

Zadanie 75: Badania nad możliwością poszerzenia zmienności genetycznej maliny właściwej (*Rubus idaeus*) pod względem różnej pory dojrzewania i jakości owoców

W roku 2016 realizowano dwa tematy badawcze:

Temat badawczy 1

Indywidualna ocena cech fenotypowych wszystkich roślin maliny właściwej w doświadczeniu polowym, założonym jesienią 2014 r., siewek (mieszkańców pokolenia F₁) oraz ich form rodzicielskich, pod względem wybranych cech biologicznych, uwarunkowanych genetycznie

Celem badań było określenie przydatności wybranych odmian maliny właściwej do tworzenia nowej zmienności genetycznej w obrębie gatunku *Rubus idaeus*., zwłaszcza po względem różnej pory dojrzewania i jakości owoców.

Materiałem roślinnym była populacja roślin maliny właściwej, rosnąca w doświadczeniu polowym, założonym jesienią 2014 roku. Populacja ta obejmuje siewki mieszkańców pokolenia F₁, otrzymane ze skrzyżowania w układzie diallelicznym według II metody Griffinga, 10 odmian maliny właściwej ('Canby', 'Glen Ample', 'Laszka', 'Polana', 'Polka', 'Radziejowa', 'Schönemann', 'Sokolica', 'Veten' i 'Willamette'), uwzględniającej krzyżowania wprost (45 kombinacji krzyżowań) i wsobne (10 kombinacji krzyżowań), oraz rośliny wszystkich odmian rodzicielskich. Odmiany rodzicielskie pochodzą z programów hodowli, realizowanych w różnych regionach geograficznych świata i dlatego różnią się pod względem wielu cech biologicznych uwarunkowanych genetycznie. Doświadczenie polowe zlokalizowano na polu doświadczalnym Sadu Pomologicznego Instytutu Ogrodnictwa w Skierniewicach. Założone jest ono w układzie bloków losowych w czterech powtórzeniach, po 12 siewek w każdym powtórzeniu. Rozstawa sadzenia to 0,4 m x 2,0 m. Doświadczenie obejmuje 2.640 siewek, należących do 45 rodzin mieszkańców, otrzymanych w wyniku kontrolowanych krzyżowań form rodzicielskich oraz do 10 rodzin mieszkańców otrzymanych na drodze samozapylenia tych form. Ponadto, dla dokładnej oceny uzyskanej zmienności w obrębie ocenianych mieszkańców, w doświadczeniu umieszczono także genotypy rodzicielskie użyte w programie krzyżowań (3 rośliny genotypów rodzicielskich x 4 powtórzenia). Poletka z genotypami rodzicielskimi rozlosowane są wśród poletek mieszkańców. Tak więc w doświadczeniu polowym oceniano łącznie 2.760 roślin, z czego 2.640 roślin to siewki, a 120 roślin to odmiany rodzicielskie (mieczne).

Oceniano następujące fenotypowe cechy wszystkich roślin rosnących w doświadczeniu, tj. zdolność do wytwarzania kwiatów i owoców w okresie letnio-jesiennym, termin dojrzewania owoców (początek i koniec zbiorów), obecność kolców na pędach, plonowanie roślin, wygląd owoców (atrakcyjność, barwa, wielkość), siła wzrostu roślin i stopień porażenia roślin przez agrofagi (choroby, szkodniki). Stwierdzono, że rośliny różniły się bardzo pod względem wszystkich ocenianych cech, zarówno pomiędzy sobą w obrębie ocenianych populacji (rodziny mieszkańców) oraz pomiędzy ocenianymi populacjami mieszkańców i form (odmian) rodzicielskich. Spośród 2.640 siewek, tylko niewielką ich część, tzn. 527 siewek o wysokości do 150 cm (20,0% ocenianej populacji) zakwalifikowano do grupy siewek mających zdolność do wydawania owoców jesienią („powtarzających owocowanie”). Najwięcej takich siewek stwierdzono w rodzinach: 'Polana' x 'Polana' oraz 'Polana' x 'Polka' (po 38 siewek, co stanowiło aż 79,2% ocenianej populacji w tych rodzinach), a także w rodzinie siewek o rodowodzie 'Willamette' x 'Willamette' (30 siewek, czyli 62,5% tej populacji siewek).

