

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

Celem prowadzonych badań jest weryfikacja hipotezy zakładającej, że metodą hodowli konwencjonalnej możliwe jest poszerzenie istniejącej zmienności genetycznej w obrębie maliny właściwej (czerwonej), poprzez wykorzystanie potencjału genetycznego wybranych genotypów (odmian), pochodzących z różnych regionów geograficznych świata. Rok 2019 był szóstym i zarazem przedostatnim rokiem prowadzenia badań rozpoczętych w roku 2014. Dla uzyskania celu prowadzonych badań, w roku 2019 realizowano cztery szczegółowe tematy badawcze:

Temat badawczy 1

Indywidualna ocena cech fenotypowych roślin maliny właściwej (siewek i ich form rodzicielskich, rosnących w doświadczeniu polowym, założonym w 2014 r.) pod względem następujących cech: plonowanie roślin, jakość owoców, siła wzrostu roślin, pokrój roślin, kolczastość pędów.

Badania prowadzono w Zakładzie Hodowli Roślin Ogrodniczych Instytutu Ogrodnictwa. Obejmowały one ocenę fenotypową populacji roślin (krzewów) maliny właściwej, rosnącej w doświadczeniu polowym (założonym latem 2014 roku), w Sadzie Pomologicznym Instytutu w Skierniewicach. Oceniana populacja obejmowała krzewy (siewki) mieszańców pokolenia F₁, otrzymane ze skrzyżowania (układ dialleliczny, II metoda Griffinga) 10 odmian (form rodzicielskich) maliny właściwej, pochodzących z różnych regionów geograficznych świata. Krzyżowanymi formami rodzicielskim były: 'Canby', 'Glen Ample', 'Laszka', 'Polana', 'Polka', 'Radziejowa', 'Schönemann', 'Sokolica', 'Veten' i 'Willamette'. Oceniano następujące fenotypowe cechy wszystkich roślin w doświadczeniu: plonowanie, jakość owoców (w tym atrakcyjność, barwę i wielkość owoców), siłę wzrostu i pokrój roślin oraz kolczastość pędów. W ocenie stosowano skalę bonitacyjną. Stwierdzono, że oceniane rośliny bardzo różnią się pod względem wszystkich ocenianych cech, a siewki (mieszańce otrzymane z krzyżowania różnych odmian), w różnym stopniu łączą cechy form rodzicielskich. Jest to zgodne z oczekiwaniami, ponieważ wiadomo, że cechy dziedziczą się niezależnie. Potwierdzono więc, że możliwe jest poszerzenie istniejącej zmienności genetycznej w obrębie gatunku *Rubus idaeus*, do którego należą uprawiane odmiany maliny właściwej. Szczególnie pożądane jest połączenie w jednym genotypie takich, ważnych cech użytkowych maliny właściwej, jak zdolność do wytwarzania wysokiej jakości owoców, wydłużone letnio-jesienne owocowanie oraz bezkolcowość pędów. Uzyskane wyniki badań potwierdziły, że w obrębie dużej populacji mieszańców można znaleźć pojedynki bezkolcowe lub o zredukowanych kolcach, produkujące dobrej jakości owoce w wydłużonym okresie czasu.

Temat badawczy 2

Optymalizacja i rozmnożenie (rozklonowanie) w warunkach *in vitro* pojedynków maliny właściwej, wyselekcjonowanych w latach 2016-2018, dla założenia kolekcji klonów w pojemnikach i w gruncie oraz przekazania do zasobów genowych Instytutu Ogrodnictwa.

Badania prowadzono w Zakładzie Biologii Stosowanej Instytutu Ogrodnictwa. Materiałem roślinnym były pojedynki (siewki) wyselekcjonowane w temacie badawczym nr 1, łącznie było to 10 pojedynków. Pąki wierzchołkowe i kątowe używane jako eksplantaty inicjalne były pobierane w okresie od stycznia do czerwca 2019 roku. W miesiącach styczeń – marzec z pojedynków matecznych odcinane były jednoroczne pędy i wstawiane do wody w warunkach szklarniowych w celu pobudzenia pąków do rozwoju. Od kwietnia, po ruszeniu wegetacji, pąki inicjalne pobierano z wytypowanych pojedynków rosnących w kolekcji polowej. Eksplantaty inicjalne po sterylizacji powierzchniowej w 0,1 % roztworze chlorku rtęci, wykładane były po jednym do próbki na pożywkę inicjalną i umieszczane w fitotronie w stałej temperaturze 23°C, długości dnia 16 godzin, światło białe o natężeniu 10 μmoli m⁻² sec⁻¹. Eksplantaty inicjalne przebywały w tych warunkach 4 tygodnie, te z nich które podejmowały wzrost, przenoszono na pożywkę do namnażania pędów. Do ukorzenienia przeznaczano dobrze wykształcone pędy o długości ≥ 1,0 cm. Etap wytwarzania korzeni trwał około 4 tygodni. Ukorzenione w warunkach *in vitro* sadzonki wysadzano do tac wielokomórkowych wypełnionych substratem do ukorzeniania. Tace umieszczano w tunelach przykrytych szkółkarską folią mleczną i cieniowano. Sadzonki podlewano profilaktycznie mieszaniną fungicydów 0,25% Previcur Energy + 0,2% Topsin.

