populacji), natomiast dużymi – 1.796 siewek (28,3%). Oceniając atrakcyjność owoców zwracano uwagę zwłaszcza na kształt owocu i brak deformacji, pomarańczowo-czerwoną lub jasnoczerwoną barwę skórki oraz jej silny połysk. Większość siewek posiadała owoce atrakcyjne (2.554 siewki – 40,2% populacji) lub bardzo atrakcyjne (1.227 siewek – 19,3%). Do grupy mieszańców o owocach bardzo mało atrakcyjnych zaliczono 511 siewek (nieco ponad 8% populacji). Ponad 85% mieszańców badanej populacji wytwarzało owoce jędrne (2.721 siewek- 42,8% populacji) lub bardzo jędrne (2.709 siewek – 42,6%). Zaledwie 19 mieszańców (0,3% populacji) posiadało owoce bardzo mało jędrne, zaś 230 mieszańców (3,6% populacji) – owoce mało jędrne. Bardzo niewielkie objawy białej plamistości liści stwierdzono tylko w przypadku 20 siewek (0,3% populacji). Pozostałe 6.334 mieszańce (99,7%) nie wykazywały żadnych objawów tej choroby. U 917 mieszańców (14,4% populacji) nie zaobserwowano objawów czerwonej plamistości liści. Przeważającą grupę (3.342 siewki – 53,7% populacji) stanowiły mieszańce, uznane jako bardzo mało podatne. Za podatne na czerwoną plamistość liści uznano tylko 12 siewek (0,2%). Ponad połowa mieszańców (3.490 szt. – 54,9% populacji) nie wykazywała żadnych objawów mączniaka prawdziwego truskawki. Nieznaczne objawy choroby stwierdzono u 1.956 mieszańców (30,8% populacji). Za genotypy podatne na mączniaka prawdziwego truskawki uznano 30 mieszańców (0,5%), zaś za bardzo podatne – 4 mieszańce (0,1%).

W serii II doświadczenia, bardzo niewielkie objawy białej plamistości liści stwierdzono tylko w przypadku 5 siewek (0,1% całej populacji mieszańców). Pozostałe 6.092 mieszańce (99,9%) nie wykazywały objawów choroby. U 4.326 mieszańców (71,0% populacji) nie zaobserwowano symptomów czerwonej plamistości liści. Liczną grupę (1.486 siewek – 24,4% populacji) stanowiły mieszańce uznane za bardzo mało podatne na tę chorobę. Tylko jedną siewkę (0,02%) uznano za podatną na czerwoną plamistość liści. Ponad połowa mieszańców (3.320 szt. – 54,5% populacji) nie wykazywała żadnych objawów mączniaka prawdziwego truskawki. Nieznaczne ślady porażenia liści stwierdzono u 2.250 mieszańców (36,9% populacji). Za genotypy mało podatne na tę chorobę uznano 439 siewek (7,2% populacji). Tylko 9 mieszańców oceniono jako podatne na tę chorobę (0,2%).

Poster prezentowany na IV Zjeździe Polskiego Towarzystwa Nauk Ogrodniczych. Masny Agnieszka, Żurawicz Edward (Instytut Ogrodnictwa, ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice). 2015. Podatność siewek truskawki na choroby liści w zależności od krzyżowanych genotypów rodzicielskich. IV Zjazd Polskiego Towarzystwa Nauk Ogrodniczych, Konferencja Naukowa pt. „Postęp w ogrodnictwie dla poprawy jakości życia i ochrony środowiska”, 14-16 września 2015, Wrocław. Uwzględnia wyniki z Tematu badawczego 3 „Ocena fenotypowa siewek pod względem plonu owoców i jego jakości oraz zdrowotności roślin” (Sprawozdanie za rok 2014, str. 22-34)

PODATNOŚĆ SIEWEK TRUSKAWKI NA CHOROBY LIŚCI W ZALEŻNOŚCI OD KRZYŻOWANYCH GENOTYPÓW RODZIELSKICH



Agnieszka Masny, Edward Żurawicz

Pracownia Genetyki i Hodowli Roślin Sadowniczych, Zakład Hodowli Roślin Ogrodniczych
Instytut Ogrodnictwa, ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice

InHort
SKIERNIEWICE

WSTĘP

Efektywność klasycznej hodowli roślin zależy od trafnego doboru form rodzicielskich do programu krzyżowań, ukierunkowanych na uzyskanie określonego celu. Formy te dobrane są najczęściej na zasadzie uzupełniania się cech fenotypowych, a efekt hodowli jest wówczas wynikiem losu. Ocena wartości cech użytkowych, ujawniających się u potomstwa, pozwala na określenie przydatności ich form rodzicielskich do danego kierunku hodowli.

