

Zadanie 3.14. Wytworzenie materiałów wyjściowych podkładek wegetatywnych dla jabłoni (*Malus Mill.*) odpornych na zgniliznę pierścieniową podstawy pnia jabłoni, wytrzymałych na niskie ujemne temperatury oraz beziernistych.

Uzasadnienie realizacji zadania:

Problemem w uprawie podkładek dla jabłoni jest grzyb *Phytophthora cactorum*, który wywołuje chorobę zwaną zgnilizną pierścieniową podstawy pnia. Najgroźniejsze objawy występują na szyjce korzeniowej i przyziemnej części pnia. Powstanie rozległych ran prowadzi do przerwania transportu asymilatów i stopniowego zamierania korzeni, a w konsekwencji nawet całych drzew. Z literatury wiadomo, że odporna na zgniliznę pierścieniową podstawy pnia jest podkładka P 2, mało podatne są M.7, P 14, M.9 i P 22, średnio podatne są M.26, P 60, P 16, P 22. Najbardziej wrażliwa jest MM.106.

Obecność cierni także stanowi problem w mateczniku (przy odejmowaniu ukorzenionych pędów), jak również po posadzeniu podkładki do szkółki, gdyż wtedy zachodzi konieczność usunięcia ich z tej części rośliny, na której zostanie założone oczko. Podczas rozmnażania podkładek jabłoni przez odkłady rośliny mateczne mogą wydawać zarówno pędy cierniste (juwenilne) jak np. podkładki M.2, M.9, M.26, P 2, P 14 czy P 22, jak i gładkie (senilne) - jak M.4, M.7, M.27, Alnarp-2, B 9, P 16, P 59 czy P 60. Dotychczas z podkładek jabłoni ciernie lub pędy boczne usuwa się ręcznie. Według danych holenderskich, zabiegi te pochłaniają około 25% kosztów produkcji podkładek.

Podkładki jabłoni różnią się poziomem wytrzymałości na niskie ujemne temperatury. Do bardziej wytrzymałych można zakwalifikować podkładki P 59, P 60, P 66, P 67, P 68, M.7, MM.106, PB-4 i Siewkę Antonówki, a do bardziej wrażliwych podkładki P 2, P 14, P 16, P 22, CG 11, CG 16, M.9 i M.26.

W ostatnich latach hodowla podkładek wspierana jest badaniami molekularnymi, które pozwoliły na wstępne rozpoznanie roli sekwencji genomowych (transkryptomowych) oraz ruchomych sekwencji transpozonowych, jako czynników regulujących reakcje roślin na stresy abiotyczne i biotyczne.

Analizy transkryptomu prowadzone w Zakładzie Hodowli Roślin Ogrodniczych dostarczyły bazowej wiedzy na temat zróżnicowania poziomu ekspresji genów aktywowanych lub inhibowanych pod wpływem stresów. Zastosowanie sekwencji pochodzących z utworzonej bazy do identyfikacji specyficznych markerów molekularnych umożliwi potwierdzenie obecności genów funkcjonalnych, przydatnych dla hodowców do monitorowania tolerancji podkładek na ww. czynniki środowiskowe.

Podkładki o wysokich walorach produkcyjnych i użytkowych, jak: odporność na zgniliznę pierścieniową podstawy pnia jabłoni (*Phytophthora cactorum*), wytrzymałość na niskie ujemne temperatury czy brak cierni, umożliwią produkcję zdrowego kwalifikowanego materiału szkółkarskiego do zakładania nowoczesnych sadów jabłoniowych. Produkcja podkładek o wysokiej przydatności szkółkarskiej pozwoli gospodarstwom sadowniczym ograniczyć straty w produkcji jabłek, a co za tym idzie - zwiększyć dochód tego gospodarstwa.