Proces aklimatyzacji trwał ok. 30 dni. Od 14 dnia aklimatyzacji rozpoczynano nawożenie dolistne wieloskładnikowym nawozem w stężeniu 0,2%. Gdy korzenie przerastały komórki tacy, rośliny przesadzano do doniczek. Po dwóch miesiącach intensywnego wzrostu w warunkach szklarniowych, przy pełnej ochronie przed chorobami i szkodnikami, rośliny były gotowe do przekazania Pracowni Genetyki i Hodowli Roślin Sadowniczych w celu ich posadzenia w gruncie i w pojemnikach dla kontynuowania dalszej oceny. Liczba wypadów pąków inicjalnych wahała się od 16,7 do 77,2 procent. Odsetek pąków inicjalnych, który pozostał w kulturach *in vitro* do dalszego namnażania, zależał przede wszystkim od genotypu, a także od pory pobierania pąków. Najslabiej przebiegała izolacja w miesiącach styczeń-marzec z pąków zimowych. Wiele z nich miało zawiązki kwiatostanów i te pąki zamierały po przeniesieniu do warunków *in vitro*. Ponadto u wielu obserwowano objawy szklistości. Bardziej efektywne były izolacje w miesiącach maj-czerwiec, kiedy pąki wierzchołkowe są dobrze wykształcone. Wpływ genotypu zaznaczał się silnie również na etapie namnażania kultur oraz ukorzenia. Widoczne były bardzo duże różnice w potencjale rozmnożeniowym genotypów tzw. 'łatwych', z których uzyskanie pędów z przeznaczeniem do ukorzenia nie sprawiało większych trudności, takich jak pojedynki 297, 325, 395 oraz genotypów 'opornych' takich jak 381, 388, 400 czy 403. Jednak dla większości genotypów uzyskanie liczebności pędów przydatnych do ukorzenia wymagało 2-3 pasaży na pożywce do namnażania pędów. Współczynnik namnażania wahał się od 0,8 do 3,9 pędów z jednego eksplantatu. Efektywność ukorzenia *in vitro* i aklimatyzacji była zależna od genotypu i wahała się od 63,5 do 91,2 procent. Potwierdzono, że inicjację kultur *in vitro* malin można prowadzić z pąków zimowych, jak też w okresie wiosny i lata. Powodzenie inicjacji oraz dalszych etapów rozmnażania w kulturach *in vitro* jest przede wszystkim zależne od genotypu, a następnie od warunków zewnętrznych.

Temat badawczy 3

Analizy chemiczne owoców z roślin najwartościowszych klonów maliny właściwej, otrzymanych z rozmnożenia pojedynków, wyselekcjonowanych z populacji siewek ocenianej w latach 2016-2018 (razem 40 genotypów, w tym formy rodzicielskie) pod względem zawartości następujących związków: substancje rozpuszczalne (ekstrakt refraktometryczny), kwasy organiczne (cytrynowy, jabłkowy i kwas L-askorbinowy), związki fenolowe ogółem, antocyjany.

