

Zadanie 76 Badania nad możliwością zwiększenia zawartości składników bioaktywnych w owocach truskawki na drodze hybrydyzacji wewnątrz- i międzygatunkowej w obrębie rodzaju *Fragaria*

W roku 2017 badania prowadzono w ramach 3 tematów badawczych:

Temat badawczy 1

Ocena fenotypowa mieszańców F_1 z rodzaju *Fragaria* pod względem plonu owoców i jego jakości oraz zdrowotności roślin, wyselekcjonowanie i rozmnożenie mieszańców o najwyższych wartościach tych cech

Celem tematu była ocena uzyskanych w roku 2015 mieszańców F_1 z rodzaju *Fragaria* pod kątem ich plenności, jakości owoców oraz tolerancji roślin na ważne gospodarczo choroby liści, wyselekcjonowanie najbardziej wartościowych mieszańców oraz ich rozmnożenie.

Przedmiotem badań było 6.097 siewek pokolenia F_1 , uzyskanych w 2015 roku w wyniku krzyżowań wewnątrz- i międzygatunkowych wybranych form rodzicielskich z rodzaju *Fragaria* ('Alba', 'Alice', 'Asia', 'Camarosa', 'Candiss', 'Chandler', 'Charlotte', 'Cifrance', 'Cigaline', 'Cilady', 'Clery', 'Darselect', 'Dora', 'Elsanta', 'Grandarosa', 'Honeoye', 'Konfitura', 'Madeleine', 'Marmolada', 'Matis', 'Onda', 'Panvik', 'Patty', 'Pink Rosa', 'Roxana', 'Sophie', 'Spadeka', Sugar Lia', *Fragaria chiloensis* Del Norte, *F. chiloensis* Yaquina A, *F. chiloensis* Yaquina B, *F. virginiana* ssp. *glauca*, *F. vesca* ssp. *vesca* Korsica), odznaczających się wysoką zawartością w owocach składników bioaktywnych. Ocenę plenności i cech jakości owoców wykonano przy użyciu skali bonitacyjnej 1-5, zaś do oceny porażenia siewek przez patogeny grzybowe użyto skali bonitacyjnej 0-5.

Oceniane siewki w większości plonowały słabo, przyczyną czego było silne uszkodzenie pąków kwiatowych i kwiatów przez przymrozki wiosenne. Tylko 275 siewek (4,51%) określono jako bardzo plenne, zaś 673 siewki (11,04%) jako plenne. Bardzo dużymi owocami wyróżniały się 423 mieszańce (6,94%). W badanej populacji ponad 36% mieszańców (2.211 siewek) posiadało owoce atrakcyjne w wyglądzie. Ponad 64% siewek wytwarzało owoce jędrne lub bardzo jędrne. Za rośliny mało podatne na białą plamistość liści uznano 40 siewek (0,66%), zaś za średnio podatne – tylko 2 siewki (0,03%). Pozostałe 5.891 mieszańców (96,62%) nie wykazywało żadnych objawów występowania tej choroby. Porażenie siewek przez czerwoną plamistość liści wynosiło średnio 2,54 dla całej populacji mieszańców, a u 30 siewek (0,49%) nie zaobserwowano żadnych objawów porażenia. Badane mieszańce były w niewielkim stopniu porażone przez mączniaka prawdziwego truskawki (średnia ocena - 0,42). Większość siewek (4.585 roślin, 75,21% ogółu populacji) nie wykazywała żadnych objawów tej choroby.

Biorąc pod uwagę dwuletnie wyniki oceny plonowania i jakości owoców oraz odporności/podatności roślin na choroby liści, spośród ocenianych 6.097 genotypów wyselekcjonowano i rozmnożono do dalszych badań 90 najbardziej wartościowych pojedynków. Należą one do rodzin: 'Clery' x 'Grandarosa' (15 genotypów), 'Onda' x 'Panvik' (10 genotypów), 'Marmolada' x 'Grandarosa' (8 genotypów), 'Candiss' x 'Panvik' (7 genotypów), 'Cigaline' x 'Grandarosa' (6 genotypów), 'Candiss' x 'Matis' (6 genotypów), 'Camarosa' x 'Panvik' (5 genotypów), 'Asia' x 'Matis' (4 genotypy), 'Alba' x 'Grandarosa' (3 genotypy), 'Alice' x 'Matis' (3 genotypy), 'Chandler' x 'Matis' (3 genotypy), 'Patty' x 'Panvik' (3 genotypy), 'Sophie' x 'Pink Rosa' (3 genotypy), 'Alice' x 'Pink Rosa' (2 genotypy), 'Cifrance' x 'Matis' (2 genotypy), 'Clery' x 'Matis' (2 genotypy), *Fragaria chiloensis* Del Norte x 'Elsanta' (2 genotypy), 'Asia' x 'Panvik' (1 genotyp), 'Cifrance' x 'Panvik' (1 genotyp), 'Cigaline' x 'Matis' (1 genotyp), 'Darselect' x 'Grandarosa' (1 genotyp), *Fragaria chiloensis* Yaquina A x 'Matis' (1 genotyp), *Fragaria chiloensis* Yaquina B x 'Panvik' (1 genotyp).