Celem prowadzonych badań jest ocena przydatności wybranych genotypów z rodzaju *Fragaria* (uprawnych i dzikich) do hybrydizacji wewnątrz- i międzygatunkowej dla uzyskania populacji mieszańców F₁ o wysokiej tolerancji roślin na choroby grzybowe liści.

MATERIAŁ I METODY

- Przedmiotem badań były siewki pokolenia F₁, uzyskane w wyniku krzyżowań wewnątrz- i międzygatunkowych 24 form rodzicielskich z rodzaju *Fragaria*, wysadzone w polu na początku września 2014 roku.
- Do oceny stopnia porażenia siewek (wykonanej w dniach 6-8 października 2014 r.) przez *Mycosphaerella fragariae* (sprawca białej plamistości) i *Diplocarpon earliana* (sprawca czerwonej plamistości liści) użyto skali bonitacyjnej 0-5, w której 0 – oznacza rośliny zdrowe, 1 – do 1% powierzchni liści zajętej przez plamy, 2 – od 1,1 do 5% powierzchni liści zajętej przez plamy, 3 – od 5,1 do 20% powierzchni liści zajętej przez plamy, 4 – od 20,1 do 50% powierzchni liści zajętej przez plamy, 5 – powyżej 50% powierzchni liści zajętej przez plamy.



Fot. 1. Objawy porażenia roślin przez białą plamistość liści



Fot. 2. Objawy porażenia roślin przez czerwoną plamistość liści

- Ocena stopnia porażenia roślin przez *Sphaerotheca macularis* (sprawca mączniaka prawdziwego truskawki) wykonana była w skali 0-5, gdzie 0 – oznacza rośliny zdrowe, 1 – od 1 do 10% powierzchni liści z objawami mączniaka, 2 – od 10,1 do 20% powierzchni liści z objawami mączniaka, 3 – od 20,1 do 50% powierzchni liści z objawami mączniaka, 4 – od 50,1 do 80% powierzchni liści z objawami mączniaka, 5 – ponad 80% powierzchni liści z objawami mączniaka.