Badania realizowano w Zakładzie Przechowalnictwa i Przetwórstwa Owoców i Warzyw Instytutu Ogrodnictwa. Stwierdzono, że owoce badanych genotypów maliny właściwej bardzo różniły się pod względem zawartości ocenianych związków chemicznych. Zawartość ekstraktu mieściła się w przedziale 9 – 15 °Bx, przy czym owoce większości genotypów miały ekstrakt w zakresie 10-11 °Bx (31 próbek). Najwięcej ekstraktu stwierdzono w owocach klonów 403 i 271 oraz odmiany 'Willamette'. Zawartość polifenoli ogółem w owocach mieściła się w przedziale 298 – 543 mg/100g, przy czym najwyższą zawartość polifenoli stwierdzono w owocach klonu nr 207, a następnie nr 341. Średnia zawartość polifenoli ogółem w owocach badanych czterdziestu genotypów wynosiła 388 mg/100 g, przy czym zawartość związków fenolowych w owocach 20 genotypów była wyższa od tej wartości średniej. Zawartość antocyjanów w badanych owocach mieściła się w zakresie 2-93 mg/100 g. Średnia wartość antocyjanów w owocach badanych genotypów wynosiła 41 mg/100 g; w owocach 22 badanych klonów wykazano zawartość antocyjanów powyżej wartości średniej. Najwyższą zawartością antocyjanów odznaczały się owoce klonu nr 341. Kwas cytrynowy był dominującym kwasem organicznym w owocach badanych genotypów maliny właściwej, jego zawartość kształtowała się na poziomie 1065 – 2509 mg/100 g. Najwięcej kwasu cytrynowego zawierały owoce klonów nr 317 i nr 336 oraz odmian 'Polana' i 'Polka'. Zawartość kwasu jabłkowego w malinach mieściła się w przedziale 34 – 99 mg/100 g, największą jego zawartością odznaczały się owoce klonów nr 336, 400, 42 i 412 oraz odmian 'Willamette' i 'Poemat'. Zawartość kwasu askorbinowego w owocach badanych genotypów była na poziomie 12 – 46 mg/100 g. Spośród badanych genotypów, w owocach 18 klonów stwierdzono wyższą zawartość kwasu askorbinowego, w porównaniu do wartości średniej, która wynosiła 21 mg/100 g. Najwięcej kwasu askorbinowego zawierały owoce klonu nr 95. W owocach odmiany 'Radziejowa' oraz genotypów o nr 341, 387 i 400 stwierdzono wyższą zawartość polifenoli ogółem, antocyjanów, jak i kwasu L-askorbinowego w porównaniu do wartości średnich tych związków, uzyskanych dla wszystkich badanych próbek. Owoce ocenianych genotypów maliny bardzo różnią się jakością wewnętrzną, określaną zawartością ekstraktu, polifenoli, antocyjanów, kwasu askorbinowego, kwasu jabłkowego i kwasu cytrynowego. Owoce wielu genotypów, spośród 40 badanych, posiadają zarówno wyższą, jak i niższą zawartość związków chemicznych w porównaniu

do odmian rodzicielskich, od których się wywodzą, zatem możliwe jest uzyskanie genotypów maliny, których owoce będą zawierały więcej związków chemicznych, decydujących o ich jakości wewnętrznej, zarówno pod względem ilościowym jak i jakościowym.

Temat badawczy 4

Wykonanie analiz molekularnych dla zweryfikowania rodowodu i opracowania profili genetycznych „fingerprinting” dla wyselekcjonowanych genotypów.