Temat badawczy 2

Ocena fenotypowa wyselekcjonowanych mieszańców pod względem plonu i jakości owoców (ich wielkości, jędrności i podatności na szarą pleśń), podatności roślin na choroby liści oraz podstawowe analizy składu chemicznego owoców (substancje rozpuszczalne, kwasy, poziom związków fenolowych ogółem i zawartość barwników antocyjanowych)

Celem tematu była ocena wyselekcjonowanych i rozmnożonych w roku 2016 mieszańców F_1 z rodzaju *Fragaria* pod kątem ich plenności, jakości owoców (ich wielkości, jędrności, podatności na szarą pleśń oraz zawartości w owocach substancji rozpuszczalnych, kwasów, związków fenolowych i barwników antocyjanowych), a także tolerancji roślin na ważne gospodarczo choroby liści (biała i czerwona plamistość liści, mączniak prawdziwy truskawki).

Przedmiotem badań były rośliny 90 mieszańców (klonów) truskawki wyselekcjonowanych w roku 2016 spośród 6.354 siewek pokolenia F_1 (seria I), rosnące w polowym doświadczeniu porównawczym, założonym jesienią 2016 roku. Należą one do rodzin: 'Grandarosa' x 'Elsanta' (13 genotypów), 'Pink Rosa' x 'Elsanta' (13 genotypów), 'Grandarosa' x 'Pink Rosa' (7 genotypów), 'Vibrant' x 'Matis' (7 genotypów), 'Onda' x 'Grandarosa' (5 genotypów), 'Polka' x 'Matis' (4 genotypy), 'Camarosa' x 'Pink Rosa' (4 genotypy), 'Honeye' x 'Pink Rosa' (4 genotypy), 'Camarosa' x 'Matis' (4 genotypy), 'Konfitura' x 'Grandarosa' (3 genotypy), *Fragaria chiloensis* Del Norte x 'Grandarosa' (3 genotypy), 'Konfitura' x 'Elsanta' (2 genotypy), 'Onda' x 'Pink Rosa' (2 genotypy), 'Roxana' x 'Pink Rosa' (2 genotypy), 'Sophie' x 'Grandarosa' (2 genotypy), 'Chandler' x 'Grandarosa' (2 genotypy), *F. chiloensis* Del Norte x 'Matis' (2 genotypy), 'Sugar Lia' x 'Grandarosa' (1 genotyp), 'Onda' x 'Matis' (1 genotyp), 'Patty' x 'Pink Rosa' (1 genotyp), 'Patty' x 'Elsanta' (1 genotyp), 'Roxana' x 'Grandarosa' (1 genotyp), 'Sophie' x 'Matis' (1 genotyp), 'Camarosa' x 'Elsanta' (1 genotyp), 'Cifrance' x 'Grandarosa' (1 genotyp), 'Clery' x 'Pink Rosa' (1 genotyp), 'Konfitura' x 'Pink Rosa' (1 genotyp), 'Madeleine' x 'Pink Rosa' (1 genotyp). Każdy z wymienionych klonów reprezentowany jest przez 15 roślin, posadzonych w jednym powtórzeniu w rozstawie 1,1 x 0,3 m.

Ocenę plonu i masy owoców, a także podstawową analizę składu chemicznego owoców wykonano przy użyciu aparatury, zaś wielkość, atrakcyjność, kształt, barwę, połysk i jędrność owoców, a także stopień porażenia roślin przez choroby liści – używając skali bonitacyjnej, opisanej w temacie 1.