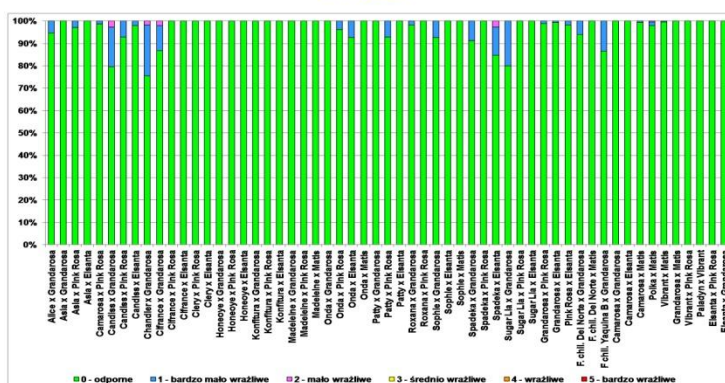


Fot. 3 i 4. Objawy porażenia roślin przez mączniaka prawdziwego truskawki

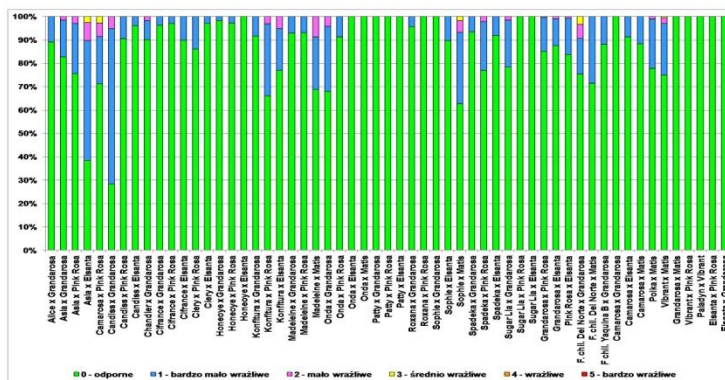
PODSUMOWANIE

Najsilniejsze objawy białej plamistości liści stwierdzono na siewkach 'Chandler' x 'Grandarosa'. Mieszance 33 rodzin, mających w rodowodzie odmiany 'Clery', 'Honeoye', 'Konfitura', 'Madeleine' i 'Vibrant' uznano za odporne na *M. fragariae*. Najsilniejsze objawy czerwonej plamistości liści zaobserwowano u mieszańców 'Candiss' x 'Grandarosa' oraz 'Asia' x 'Elsanta'. Za odporne na *D. earliana* uznano siewki należące do rodzin: 'Honeoye' x 'Elsanta', 'Onda' x 'Elsanta', 'Onda' x 'Matis', 'Patty' x 'Grandarosa', 'Patty' x 'Pink Rosa', 'Patty' x 'Elsanta', 'Roxana' x 'Pink Rosa', 'Sophie' x 'Grandarosa', 'Sugar Lia' x 'Pink Rosa', 'Sugar Lia' x 'Elsanta', 'Camrosa' x 'Grandarosa', 'Grandarosa' x 'Matis', 'Vibrant' x 'Pink Rosa', 'Paladyn' x 'Vibrant', 'Elsanta' x 'Pink Rosa' oraz 'Elsanta' x 'Camrosa'. Najsilniej porażone przez *S. macularis* były siewki 'Vibrant' x 'Pink Rosa' oraz 'Cifrance' x 'Grandarosa', zaś najsłabiej – mieszance *F. chil.* Yaquina B x 'Grandarosa' oraz 'Spadeka' x 'Pink Rosa'.

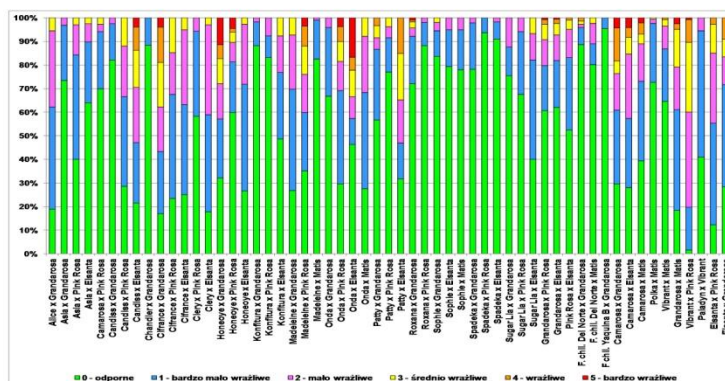
WYNIKI



Wykres 1. Procentowy udział siewek porażonych przez *M. fragariae* (biała plamistość liści) w poszczególnych klasach wrażliwości



Wykres 2. Procentowy udział siewek porażonych przez *D. earliana* (czerwona plamistość liści) w poszczególnych klasach wrażliwości



Wykres 3. Procentowy udział siewek porażonych przez *S. macularis* (mączniak prawdziwy truskawki) w poszczególnych klasach wrażliwości

Badania finansowane przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi w ramach postępu biologicznego w produkcji roślinnej – Zadanie 76 „Badania nad możliwością zwiększenia zawartości składników bioaktywnych w owocach truskawki na drodze hybrydizacji wewnątrz- i międzygatunkowej w obrębie rodzaju *Fragaria*”.

