

ZADANIE 42

OCENA POTENCJAŁU GENETYCZNEGO MALINY WŁAŚCIWEJ (*Rubus idaeus* L.) POD WZGLĘDEM WAŻNYCH CECH FENOTYPOWYCH (ZDOLNOŚĆ DO DWUKROTNEGO OWOCOWANIA, POZBIORCZA TRWAŁOŚĆ OWOCÓW, BEZKOLCOWOŚĆ, SAMOPŁODNOŚĆ) PRZY ZASTOSOWANIU METOD KONWENCJONALNYCH I BIOTECHNOLOGICZNYCH

POSTĘP BIOLOGICZNY
Okres realizacji: 2022

KIEROWNIK ZADANIA 42

dr hab. Agnieszka Masny, prof. IO

e-mail: Agnieszka.Masny@inhort.pl

Wykonawcy: dr hab. Stanisław Pluta, dr Anita Kuras, dr Marek Szymajda, dr Mariusz Lewandowski, dr Łukasz Seliga, dr Sylwia Keller-Przybyłkiewicz, mgr Renata Czarnecka, mgr Bogusława Idczak, mgr Jarosław Kołodziejki, mgr Jolanta Kubik, mgr Agnieszka Walencik, mgr Agnes Laszlovszky-Zmarlicka, Krystyna Strączyńska, Krzysztof Pęzik, Marzena Śnieguła, Katarzyna Skrzeczkowska, Igor Stankiewicz

Instytut Ogrodnictwa –
Państwowy Instytut Badawczy
ul. Konstytucji 3 Maja 1/3
96-100 Skierniewice



CELE PROJEKTU

1. Ocena wybranych cech fenotypowych (siła wzrostu i kolcowość pędów) siewek, należących do 40 rodzin mieszańców oraz ich form rodzicielskich w doświadczeniu polowym.
2. Ocena zróżnicowania genetycznego 13 form rodzicielskich maliny czerwonej, różniących się pod względem wielu cech biologicznych uwarunkowanych genetycznie, a zwłaszcza pory dojrzewania, jakości owoców i kolcowości pędów.

Cele zostały osiągnięte.

TEMAT BADAWCZY 1. Indywidualna ocena cech fenotypowych roślin wszystkich rodzin mieszańców maliny właściwej i ich form rodzicielskich

- **Materiał roślinny:** siewki 40 rodzin mieszańców, uzyskanych w wyniku realizacji programu krzyżowań w układzie czynnikowym 10 form matecznych maliny właściwej - ‘Glen Ample’, ‘Przehyba’, ‘Cowichan’, ‘Willamette’, ‘Veten’, ‘Tulameen’, ‘Sokolica’, ‘Canby’, ‘Schönemann’, ‘Laszka’ oraz 3 form ojcowskich M-258 (‘Glen Ample’ × ‘Sokolica’), M-345 (‘Canby’ × ‘Polana’) oraz M-378 (‘Glen Ample’ × ‘Polka’), a także siewki uzyskane z samozapyleń form matecznych.
- **Skaryfikacja i stratyfikacja nasion, produkcja siewek i sadzonek form rodzicielskich w szklarni**
- **Założenie doświadczenia polowego (układ bloków losowych, trzy powtórzenia po 15 siewek i po 5 roślin form rodzicielskich).**
- **Indywidualna ocena bonitacyjna wszystkich siewek i ich form rodzicielskich w doświadczeniu polowym pod względem cech:**
 - siła wzrostu roślin – pomiar wysokości każdej siewki po zakończonej wegetacji (w cm),
 - kolcowość pędów – po zakończonej wegetacji oceniana środkowa część pędów przy użyciu skali bonitacyjnej 0-4, w której 0 to brak kolców, a 4 to silna kolcowość.

MATERIAŁY I METODY

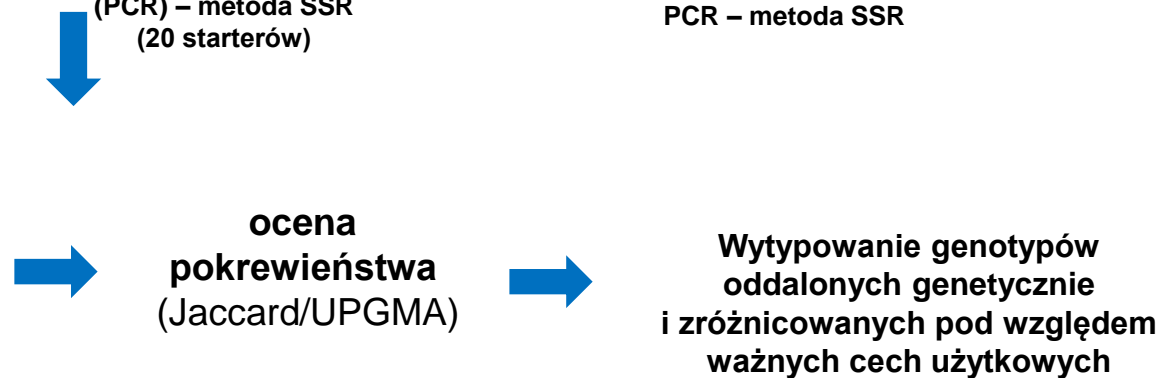
TEMAT BADAWCZY 2. Ocena stopnia polimorfizmu DNA 13 form rodzicielskich użytych w programie krzyżowań