Badane klony w większości plonowały słabo z powodu silnych uszkodzeń pąków kwiatowych i kwiatów przez przymrozki wiosenne. Wyższy od średniej (71,1 g) plon uzyskano z roślin 37 klonów. Owoce 48 klonów oceniono wyżej od średniej, wynoszącej 3,6, pod względem atrakcyjności owoców. Niemal połowa badanych klonów (43 genotypy) wytwarzała owoce o kształcie sercowatym; dość liczna grupa genotypów posiadała owoce stożkowate (16 mieszańców), szerokostojkowate (11 genotypów), kuliste (7 mieszańców) lub sercowatokuliste (5 genotypów). Pojedyncze genotypy miały owoce kształtu romboidalnego, kulistego z wyraźnie zaznaczoną szyjką, wydłużonego klinu, kulisto-splaszczonego, klinowatego, kulisto-sercowatego i owalnego. Większość genotypów wytwarzała owoce o barwie pomarańczowo-czerwonej lub intensywnie czerwonej. Średnia ocena barwy owoców, oszacowana dla wszystkich genotypów, wynosiła 4,2. Większość owoców odznaczała się także dość silnym połyskiem (średnia ocena 4,2); wyżej pod tym względem oceniono owoce 23 klonów. Owoce większości badanych genotypów były jędrne lub bardzo jędrne. W przypadku 57 klonów jędrność owoców była wyższa od średniej, wynoszącej 4,4.

Dla ekstraktu refraktometrycznego, uzyskane wartości wahały się od 6,53% do 14,18%, a kwasowość miareczkowa - od 0,49 % do 1,6%. W przypadku kwasowości czynnej (pH) uzyskane wartości wynosiły od 3,18 do 4,15. Zawartość barwników antocyjanowych w owocach badanych klonów wahała się od 6 do 37 mg/100 g. Więcej antocyjanów, w porównaniu do wartości średniej, zawierały owoce 9 klonów. Zawartość związków fenolowych wahała się od 70 do 215 mg/100 g, a wyższą od średniej zawartością tych związków odznaczały się owoce 39 klonów. Zawartość kwasu L-askorbinowego w owocach badanych klonów wahała się od 14 do 136 mg/100 g, kwasu jabłkowego od 28 do 578 mg/100 g, a kwasu cytrynowego od 408 do 1502 mg/100 g.

Nieznaczne objawy porażenia liści przez białą plamistość stwierdzono w przypadku 6 klonów. Rośliny pozostałych 84 genotypów nie wykazywały fenotypowych objawów tej choroby. Większość badanych klonów (47 genotypów) była tylko w niewielkim stopniu porażona przez czerwoną plamistość liści, a dla 7 genotypów nie stwierdzono żadnych oznak porażenia. W przypadku 72 klonów nie zaobserwowano fenotypowych objawów mączniaka prawdziwego truskawki.

Temat badawczy 3

Zweryfikowanie statusu mieszańca międzygatunkowego dla mieszańców F_1 uzyskanych z kontrolowanego zapylenia w obrębie rodzaju *Fragaria*

Celem tematu było potwierdzenie statusu mieszańców międzygatunkowych F_1 , uzyskanych z krzyżowania kontrolowanego, wykonanego w latach 2014-2015, w oparciu o testy mikrosatelitarne oraz poprzez ocenę zawartości jądrowego DNA.