Abstrakt zamieszczony w materiałach konferencyjnych:

Masny Agnieszka, Żurawicz Edward (Instytut Ogrodnictwa, ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice). 2015. Podatność siewek truskawki na choroby liści w zależności od krzyżowanych genotypów rodzicielskich. IV Zjazd Polskiego Towarzystwa Nauk Ogrodniczych, Konferencja Naukowa pt. „Postęp w ogrodnictwie dla poprawy jakości życia i ochrony środowiska”, 14-16 września 2015, Wrocław: 207. Uwzględnia wyniki z Tematu badawczego 3 „Ocena fenotypowa siewek pod względem plonu owoców i jego jakości oraz zdrowotności roślin” (Sprawozdanie za rok 2014, str. 22-34)

PODATNOŚĆ SIEWEK TRUSKAWKI NA CHOROBY LIŚCI W ZALEŻNOŚCI OD KRZYŻOWANYCH GENOTYPÓW RODZIELSKICH

Agnieszka Masny, Edward Żurawicz

Instytut Ogrodnictwa, ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice

Agnieszka.Masny@inhort.pl, Edward.Zurawicz@inhort.pl

Przedmiotem badań były siewki pokolenia F₁, uzyskane w wyniku krzyżowań wewnątrz- i międzygatunkowych wybranych form rodzicielskich z rodzaju *Fragaria*, wysadzone w polu na początku września 2014 roku. Do oceny stopnia porażenia siewek (wykonanej w dniach 6-8 października 2014 r.) przez *Mycosphaerella fragariae* (sprawca białej plamistości) i *Diplocarpon earliana* (sprawca czerwonej plamistości liści) użyto skali bonitacyjnej 0-5, w której 0 – oznacza rośliny zdrowe, 1 – do 1% powierzchni liści zajętej przez plamy, 2 – od 1 do 5 % powierzchni liści zajętej przez plamy, 3 – od 5 do 20% powierzchni liści zajętej przez plamy, 4 – od 20 do 50% powierzchni liści zajętej przez plamy, 5 – powyżej 50% powierzchni liści zajętej przez plamy. Ocena stopnia porażenia roślin przez *Sphaerotheca macularis* (sprawca mączniaka prawdziwego truskawki) wykonana była w skali 0-5, gdzie 0 – oznacza rośliny zdrowe, 1 – od 1 do 10% powierzchni liści z objawami mączniaka, 2 – od 10 do 20% powierzchni liści z objawami mączniaka, 3 – od 20 do 50% powierzchni liści z objawami mączniaka, 4 – od 50 do 80% powierzchni liści z objawami mączniaka, 5 – ponad 80% powierzchni liści z objawami mączniaka.

Najsilniejsze objawy białej plamistości liści stwierdzono na siewkach ‘Chandler’ x ‘Grandarosa’. Mieszzańce 33 rodzin, mających w rodowodzie odmiany ‘Clery’, ‘Honeoye’, ‘Konfitura’, ‘Madeleine’ i ‘Vibrant’ uznano za odporne na *M. fragariae*. Najsilniejsze objawy czerwonej plamistości liści zaobserwowano u mieszzańców ‘Candiss’ x ‘Grandarosa’ oraz ‘Asia’ x ‘Elsanta’. Za odporne na *D. earliana* uznano siewki należące do rodzin: ‘Honeoye’ x ‘Elsanta’, ‘Onda’ x ‘Elsanta’, ‘Onda’ x ‘Matis’, ‘Patty’ x ‘Grandarosa’, ‘Patty’ x ‘Pink Rosa’, ‘Patty’ x ‘Elsanta’, ‘Roxana’ x ‘Pink Rosa’, ‘Sophie’ x ‘Grandarosa’, ‘Sugar Lia’ x ‘Pink Rosa’, ‘Sugar Lia’ x ‘Elsanta’, ‘Camarosa’ x ‘Grandarosa’, ‘Grandarosa’ x ‘Matis’, ‘Vibrant’ x ‘Pink Rosa’, ‘Paladyn’ x ‘Vibrant’, ‘Elsanta’ x ‘Pink Rosa’ oraz ‘Elsanta’ x ‘Camarosa’. Najsilniej porażone przez *S. macularis* były siewki ‘Vibrant’ x ‘Pink Rosa’ oraz ‘Cifrance’ x ‘Grandarosa’, zaś najslabiej – mieszzańce *F. chiloensis* Yaquina B x ‘Grandarosa’ oraz ‘Spadeka’ x ‘Pink Rosa’.