Badania prowadzono w Zakładzie Hodowli Roślin Ogrodniczych. Łącznie przeprowadzono 1.562 reakcje amplifikacji, w których wygenerowano 174 amplikony, w tym 170 polimorficznych. Długość uzyskanych amplikonów wahała się od 110 do 520 pz. Każdy z testowanych genotypów został oceniony na podstawie 7-10 charakteryzujących go fragmentów DNA. Status mieszańca z planowanego zapylenia potwierdzono dla wszystkich testowanych genotypów. Określono również procentowy udział amplikonów pochodzących od formy matecznej, który wynosił od 100 do 27%. Ponadto oszacowano procentowy udział alleli pochodzących od formy ojcowskiej i wynosił on od 73 do 25%. Najwyższy udział fragmentów DNA charakterystycznych dla formy matecznej obserwowano na matrycy DNA wydzielonych z genotypu nr: 6 ('Polana' x 'Schönemann'), najniższy zaś dla genotypu nr 279 ('Radziejowa' x 'Schönemann'). Dla wszystkich testowanych genotypów opracowano ich profil genetyczny „DNA-fingerprinting” metodą SSR z wytypowanymi 5 parami oligonukleotydów. W przeprowadzonych badaniach potwierdzono status mieszańca z planowanego zapylenia dla wszystkich testowanych genotypów. Najwyższy udział fragmentów DNA charakterystycznych dla formy matecznej obserwowano na matrycy DNA wydzielonych z genotypu nr 6 ('Polana' x 'Schönemann') najniższy zaś dla genotypu nr 279 ('Radziejowa' x 'Schönemann') i wynosił on odpowiednio 75 i 62%. Na matrycy wydzielonej z mieszańców nr 47 ('Polka' x 'Sokolica'), 57 ('Polka' x 'Sokolica'), 121 ('Schönemann' x 'Sokolica'), 242 ('Polka' x 'Veten') i 279 ('Radziejowa' x 'Schönemann') zamplifikowano fragmenty DNA charakterystyczne dla formy matecznej, których procentowy udział mieścił się w przedziale 27-55%. Po analizie wzorów DNA uzyskanych dla mieszańców nr 6 ('Polana' x 'Schönemann'), 52 ('Polana' x 'Sokolica') i 242 ('Polka' x 'Veten') obserwowano najniższy procentowy udział fragmentów DNA charakterystycznych dla formy ojcowskiej, który wynosił odpowiednio 25, 38 i 45%. Natomiast najwyższy procentowy udział amplikonów DNA charakterystycznych dla formy ojcowskiej wynoszący 73%, oszacowano dla mieszańca nr 279 ('Radziejowa' x 'Schönemann'). Na matrycy wydzielonej z genotypu nr 121 ('Schönemann' x 'Sokolica') obserwowano 50% udział alleli charakterystycznych dla obu form rodzicielskich. W przypadku mieszańców oznaczonych numerami 83 ('Polka' x 'Polka'), 176 ('Laszka' x 'Laszka') i 179 ('Polana' x 'Polana'), po amplifikacji z testowanymi starterami obserwowano wyłącznie fragmenty DNA typowe dla form rodzicielskich, co dowodzi, że planowane krzyżowanie doszło do skutku. Stwierdzono, że mieszańce o potwierdzonym statusie stanowią 100% testowanych mieszańców F₁ maliny właściwej.

Wniosek

U gatunku *Rubus idaeus* (malina właściwa, czerwona) istnieje możliwość poszerzenia istniejącej zmienności genetycznej pod względem wielu cech fenotypowych, przy wykorzystaniu odmian pochodzących z różnych regionów geograficznych świata.

Abstrakt zamieszczony w materiałach konferencyjnych:

Masny Agnieszka, Żurawicz Edward, Mynett Katarzyna, Kubik Jolanta, Instytut Ogrodnictwa w Skierniewicach, „**Plonowanie i jakość owoców mieszańców maliny z hybrydyzacji wewnątrzgatunkowej *Rubus idaeus***”. V Zjazd Polskiego Towarzystwa Nauk Ogrodniczych, Konferencja Naukowa „Miejsce Ogrodnictwa we współczesnym życiu człowieka i ochronie środowiska”, SGGW Warszawa, 16-18 września 2019 r. Streszczenia: 121

Plonowanie i jakość owoców mieszańców maliny z hybrydyzacji wewnątrzgatunkowej *Rubus idaeus*

Agnieszka Masny, Edward Żurawicz, Katarzyna Mynett, Jolanta Kubik

Zakład Hodowli Roślin Ogrodniczych, Instytut Ogrodnictwa w Skierniewicach

Agnieszka.Masny@inhort.pl

Celem badań była ocena wybranych cech fenotypowych roślin maliny właściwej (*Rubus idaeus*). Materiałem roślinnym była populacja licząca 2760 krzewów tej maliny, rosnąca w doświadczeniu polowym, założonym jesienią 2014 roku w Sadzie Pomologicznym w Skierniewicach. Populacja ta obejmowała krzewy-siewki mieszańców pokolenia F₁, otrzymane ze skrzyżowania w układzie diallelicznym, według II metody Griffinga, oraz 10 odmian maliny właściwej ('Canby', 'Glen Ample', 'Laszka', 'Polana', 'Polka', 'Radziejowa', 'Schönemann', 'Sokolica', 'Veten' i 'Willamette'). W doświadczeniu oceniano plonowanie oraz jakość owoców, w tym atrakcyjność, barwę i wielkość owoców.