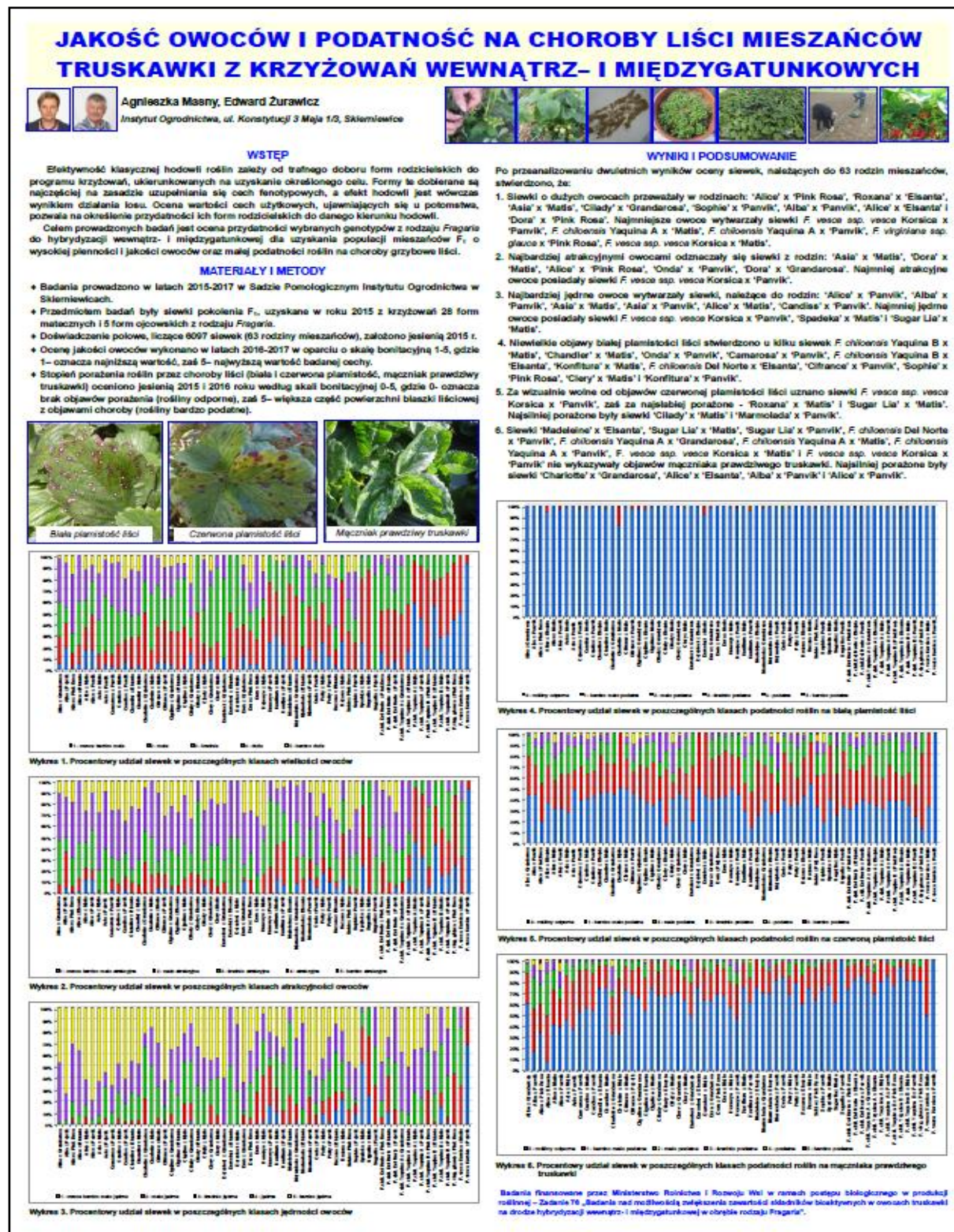
Badania nad potwierdzeniem statusu mieszańców międzygatunkowych F_1 , uzyskanych z krzyżowania kontrolowanego, w roku 2017 prowadzono w oparciu o dwie metody.

Metoda 1 użyta została w celu zbadania 17 mieszańców międzygatunkowych i 4 form rodzicielskich. Przeznaczone do badań genotypy należały do rodzin: *F. vesca* ssp *vesca* Korsica x 'Panvik', *F. vesca* ssp. *vesca* Korsica x 'Matis', *Fragaria chiloensis* Del Norte x 'Grandarosa' i *F. chiloensis* Del Norte x 'Matis'. DNA do badań izolowano z w/w roślin metodą opartą na CTAB, opisaną przez Doyle i Doyle. Czystość uzyskanych preparatów określano na podstawie analizy elektroforegramów oraz w oparciu o pomiar współczynników ekstynkcji próbki przy długości fali 230, 260, 280 i 320 nm, a koncentrację DNA w preparacie poprzez porównanie z DNA faga λ o znanej koncentracji. Polimorfizm DNA określano w oparciu o wyniki testów SSR w obecności 9 par starterów mikrosatelitarnych: BFACT045, ARSFL009, ARSFL015, COBRA-R, EMFvi003, EMFv003, FAC001, FrH4177, FrH4163, wytypowanych w poprzednich latach trwania badań. Łącznie przeprowadzono 1242 reakcje amplifikacji, w których uzyskano 112 amplikonów, w tym 98 (87,5%) polimorficznych. Długość amplikonów wahała się od 170 do 450 pz. Analizowane genotypy truskawki scharakteryzowano na podstawie 12-27 polimorficznych fragmentów DNA. Status mieszańca potwierdzono dla 7 z 17 testowanych genotypów. Procentowy udział amplikonów pochodzących od formy matecznej wynosił od 36 do 100%. Najwyższy udział fragmentów DNA formy matecznej obserwowano dla mieszańców oznaczonych numerami od 3 do 12 (*F. vesca* ssp. *vesca* Korsica x 'Panvik'), a najniższy dla mieszańca nr 16 (*F. chiloensis* Del Norte x 'Matis'). Dla mieszańców nr 13, 14 i 15 (*F. chiloensis* Del Norte x 'Grandarosa') procentowy udział formy ojcowskiej wynosił odpowiednio 16, 33 i 25%. Dla genotypów z krzyżowania *F. chiloensis* Del Norte x 'Matis' procentowy udział fragmentów DNA charakterystycznych dla formy ojcowskiej wynosił dla mieszańca nr 17 - 17%, a dla mieszańca nr 16 - 36%.

