

Zadanie 3.11. Wytworzenie materiałów wyjściowych świdosiłwy olcholistnej (*Amelanchier alnifolia*) o wysokiej jakości owoców i tolerancji na stres abiotyczny.

Cele zadania:

Uzyskanie materiałów wyjściowych do hodowli nowych odmian deserowych oraz przydatnych do przetwórstwa i zamrażalnictwa, o dużych, owalnych owocach, o poprawionym smaku owoców, zawierających związki prozdrowotne i przydatnych do kombajnowego zbioru owoców. Generowanie nowej zmienności genetycznej z wykorzystaniem poliploidyzacji mitotycznej *in vitro* do wytworzenia tetraploidów świdosiłwy olcholistnej. Kontynuacja oceny materiałów selekcyjnych otrzymanych w latach 2015-2020 oraz realizacja nowych programów hodowlanych.

Opis zadania:

W roku 2021 planowany cel zadania został osiągnięty. Wykonano 20 kombinacji krzyżowań, zapyłono 1268 kwiatów. W kwaterach selekcyjnych oceniano 306 siewek; oceniano 12 klonów selekcyjnych; prowadzono doświadczenie demonstracyjno-wdrożeniowe. Określono poziom ploidalności roślin donorowych czterech odmian świdosiłwy, zainicjowano kultury *in vitro* wytypowanych odmian, indukowano poliploidy z użyciem kultur pędów bocznych. oceniono poziom ploidalności zregenerowanych roślin, w celu wyodrębnienia tetraploidów.

1) wykonanie programu krzyżowań z wykorzystaniem różnych form rodzicielskich świdosiłwy olcholistnej (*Amelanchier alnifolia*) o komplementarnych cechach fenotypowych i użytkowych, zbiór owoców, wybieranie nasion, stratyfikacja i wysiew nasion;

Wykonano program krzyżowań obejmujący 20 kombinacji krzyżowań z użyciem 13 form (odmian) rodzicielskich oraz 2 klonów hodowlanych). Dobór form rodzicielskich do programu krzyżowań dokonano na podstawie wcześniej wykonanej oceny fenotypowej 36 genotypów. W sumie wykastrowano i zapyłono 1268 kwiatów, z których uzyskano 645 owoców. Wyekstrahowane nasiona-przemyto pod bieżącą wodą i wysuszono w temperaturze pokojowej, następnie przesypano je do torebek i przechowywano w lodówce do momentu stratyfikacji. Nasiona aktualnie poddawane są procesowi stratyfikacji do pocz. lutego 2022 roku.

2) uprawa, ocena i selekcja siewek w polowej kwaterze selekcyjnej;

W sezonie wegetacyjnym wykonano podstawowe zabiegi uprawowe i pielęgnacyjne 306 młodych siewek, wyprodukowanych w latach 2015-2020, rosnących na polu w dwóch kwaterach selekcyjnych (PS1-ŚWID'2015 i PS2-ŚWID'2016) w Sadzie Doświadczalnym w Dąbrowicach. Wiosną posadzono kolejne 67 siewek uzyskanych w programie krzyżowań wykonanym w roku 2019. Przeprowadzono wstępną ocenę siewek pod kątem siły wzrostu, pokroju roślin, intensywności kwitnienia i zawiązania owoców, plonowania roślin oraz innych cech użytkowych. Łącznie wyselekcjonowano 12 wartościowych pojedynków.

3) kontynuowanie oceny wartości produkcyjnej klonów selekcyjnych w kolekcji klonów oraz w doświadczeniu odmianowo-porównawczym;

Wykonano wstępną ocenę fenotypową 12 klonów selekcyjnych pod kątem wybranych cech użytkowych. Kontynuowano doświadczenie wdrożeniowe w Sadzie Doświadczalnym w Dąbrowicach: z 1 polskim klonem świdosiłwy olcholistnej (klon 5/6) oraz nową odmianą 'Amela' (klon 4/3) i 4 kanadyjskimi odmianami ('Martin', 'Northline', 'Smoky' i 'Thiessen'). W 2021 roku wykonano ocenę: siły wzrostu, pokroju krzewów, intensywności kwitnienia, zawiązania owoców, plonowania i masy owoców. Najsilniejszym wzrostem charakteryzowały się krzewy klonu 5/6 oraz kanadyjskiej odmiany 'Martin', a najsłabszym – 'Thiessen'. Najbardziej wzniesionym pokrojem krzewów charakteryzował się klon 5/6 i odmiana 'Northline', najbardziej rozłożysty pokrój miała odmiana 'Amela'. Najwcześniej kwitły krzewy odmiany 'Martin', a najpóźniej kwiaty wytwarzała odmiana 'Thiessen' oraz klon 5/6.

Najintensywniej kwitły krzewy klonu 5/6, nowej odmiany 'Amela' i 'Northline'. Najwcześniej dojrzewały owoce odmian: 'Martin', 'Thiessen' i 'Smoky', a najpóźniej owoce klonu 5/6. Najwyższe plony zebrano z krzewów odmian 'Amela' oraz 'Martin', najsłabiej plonowały rośliny odmian 'Smoky' i 'Thiessen'. Największe owoce wydawała odmiana 'Martin' i 'Northline', a najmniejsze – klon 5/6.