W roku 2018 najobficiej plonowały mieszańce o rodowodach 'Canby' × 'Glen Ample' i 'Glen Ample' × 'Laszka' (po 5,9 kg owoców z poletka) oraz 'Canby' × 'Polana' (5,8 kg). Najslabiej plonowały mieszańce z rodzin 'Canby' × 'Polka', 'Polka' × 'Willamette' (po 1,7 kg), 'Radziejowa' × 'Radziejowa' (1,5 kg), 'Glen Ample' × 'Sokolica' (1,4 kg) i 'Schönemann' × 'Schönemann' (0,9 kg). Najbardziej atrakcyjne były owoce siewek z rodzin 'Polana' × 'Polana', 'Polana' × 'Polka', 'Polka' × 'Polka', 'Schönemann' × 'Schönemann' i 'Schönemann' × 'Willamette'. Najładniejszą barwę miały owoce mieszańców o rodowodach 'Glen Ample' × 'Polana', 'Polana' × 'Veten', 'Polka' × 'Polka', 'Polka' × 'Schönemann', 'Polka' × 'Sokolica', 'Veten' × 'Veten', 'Willamette' × 'Willamette'. Największe owoce wytwarzały mieszańce należące do rodzin 'Polana' × 'Polka', 'Polana' × 'Sokolica' i 'Polka' × 'Polka'.

W przeprowadzonych badaniach wykazano, że jest możliwe poszerzenie istniejącej zmienności genetycznej w obrębie gatunku *Rubus idaeus*. Szczególnie pożądane i możliwe jest połączenie w jednym genotypie takich cech maliny właściwej, jak duża plenność, wysoka jakość owoców, wydłużone w czasie owocowanie oraz mała kolcowość i bezkolcowość pędów.

Badania wykonano w ramach Badań Podstawowych na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej – Zadanie 75

Doniesienie konferencyjne prezentowane podczas V Zjazdu Polskiego Towarzystwa Nauk Ogrodniczych, Warszawa, 16-18 września 2019 r.; wyniki plonowania i jakości owoców mieszańców maliny (*Rubus idaeus*) z hybrydyzacji wewnątrzgatunkowej, uzyskane w roku 2018 (Sprawozdanie za rok 2018, Temat badawczy 1, str. 8-14):

Masny Agnieszka, Żurawicz Edward, Mynett Katarzyna, Kubik Jolanta, Instytut Ogrodnictwa w Skierniewicach, „Plonowanie i jakość owoców mieszańców maliny (*Rubus idaeus*) z hybrydyzacji wewnątrzgatunkowej”

PLONOWANIE I JAKOŚĆ OWOCÓW MIESZAŃCÓW MALINY WŁAŚCIWEJ (*Rubus idaeus*) Z HYBRYDYZACJI WEWNĄTRZGATUNKOWEJ



A. Masny, E. Żurawicz, K. Mynett, J. Kubik
INSTYTUT OGRODNICTWA W SKIERNIEWICACH

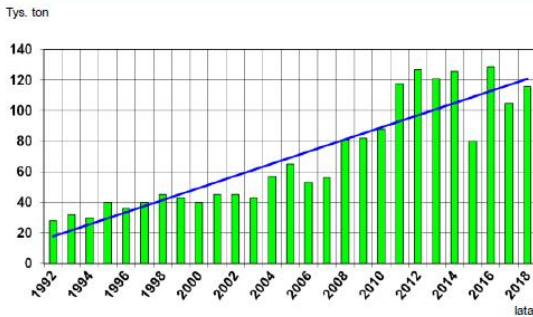
OWOCE MALINY WŁAŚCIWEJ (CZERWONEJ)



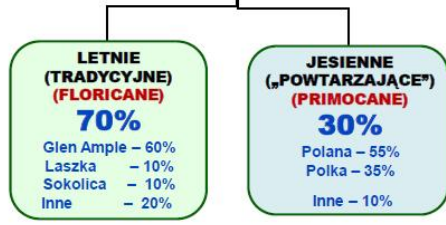
MALINA CZARNA
(zachodnia, jeżynowata)
(*Rubus occidentalis*)



ROZWÓJ PRODUKCJI MALIN W POLSCE W LATACH 1992-2018



TYPY ODMIAN MALINY UPRAWIANE W POLSCE



OWOCOWANIE ODMIAN LETNICH I JESIENNYCH

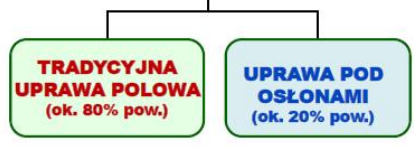
Letnie (*Laszka*)