Metoda 2 użyta została do oceny zawartości jądrowego DNA (wielkość genomu) 13 mieszańców międzygatunkowych, uzyskanych z krzyżowania formy diploidalnej (*F. vesca*) z oktoploidalną (*F. x ananassa*; odmiany 'Panvik' i 'Matis') oraz ich genotypów rodzicielskich. Jako standard zewnętrzny użyto roślin z gatunku *Fragaria moschata* (6x). Do ekstrakcji jąder komórkowych użyto buforu Partec z dodatkiem barwnika fluorescencyjnego IP; ocenę zawartości jądrowego DNA wykonano przy użyciu cytometru przepływowego. Zoptymalizowano warunki analizy cytometrycznej: skład buforu ekstrakcyjnego/ barwiącego, czas inkubacji, dobór standardu wewnętrznego – genotypu o znanej zawartości DNA jądrowego – *Solanum lycopersicum* (2C=1,96 pg), *Glycine max* (2,91 pg), *Zea mays* (2C=5,44 pg) oraz *Raphanus sativus* (2C=1,11 pg). Przebadano rośliny 13 mieszańców, każdą w 10 powtórzeniach technicznych. Histogramy najlepszej jakości uzyskano stosując bufor Partec z dodatkiem PVP 1% i czas inkubacji powyżej 1 godz. Najlepszym standardem wewnętrznym okazał się gatunek *R. sativus*, którego piki 2C i 4C nie pokrywały się z pikami badanych genotypów *Fragaria*, co pozwalało na obliczenie zawartości jądrowego DNA z dużą precyzją. W przypadku 12 mieszańców stwierdzono zawartość jądrowego DNA charakterystyczną dla diploidów, zaś dla 1 mieszańca – typową dla oktoploida.

Poster prezentowany podczas Ogólnopolskiej Ogrodniczej Konferencji Naukowej „Ziemia, Roślina, Człowiek”, Kraków, 20-21 września 2017 r.

Masny Agnieszka, Żurawicz Edward, Instytut Ogrodnictwa, ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, Skierniewice, **„Jakość owoców i podatność na choroby liści mieszańców truskawki z krzyżowań wewnątrz- i międzygatunkowych”**. Uwzględnia wyniki oceny jakości owoców oraz zdrowotności siewek z roku 2016 (Sprawozdanie za rok 2016, Temat badawczy 1, str. 27-46), wyniki oceny zdrowotności roślin w roku 2015 (Sprawozdanie za rok 2015, Temat badawczy 3, str. 50-58), a także wyniki oceny jakości owoców z roku 2017 (Sprawozdanie za rok 2017, Temat badawczy 1, str. 9-11 oraz 15-22)



Abstrakt zamieszczony w materiałach konferencyjnych: Uwzględnia wyniki oceny jakości owoców oraz zdrowotności siewek z roku 2016 (Sprawozdanie za rok 2016, Temat badawczy 1, str. 27-46) oraz wyniki oceny zdrowotności roślin w roku 2015 (Sprawozdanie za rok 2015, Temat badawczy 3, str. 50-58).