- **Materiał roślinny:** 13 genotypów maliny właściwej - 'Glen Ample', 'Przehyba', 'Cowichan', 'Willamette', 'Veten', 'Tulameen', 'Sokolica', 'Canby', 'Schönemann', 'Laszka', M-258, M-345 oraz M-378.
- **Analiza polimorfizmu DNA**



Starter	Długość (pz)	1	2	3	4	5	6	7	8
ru12a	100	+		+				+	
	140								
	150	+	+	+	+	+	+	+	+
	190								
	200		+		+	+	+		+
	210								

analiza polimorfizmu DNA



TEMAT BADAWCZY 1. Indywidualna ocena cech fenotypowych roślin wszystkich rodzin mieszańców maliny właściwej i ich form rodzicielskich

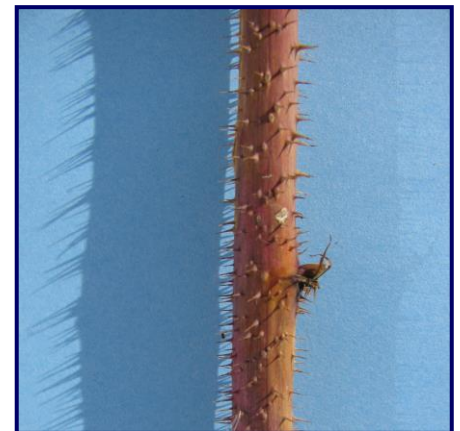
- Młode siewki maliny z reguły nie przekraczały wysokości 30 cm.
- Przeciętnie najwyższe siewki stwierdzono w obrębie rodzin 'Przehyba' × M-345 (29,9 cm), 'Tulameen' × M-378 (29,9 cm) oraz 'Tulameen' × M-345 (29,6 cm).
- Najniższe były siewki uzyskane w wyniku samozapylenia odmiany 'Sokolica' (10,3 cm).
- Znacznie silniejszym wzrostem, w porównaniu do siewek, odznaczały się ich odmiany rodzicielskie.
- Najsilniej rosły rośliny odmiany 'Willamette' (83,0 cm) oraz 'Laszka' (82,3 cm), zaś najslabiej – klonów M-345, M-258 i M-378 oraz odmiany 'Canby'.



WYNIKI

TEMAT BADAWCZY 1 (cd.).

- W 23 spośród 40 badanych rodzin mieszańców występowały siewki o bezkolcowych pędach, jednakże ich udział w poszczególnych rodzinach był różny (od 1 do 42 roślin w populacji 45 siewek w każdej rodzinie mieszańców).
- W 10 rodzinach zaobserwowano siewki o silnych i „agresywnych” pędach.
- Najwyższy procent roślin o bezkolcowych pędach zaobserwowano u trzech rodzin mieszańców: ‘Cowichan’ × M-345 (93,3% siewek bezkolcowych), ‘Cowichan’ × M-378 (48,9%) i ‘Veten’ × M-345 (42,3%).
- Całkowitą bezkolcowością pędów odznaczały się rośliny trzech genotypów rodzicielskich – ‘Glen Ample’, M-258 oraz M-378.
- Najwięcej roślin o silnych i „agresywnych” kolcach zaobserwowano w rodzinie mieszańców ‘Glen Ample’ × M-258 (20%).
- Dość dużą liczbę siewek o „agresywnych” kolcach stwierdzono w rodzinach ‘Przehyba’ × ‘Przehyba’ (15,6%) oraz ‘Glen Ample’ × ‘Glen Ample’ (13,3%).

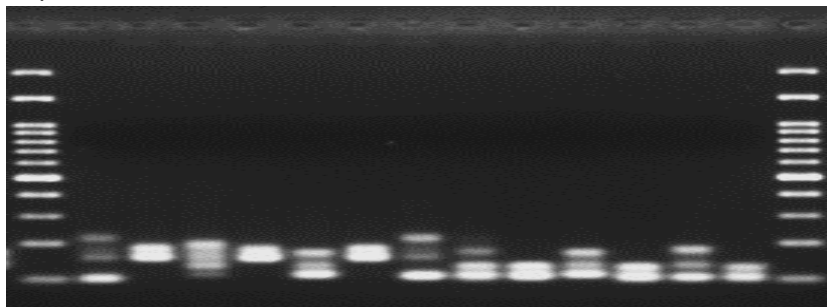


TEMAT BADAWCZY 2. Ocena stopnia polimorfizmu DNA 13 form rodzicielskich użytych w programie krzyżowań