½ VI – koniec VII

Jesienne (*Polka*)

koniec VII – koniec X

SPOSOBY UPRAWY MALINY W POLSCE



TRADYCYJNA UPRAWA POLOWA



UPRAWA MALINY POD OSŁONAMI

(tunele wysokie i szklarnie)



PROBLEMY W UPRAWIE MALINY WŁAŚCIWEJ W POLSCE

(cele badawcze i hodowlane)

CELE BADAWCZE I HODOWLANE



WYSOKA PLENNOŚĆ
I JAKOŚĆ OWOCÓW

PRZYSTOSOWANIE DO
LOKALNYCH WARUNKÓW
ŚRODOWISKA I NOWOCZESNYCH
TECHNOLOGII UPRAWY

ODPORNOŚĆ NA CHOROBY
I SZKODNIKI

CELE BADAWCZE I HODOWLANE



WYSOKA PLENNOŚĆ
I JAKOŚĆ OWOCÓW
(zewnątrzna i wewnętrzna)

PRZYSTOSOWANIE DO
LOKALNYCH WARUNKÓW
ŚRODOWISKA I NOWOCZESNYCH
TECHNOLOGII UPRAWY

ODPORNOŚĆ NA CHOROBY
I SZKODNIKI

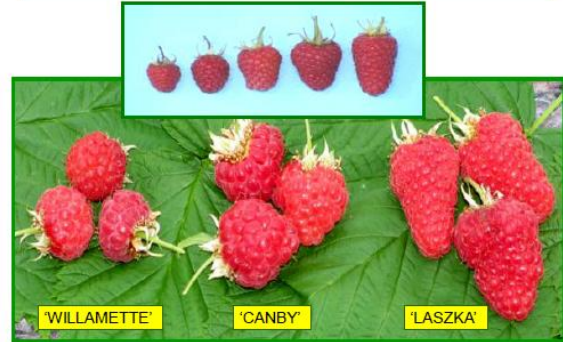
CZYNNIKI GENETYCZNE OKREŚLAJĄCE PLENNOŚĆ ROŚLIN MALINY (komponenty plonu)

- siła wzrostu (wysokość) pędów
- liczba pędów w krzewie
- liczba kwiatostanów na pędzie
- liczba kwiatów w kwiatostanie
- liczba zawiązanych owoców
- wielkość owoców

RÓŻNA SIŁA WZROSTU KRZEWÓW (PĘDÓW) MALINY CZERWONEJ



RÓŻNA WIELKOŚĆ I KSZTAŁT OWOCÓW MALINY



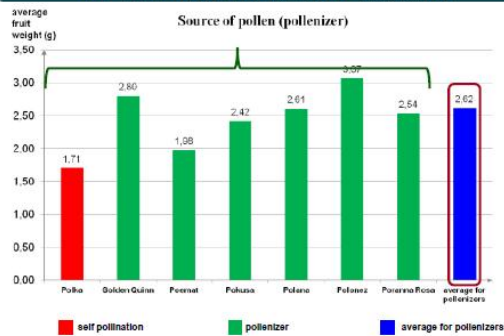
KWIATY MALINY CZERWONEJ



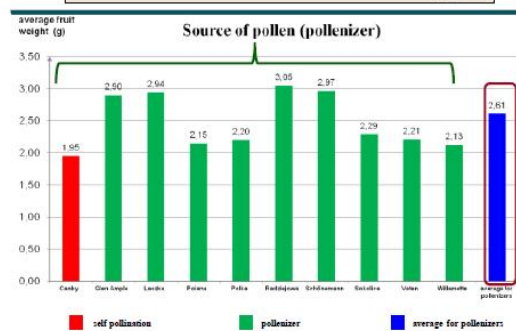
MALINA JEST GATUNKIEM ENTOMOFILNYM



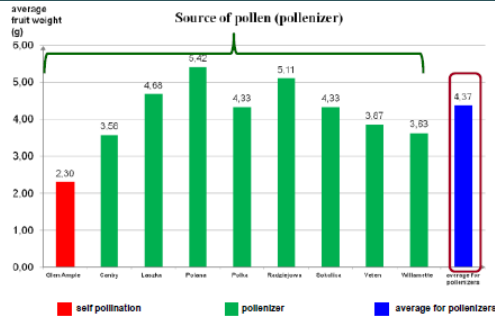
WIELKOŚĆ OWOCÓW ODM. 'POLKA' W ZALEŻNOŚCI OD ZAPYLACZA (g)