Masny Agnieszka, Żurawicz Edward, Instytut Ogrodnictwa, ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, Skierniewice, **„Jakość owoców i podatność na choroby liści mieszańców truskawki z krzyżowań wewnątrz- i międzygatunkowych”**. Ogólnopolska Ogrodnicza Konferencja Naukowa „Ziemia, Roślina, Człowiek”, Kraków, 20-21 września 2017 r. Materiały konferencyjne: 110

Jakość owoców i podatność na choroby liści mieszańców truskawki z krzyżowań wewnątrz- i międzygatunkowych

Agnieszka Masny, Edward Żurawicz
Instytut Ogrodnictwa, ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, Skierniewice

Przedmiotem badań były siewki pokolenia F₁, uzyskane w roku 2015 z krzyżowań wybranych form rodzicielskich z rodzaju *Fragaria*. Doświadczenie, liczące 6097 siewek (63 rodzin mieszańców), założono jesienią 2015 r. W latach 2015-2016 przeprowadzono ocenę porażenia siewek przez choroby liści, a w roku 2016 - ocenę jakości owoców.

Siewki o dużych owocach przeważały w rodzinach: 'Alice' x 'Pink Rosa', 'Roxana' x 'Elsanta', 'Asia' x 'Matis', 'Cilady' x 'Grandarosa', 'Sophie' x 'Panvik', 'Alba' x 'Panvik', 'Alice' x 'Elsanta' i 'Dora' x 'Pink Rosa'. Najmniejsze owoce posiadały siewki *F. vesca* ssp. *vesca* Korsica x 'Panvik', *F. chiloensis* Yaquina A x 'Matis', *F. chiloensis* Yaquina A x 'Panvik', *F. virginiana* ssp. *glauca* x 'Pink Rosa', *F. vesca* ssp. *vesca* Korsica x 'Matis'.

Siewki o najbardziej atrakcyjnych owocach należały do rodzin: 'Asia' x 'Matis', 'Dora' x 'Matis', 'Alice' x 'Pink Rosa', 'Onda' x 'Panvik', 'Dora' x 'Grandarosa'. Najmniej atrakcyjne owoce posiadały siewki *F. vesca* ssp. *vesca* Korsica x 'Panvik'.

Siewki o najbardziej jędrnych owocach należały do rodzin: 'Alice' x 'Panvik', 'Alba' x 'Panvik', 'Asia' x 'Matis', 'Asia' x 'Panvik', 'Alice' x 'Matis', 'Candiss' x 'Panvik'. Najmniej jędrne owoce posiadały siewki *F. vesca* ssp. *vesca* Korsica x 'Panvik', 'Spadeka' x 'Matis' i 'Sugar Lia' x 'Matis'.

Niewielkie objawy białej plamistości liści stwierdzono u kilku siewek *F. chiloensis* Yaquina B x 'Matis', 'Chandler' x 'Matis', 'Onda' x 'Panvik', 'Camarosa' x 'Panvik', *F. chiloensis* Yaquina B x 'Elsanta', 'Konfitura' x 'Matis', *F. chiloensis* Del Norte x 'Elsanta', 'Cifrance' x 'Panvik', 'Sophie' x 'Pink Rosa', 'Clery' x 'Matis' i 'Konfitura' x 'Panvik'.

Za odporne na czerwoną plamistość liści uznano siewki *F. vesca* ssp. *vesca* Korsica x 'Panvik', zaś za najsłabiej porażone - 'Roxana' x 'Matis' i 'Sugar Lia' x 'Matis'. Najsilniej porażone były siewki 'Cilady' x 'Matis' i 'Marmolada' x 'Panvik'.

Siewki 'Madeleine' x 'Elsanta', 'Sugar Lia' x 'Matis', 'Sugar Lia' x 'Panvik', *F. chiloensis* Del Norte x 'Panvik', *F. chiloensis* Yaquina A x 'Grandarosa', *F. chiloensis* Yaquina A x 'Matis', *F. chiloensis* Yaquina A x 'Panvik', *F. vesca* ssp. *vesca* Korsica x 'Matis' i *F. vesca* ssp. *vesca* Korsica x 'Panvik' nie były porażone przez mączniaka prawdziwego truskawki. Najsilniej porażone były siewki 'Charlotte' x 'Grandarosa', 'Alice' x 'Elsanta', 'Alba' x 'Panvik' i 'Alice' x 'Panvik'.

*Badania finansowane przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi w ramach postępu biologicznego w produkcji roślinnej – Zadanie 76 „Badania nad możliwością zwiększenia zawartości składników bioaktywnych w owocach truskawki na drodze hybrydyzacji wewnątrz- i międzygatunkowej w obrębie rodzaju *Fragaria*”.*