Cel zadania w 2021 r.: 1) Wytworzenie cennych materiałów wyjściowych podkładek wegetatywnych dla jabłoni odpornych na zgniliznę pierścieniową podstawy pnia jabłoni (*Phytophthora cactorum*) oraz wytrzymałych na niskie ujemne temperatury i charakteryzujących się brakiem cierni; 2) Opracowanie markerów opartych na analizie sekwencji genomowych oraz ocenie stopnia zróżnicowania poziomu ich ekspresji, przydatnych do monitorowania ww. cech i selekcji najcenniejszych genotypów podkładek dla jabłoni.

Opis zadania – zakres rzeczowy planowany na 2021 r.:

- 1) utrzymanie roślin ogrodniczych w formie wegetatywnych kolekcji polowych, w karkasach, tunelach foliowych, kulturach *in vitro* oraz w kriobankach zgodnie z normami międzynarodowymi;
- 2) dobór form rodzicielskich do krzyżowań w oparciu o ich cechy fenotypowe, testy laboratoryjne i molekularną ocenę stopnia pokrewieństwa;
- 3) wykonywanie programów krzyżowań oraz zbiorów owoców, pozyskiwanie i wysiew nasion.
- 4) produkcja siewek w szklarni i sadzenie siewek w polowej kwaterze selekcyjnej;

- 5) pielęgnacja, ocena i selekcja pozytywna w obrębie populacji siewek (oznaczanie pojedynków będących nośnikami pożądaných cech);
 - 6) rozmnażanie tradycyjne i *in vitro* wyselekcjonowanych pojedynków dla założenia kolekcji klonów w celu ich dalszej oceny pod kątem poziomu pożądaných cech;
 - 7) ocena wartości produkcyjnej klonów selekcyjnych i rozmnożenie najcenniejszych genotypów;
 - 8) szczegółowa ocena wartości produkcyjnej najbardziej wartościowych genotypów w doświadczeniach porównawczych, z możliwością zgłoszenia ich do badań rejestrowych COBORU, jako potencjalne nowe podkłádki wegetatywne dla jabłoni, z uwzględnieniem badań molekularnych (molekularna weryfikacja tożsamości genetycznej i statusu zdrowotności mieszańców pod kątem chorób wirusowych);
 - 9) testowanie wartościowych genotypów pod względem tolerancji na stesy biotyczne i abiotyczne w warunkach kontrolowanych (sztuczne przemrażanie roślin, inokulacja roślin zawiesiną zarodników grzyba *Phytophthora cactorum* –optymalizacja metody);
 - 10) zakładanie i prowadzenie doświadczeń demonstracyjno-wdrożeniowych dla upowszechniania nowych genotypów;
- W ramach badań molekularnych równolegle prowadzenie następujących prac:
- 11) wytypowanie genotypów podkłádek zróżnicowanych pod względem ocenianých cech (wstępna ocena fenotypowa) i wyizolowanie DNA/RNA z tkanek roślin przeznaczonych do badań;
 - 12) wytypowanie sekwencji genów kandydujących oraz sekwencji transpozomowych (dostępne bazy, literatura, sekwencje o zróżnicowanej ekspresji uzyskane z analiz NGS i inne), do analizy qPCR poprzez opracowanie ich profili ekspresyjnych.

Planowane na 2021 r. mierniki dla zadania 3.14.:

1. liczba kombinacji w wykonanym programie krzyżowań: 7
2. liczba uzyskanych materiałów wyjściowych o pożądaných cechach: 4 klony
3. liczba wytypowanych sekwencji DNA/RNA dla pożądaných cech: 2

Wykorzystanie wyników w praktyce:

Uzyskane nowe genotypy, łączące w najwyższym stopniu pożądanę cechy włączone będą do programu hodowli nowych podkłádek wegetatywných dla jabłoni. Te z nowo uzyskanych genotypów, które w najwyższym stopniu będą łączyć pożądanę cechy, zgłoszone zostaną do badań rejestrowych COBORU, jako potencjalne podkłádki o innowacyjnych cechach użytkowych.

W oparciu o zróżnicowany profil ekspresji wytypowanych genów o rozpoznanej sekwencji opracowany zostanie specyficzny test molekularny, przydatny do wczesnej selekcji nowo-wytworzonych genotypów oraz do monitorowania ważnych cech użytkowych podkłádek dla jabłoni.