Kolejną ocenianą cechą była pora dojrzewania owoców. Początek dojrzewania zaobserwowano w terminach od 15 czerwca (siewki o rodowodach: Canby' x 'Glen Ample', 'Canby' x 'Laszka', 'Canby' x 'Polana', 'Canby' x 'Radziejowa', 'Glen Ample' x 'Schönemann', 'Glen Ample' x 'Veten', 'Laszka' x 'Polana', 'Laszka' x 'Polka', 'Laszka' x 'Schönemann', 'Laszka' x 'Veten', 'Polana' x 'Sokolica', 'Polka' x 'Radziejowa', 'Polka' x 'Schönemann', 'Polka' x 'Sokolica', 'Radziejowa' x 'Schönemann', 'Radziejowa' x 'Veten' i 'Schönemann' x 'Sokolica') do 22 czerwca (samozapylenie odmiany 'Willamette'). Odmiany mieczne również różniły się pod względem terminu dojrzewania owoców. Najwcześniej, bo 15

czerwca dojrzewały owoce odmiany 'Laszka', a najpóźniej – 23 czerwca, owoce odmiany 'Polana' i 24 czerwca – owoce odmiany 'Willamette'.

Ważną cechą ocenianych krzewów maliny czerwonej była także bezkolcowość pędów na całej ich długości, którą stwierdzono u 206 siewek (7,8% ocenianej populacji roślin). Najwięcej siewek bezkolcowych odnotowano w rodzinach siewek o rodowodach: 'Glen Ample' x 'Glen Ample' (39 siewek), 'Glen Ample' x 'Polka' (31 siewek), 'Glen Ample' x 'Sokolica' (17 siewek), 'Polka' x 'Polka' (17 siewek), 'Schönemann' x 'Willamette' (15 siewek), 'Laszka' x 'Laszka' (13 siewek), 'Veten' x 'Glen Ample' (12 siewek).

W doświadczeniu oceniano także plon owoców, który wyniósł od 0,070 kg/krzew ('Willamette' x 'Willamette') do 0,986 kg/krzew ('Polana' x 'Sokolica').

W przeprowadzonych badaniach oceniano również zewnętrzną jakość owoców, którą nazwano wyglądem owoców. Wygląd ten oceniano w oparciu o trzy cechy szczegółowe: atrakcyjność, barwa i wielkość owoców (średnie w skali bonitacyjnej 1-9). Najwyższe noty pod względem atrakcyjności otrzymały siewki o rodowodzie 'Polka' x 'Radziejowa' (4,6 pkt.), pod względem barwy siewki o rodowodzie 'Radziejowa' x 'Veten' (4,4 pkt.), a pod względem wielkości 'Glen Ample' x 'Sokolica' (5,1 pkt.)

Ponadto dokonano podziału ocenianych krzewów pod względem ich przeciętnej siły wzrostu. Najwyższe siewki odnotowano w rodzinach siewek otrzymanych ze skrzyżowania: 'Canby' x 'Laszka' (268,5 cm), 'Canby' x 'Sokolica' (252,8 cm), 'Sokolica' x 'Veten' (251,9 cm), 'Radziejowa' x 'Veten' (247,8 cm), 'Canby' x 'Radziejowa' (246,2 cm). Najniższe, natomiast w rodzinach siewek otrzymanych ze skrzyżowania: 'Willamette' x 'Willamette' (121,2 cm), 'Polka' x 'Polka' (142,9 cm), 'Polana' x 'Polka' (131,4 cm), 'Polana' x 'Polana' (137,1 cm).