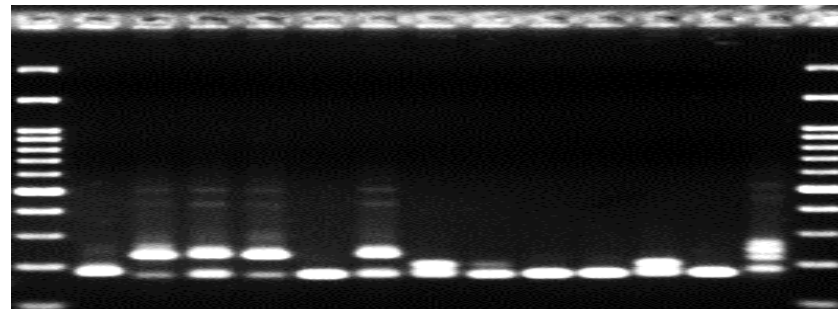
- Łącznie na matrycach DNA wydzielonych z badanych genotypów rodzicielskich maliny przeprowadzono 1560 reakcji amplifikacji z 20 parami oligonukleotydów. W reakcji amplifikacji z wytypowanymi parami starterów uzyskano 102 amplikony, z których dwa były monomorficzne.
- Długość polimorficznych fragmentów DNA charakteryzujących testowane genotypy rodzicielskie maliny wahała się od 90 do 300 pz .
- Utworzono bibliotekę polimorficznych amplikonów, a badane genotypy maliny scharakteryzowano na podstawie 38-49 alleli.
- Do analizy potomstwa uzyskanego w wyniku krzyżowania analizowanych form rodzicielskich wytypowano zestaw dwunastu oligonukleotydów: 6a, 16a, ru24a, ru25a, ru26a, ru35a, ru57a, 116a, 118b, ru126b, ru194h, ru228a generujących najwięcej polimorficznych amplikonów.
- Pokrewieństwo badanych genotypów maliny, określone w oparciu o dane wygenerowane metodą SSR, kształtowało się na poziomie 24-64%.

TEMAT BADAWCZY 2. (cd.)

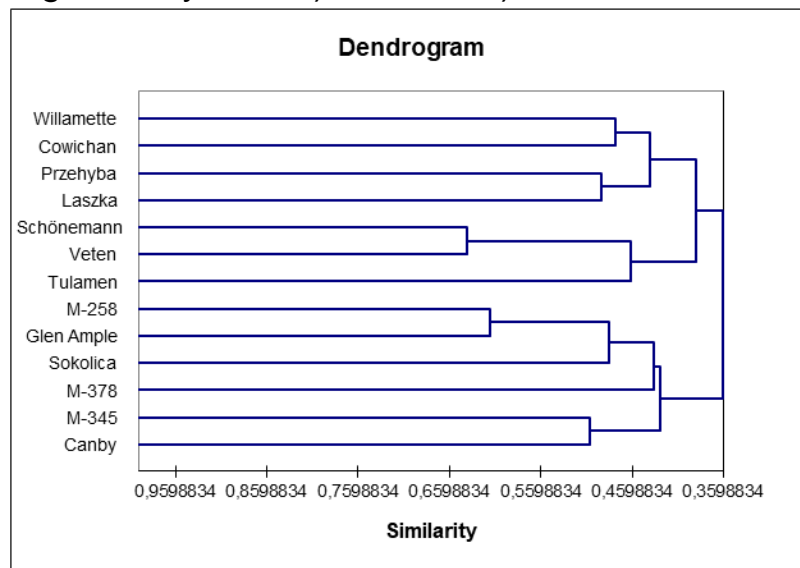
a)



b)



Przykładowe elektroforegramy produktów amplifikacji metodą SSR na matrycach DNA z roślin maliny z oligonukleotydem: a) ru118b, b) rur57a



Dendrogram obrazujący pokrewieństwo 13 genotypów maliny opracowany zgodnie z metodą Jaccard/ UPGMA w oparciu o dane wygenerowane metodą SSR z 20 parami starterów .

Nazwa oligo-nukleotydu	Glen Ample	Przehyba	Cowichan	Willamette	Vetén	Tulameen	Sokolica	Canby	Schönemann	Laszka	M-258	M-345	M-378
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
ru1b	200, 250	200, 240	240, 280	240, 280	240, 280	200, 220	200, 240	200, 230, 280	200, 230, 280	240, 280	200, 250	200	200
ru24a	150, 200	150, 200	150	150, 200	160	160	150, 200	150, 200	160	160	150, 200	150, 200	160
ru25a	150, 180	150, 180	150, 180	150, 180	150	150, 180	150	150, 190	150	150	150, 180	160, 190	150

Fragment biblioteki polimorficznych amplikonów dla 13 form rodzicielskich maliny w oparciu o dane wygenerowane metodą SSR z 20 parami starterów.

WNIOSKI

- 1. Uzyskanie genotypów o bezkolcowych pędach metodą tradycyjnej hodowli krzyżówkowej jest możliwe, wymaga jednak wsparcia wynikami szerszych badań genetyczno-hodowlanych.**
- 2. Uzyskana biblioteka polimorficznych amplikonów jest narzędziem do weryfikacji potomstwa badanych form rodzicielskich maliny.**
- 3. Genotypy ‘Cowichan’, ‘Willamette’ i ‘Veten’ oraz klony hodowli IO-PIB: M-378, M-345 oraz M-258, były najbardziej oddalone genetycznie i zróżnicowane pod względem badanych cech.**