4) wytypowanie roślin matecznych, a także określenie poziomu ploidalności roślin donorowych;

W maju i czerwcu pobierano próbki najmłodszych, wyrosniętych liści. Optymalizowano warunki analizy cytometrycznej FCM dla gatunku: czas inkubacji, ilość materiału do ekstrakcji jąder, dodatek antyoksydantów, rodzaj buforu ekstrakcyjnego. Następnie według zoptymalizowanych procedur wykonano analizy FCM. Użyto buforu ekstrakcyjnego Partec zawierającego antyoksydanty (PVP, β -merkaptoetanol lub ditiotreitrol) z dodatkiem barwnika fluorescencyjnego DAPI.

5) zainicjowanie kultur *in vitro*, dobór pożywki, stabilizacja i namnażanie kultur wytypowanych odmian;

Zainicjowano kultury *in vitro* 4 odmian świdośliwy: 'Martin', 'Smoky', 'Thiessen' i 'Northline', rosnących w kolekcji polowej. Pąki wierzchołkowe i kątowe pobierano w miesiącach luty - marzec z jednorocznych pędów. Po odkażeniu powierzchniowym umieszczano je pojedynczo w probówkach na pożywce inicjalnej. Po 4 tygodniach eksplantaty inicjalne przełożono na pożywkę do stabilizacji kultur. Po miesiącu eksplantaty przełożono na pożywkę do namnażania kultur. Zainicjowano kultury *in vitro* 4 wytypowanych odmian świdośliwy.

6) indukowanie poliploidów z użyciem kultur pędów bocznych przez poddanie ich działaniu antymitotyków kolchicyny i amiprofosu metylu (APM);

Wykorzystano pędy pochodzące z 4-tygodniowych kultur pędów utrzymywanych na pożywce do namnażania zawierającej BAP. Indukowano poliploidy poprzez traktowanie pędów antymitotykami: kolchicyną i APM przez 2 tygodnie (6 dni w ciemności, pozostały okres w warunkach fitotronu). Następnie pędy przełożono na pożywkę do namnażania, na której przebywały przez 4 tygodnie. Po tym czasie oceniano współczynnik namnażania (liczba pędów na eksplantat) oraz fitotoksyczność antymitotyków (procent eksplantatów, które zamarły). Wszystkie nowo wytworzone pędy przełożono ponownie na pożywkę do namnażania świdośliwy, gdzie przebywały przez kolejne 4 tygodnie. W porównaniu do kontroli wszystkie zastosowane w badaniach antymitotyki, szczególnie w wyższych stężeniach, obniżały współczynnik namnażania. Najbardziej fitotoksyczny był APM szczególnie w wyższym stężeniu, jednak w stopniu umożliwiającym ocenę i dalsze namnażanie pędów.

7) cytometryczna ocena poziomu ploidalności zregenerowanych roślin w celu wykrycia tetraploidów;

Tetraploidy wykrywano poprzez ocenę cytometryczną poziomu ploidalności roślin (pędy zregenerowane w drugim pasażu od traktowania antymitotykami), Analizy wykonywano wg zoptymalizowanych procedur analizy FCM przy użyciu cytometru (CyFlow PA, Partec, Niemcy) wykorzystując próby liści pobierane z regenerantów.

Uzyskano 7 tetraploidów: 2 w odmianie 'Smoky', 1 w odmianie 'Martin', 3 w odmianie 'Thiessen' oraz 1 w odmianie 'Northline'. Wszystkie uzyskane tetraploidy są w trakcie rozmnażania. W badaniach wykryto również liczne miksoploidy, które ponownie będą poddane analizie cytometrycznej.

Działania upowszechnieniowo-promocyjne:

Prowadzono spotkania informacyjne dla producentów owoców oraz szkółkarzy zainteresowanych genotypami świdosiwy wyhodowanymi w IO-PIB oraz udzielano licznych porad i konsultacji na temat realizowanego programu hodowli i dotychczasowych osiągnięć w obrębie tego gatunku, wartości produkcyjnej odmian polskich i zagranicznych oraz ich przydatności do uprawy towarowej w Polsce.

W dniu 23 listopada 2021 wygłoszono 2 referaty nt. "*Kierunki i osiągnięcia polskiej hodowli twórczej świdosiwy olcholistnej*" - dr Łukasz Seliga, dr hab. Stanisław Pluta, prof. IO oraz „*Zastosowanie markerów molekularnych do potwierdzenia tożsamości odmianowej w ochronie praw hodowcy*” – dr Anita Kuras, w ramach seminarium on-line pt. „Kierunki i osiągnięcia hodowli twórczej roślin ogrodniczych w Instytucie Ogrodnictwa – PIB w Skierniewicach” (<https://www.youtube.com/watch?v= QTFdDBnpWAY>).

Przygotowano publikację pt. „*In vitro chromosome doubling in Saskatoon berry (Amelanchier alnifolia Nutt.)*”, *Agronomy* (w druku) oraz raport nt. „*Przydatność nowych genotypów świdosiwy olcholistnej (Amelanchier alnifolia) do uprawy w centralnej Polsce*”, który zamieszczono na stronie internetowej IO-PIB.

Wykonanie miernika:

1. liczba kombinacji w wykonanym programie krzyżowań – plan 20, wykonanie 20
2. zainicjowanie kultur *in vitro* świdosiwy – plan 4 odmiany, wykonanie 4 odmiany
3. indukowanie poliploidów z użyciem 2 antymitotyków – plan 4 odmiany, wykonanie 4 odmiany
4. liczba analiz dotyczących wykrywania tetraploidów z użyciem cytometru przepływowego – plan 200, wykonanie 200
5. liczba przygotowanych publikacji/artykułów – plan 1, wykonanie 1
6. liczba raportów upowszechniających uzyskane wyniki badań i osiągnięcia zamieszczonych na stronie internetowej IO-PIB – plan 1, wykonanie 1