

**Zadanie 109: Analiza fenotypowa i molekularna wybranej populacji segregującej jabłoni dla wyodrębnienia genotypów o zwiększonej tolerancji na zarazę ogniową i wysokiej jakości owoców**

Badania prowadzono w latach 2011-2013. Celem badań była ocena populacji segregującej jabłoni dla wyodrębnienia genotypów o zwiększonej tolerancji na zarazę ogniową i wysokiej jakości owoców.

Badania realizowano w Instytucie Ogrodnictwa w dwóch Pracowniach Zakładu Hodowli Roślin Sadowniczych, tzn. w Pracowni Genetyki i Hodowli Roślin Sadowniczych oraz w Pracowni Niekonwencjonalnych Metod Hodowli Roślin Sadowniczych, a także w Pracowni Fitopatologii Sadowniczej Zakładu Ochrony Roślin Sadowniczych.

Z uwagi na wieloletni charakter prowadzonych badań (rośliny drzewiaste) do wyprodukowania segregującej populacji jabłoni wykorzystano nasiona z programu krzyżowań wykonanego wiosną 2010 roku. Nasiona otrzymano w wyniku skrzyżowania dwóch form rodzicielskich: odmiany 'Free Redstar' (mało podatna na zarazę ogniową) i 'Idared' (wrażliwa na zarazę ogniową). Łącznie zapyłono 1.020 kwiatów i uzyskano 162 owoce, z których wydobyto 946 nasion. W roku 2011 wykonano stratyfikację i wysiew nasion. Łącznie uzyskano 944 siewki, czyli 99,8 % w stosunku do liczby wysianych nasion. W latach 2011-2012 wykonano ocenę stopnia porażenia siewek przez parcha i mączniaka jabłoni w warunkach tunelowych, a także badania dla wykluczenia niekontrolowanych zapyleń (ocena na podstawie analizy molekularnej profili segregacyjnych form rodzicielskich i potomstwa). Prowadzono również badania nad rolą markerów zlokalizowanych we fragmentach QTL, sprzężonych z cechą odporności na zarazę ogniową oraz nad genami kandydującymi, potencjalnie uczestniczącymi w reakcji rośliny na zakażenie przez *E. amylovora*. Siewki potraktowano bioregulatorem o nazwie Ethrel 480 SL, którego substancją czynną jest etefon (kwas 2-chloro-etylo-fosfoniowy), w ilości 2 ml/litr wody, poprzez opryskanie całych roślin, aby przyspieszyć indukcję pąków kwiatowych i kwitnienie roślin. W roku 2013, w wysokim tunelu foliowym w Sadzie Pomologicznym w Skierniewicach wykonano ocenę fenotypową podatności 944 siewek naszczepionych na karłowatą podkładkę M.9 na zarazę ogniową.

W wyniku badań przeprowadzonych w latach 2011-2013 uzyskano następujące wyniki:

- 935 siewek (99,1%) wykazało całkowitą odporność na parcha jabłoni w warunkach tunelowych, a 9 siewek (0,9%) wykazało wysoką odporność na parcha jabłoni w warunkach tunelowych.
- 939 siewek (99,5%) wykazało całkowitą odporność na mączniaka jabłoni w warunkach tunelowych, a 5 siewek (0,5%) wykazało wysoką odporność na mączniaka jabłoni w warunkach tunelowych.
- 53 siewki (5,6%) nie wykazały symptomów zarazy ogniowej w warunkach tunelowych, 28 siewek (3,0%) wykazało małą podatność na tego patogena w warunkach tunelowych, 863 siewki (91,4%) wykazały średnią i wysoką podatność na tego patogena w warunkach tunelowych.
- W około 5.000. testach z wybranymi eksperymentalnie starterami mikrosatelitarnymi potwierdzono status mieszańca 'Free Redstar' x 'Idared' dla niemal wszystkich analizowanych roślin z populacji obejmującej 944 osobniki. Analiza uzyskanych wzorów segregacyjnych wykazała, że spośród badanych roślin potomnych tylko cztery genotypy (0,5%) miały wzory prążkowe DNA inne niż oczekiwano dla potomstwa tej pary form rodzicielskich.
- W ponad 13.000. testach SSR i/lub SCAR-PCR dokonano weryfikacji przydatności markerów, charakteryzujących znane z literatury regiony QTL sprzężone z cechą odporności na zarazę ogniową na badanej populacji mieszańcowej – potwierdzono przydatność pięciu z siedmiu analizowanych markerów, ale ich przydatność należy zawsze rozpatrywać w odniesieniu do specyfiki cechy regulowanej przez wiele genów.
- Przeprowadzono analizę struktury i zmian funkcjonalnych grupy genów kandydujących, wydzielonych z genotypów o różnej podatności na zarazę ogniową. Uzyskane wyniki potwierdziły istnienie skomplikowanego mechanizmu odporności na tę chorobę – żaden z w/w genów nie spełnił kryteriów efektywnego markera cechy odporności dla wszystkich badanych genotypów.