Oceniane rośliny różniły się także pod względem stopnia porażenia przez agrofagi, który oceniono w skali bonitacyjnej 1-9. W przypadku chorób średni stopień porażenia, w zależności od badanej rodziny siewek, wyniósł od 1,7 do 3,4 pkt., a w przypadku szkodników od 1,9 do 3,7 pkt. Rośliny mateczne pod względem stopnia porażenia przez szkodniki oceniono w sposób dość podobny jak rodziny mieszańców, chociaż na ogół rośliny mateczne były nieco silniej porażone przez choroby niż przez szkodniki.

Temat badawczy 2

Analiza molekularna bezkolcowych i owocujących w okresie letnio-jesiennym pojedynków (siewek) maliny właściwej, wyselekcjonowanych w 2015 roku z populacji siewek w doświadczeniu polowym, założonym jesienią 2014 r., dla zweryfikowania ich statusu mieszańca z planowanego zapylenia

Celem badań realizowanych było zweryfikowanie statusu mieszańca 25 bezkolcowych i owocujących w okresie letnio-jesiennym pojedynków maliny właściwej, wyselekcjonowanych z populacji siewek otrzymanych w 2014 roku.

Badania przeprowadzono na 25 roślinach mieszańcowych (F_1), oraz 7 odmianach maliny właściwej, użytych jako ich formy rodzicielskie. DNA do badań izolowano metodą opartą na CTAB, opisaną przez Doyle i Doyle (1990). Czystość uzyskanych preparatów określano na podstawie analizy elektroforegramów uzyskanych po elektroforezie horyzontalnej w 0,8% żelu agarozowym oraz w oparciu o pomiar współczynników ekstynkcji próbki przy długości fali 230, 260, 280 i 320 nm. Koncentracje DNA w preparacie oznaczano poprzez porównanie z DNA faga λ o znanej koncentracji po elektroforezie w żelu agarozowym oraz spektrofotometrycznie, przy długości fali 260 nm. Polimorfizm DNA określano w oparciu o wyniki testów SSR, umożliwiających analizę regionów mikrosatelitarnych, w obecności 9 par starterów mikrosatelitarnych: Ru2a, Ru4a, Ru12a, Ru25a, Ru26a, Ru35a, Ru43a, Ru45c, Rur57a wytypowanych w poprzednich latach trwania badań. Produkty amplifikacji rozdzielano elektroforetycznie w 2% żelu agarozowym (obserwacje w świetle UV po wybarwieniu amplikonów 0,5% bromkiem etydydy). Łącznie przeprowadzono 1.728 reakcji amplifikacji, w których wygenerowano 278 amplikonów, w tym 221 polimorficznych. Długość uzyskanych amplikonów wahała się od 120 do 700 pz. Każdy z testowanych genotypów

został oceniony na podstawie 8-10 charakteryzujących go fragmentów DNA. Status mieszańca z planowanego zapylenia potwierdzono dla wszystkich testowanych genotypów. W przypadku wszystkich mieszańców oznaczonych numerami porządkowym 1 ('Glen Ample' x 'Glen Ample'), od 6 do 10 (Polana x Polana) i od 11 do 21 (Polka x Polka), po amplifikacji z testowanymi starterami obserwowano wyłącznie fragmenty DNA typowe dla form rodzicielskich, co dowodzi, że planowane krzyżowanie doszło do skutku. Na matrycach DNA wydzielonych z mieszańców nr: 3 i 4 o rodowodzie 'Laszka' x 'Polka' zamplifikowano fragmenty DNA charakterystyczne dla form matecznej i ojcowskiej (50% : 50%). Po analizie wzorów DNA uzyskanych dla mieszańców nr 22 ('Polka' x 'Schönemann') oraz 23 i 24 ('Polka' x 'Sokolica') obserwowano najniższy procentowy udział fragmentów DNA charakterystycznych dla formy ojcowskiej, który wynosił od 18% dla mieszańca nr 23 do 33% dla mieszańca nr 24.