WIELKOŚĆ OWOCÓW ODM. 'CANBY' W ZALEŻNOŚCI OD ZAPYLACZA (g)



WIELKOŚĆ OWOCÓW ODM. 'GLEN AMPLE' W ZALEŻNOŚCI OD ZAPYLACZA (g)



SCHEMAT KRZYŻOWANIA WYBRANYCH FORM RODZIELSKICH MALINY CZERWONEJ (układ dialleliczny, II metoda Griffinga)

♀ ♂	Canby	Glen Ample	Laszka	Polana	Polka	Radziejowa	Schönemann	Sokolica	Veten	Willamette
Canby	XX	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Glen Ample		XX	X	X	X	X	X	X	X	X
Laszka			XX	X	X	X	X	X	X	X
Polana				XX	X	X	X	X	X	X
Polka					XX	X	X	X	X	X
Radziejowa						XX	X	X	X	X
Schönemann							XX	X	X	X
Sokolica								XX	X	X
Veten									XX	X
Willamette										XX

Objaśnienie: ♀ - forma mateczna, ♂ - forma ojowska; x - krzyżowanie wprost, xx - samozapylenie

19.03.2014 r.



Wykaz i krótka charakterystyka odmian użytych w programie krzyżowań

Nazwa odmiany	Kraj pochodz.	Rodowód	Porę dojrzewania	Plenność	Wielkość owoców	Barwa owoców	Podatność na RBDV	Obecność kolców na pedach
Canby*	USA	Viking x Lloyd George	dość wczesna	wysoka	średnie	żywo czerwona	podatna	-
Glen Ample*	UK		średnio-wczesna	wysoka	duże	jasno czerwona	mало podatna	-
Laszka*	POL	80408 x 80132	wczesna	wysoka	bardzo duże	jasno czerwona	podatna	-
Polana**	POL	Heritage x Eva Herbsarna	połowa VIII	dość wysoka	średnie	żywo czerwona z silnym połyskiem	mало podatna	-
Polka**	POL	Aulum Biles + Lloyd George + R. crataegifolius	VIII/VIII	wysoka	średnie i duże	żywo czerwona z silnym połyskiem	bardzo podatna	-
Radziejowa*	POL	92271 x 96221	wczesna (druga połowa VII)	dość wysoka	duże	żywo czerwona	podatna	-
Schönemann*	GER	Lloyd Georg x Prussen	bardzo późna	wysoka	bardzo duże	ciemno czerwona	mало podatna	-
Sokolica*	POL	96131 x 96221	średnio-wczesna	wysoka	duże	jasno czerwona	podatna	-
Veten*	NOR	Asker x Lloyd George	wczesna	średnia do wysokiej	średnie i duże	czerwona i ciemno czerwona	mало podatna	-
Willamette*	USA	Lloyd George x Newburgh	późna	wysoka	duże	żywo czerwona	tolerancyjna	-

Objaśnienie: * - odmiana tradycyjna (letnia); ** - odmiana „powtarzająca” (letnio-jesienna)

DOŚWIADCZENIE POLOWE



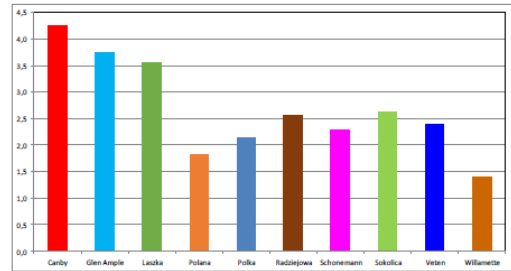
NAJLEPSZE RODZINY DLA BADANYCH CECH (2018 r.)

ROŚLINY			OWOCY		
Wzrost	Pokrój	Kolce (-)	Atrakcyjność	Barwa	Wielkość
Canby x Laszka	Glen Ample x Laszka	Glen Ample	Schönemann x Willamette	Polana x Veten	Polana x Sokolica
Canby x Willamette	Laszka x Laszka	Canby x Canby	Radziejowa	Willamette x Willamette	Radziejowa
Canby x Radziejowa	Canby x Polka	Canby x Laszka	Polana x Polka	Polka x Polka	Polka x Polka
Canby	Schönemann x Sokolica	Canby x Polana	Polka x Polka	Polka x Schönemann	Polana x Polka
Schönemann	Canby x Schönemann	Laszka x Polana	Schönemann x Schönemann	Veten x Veten	Polka

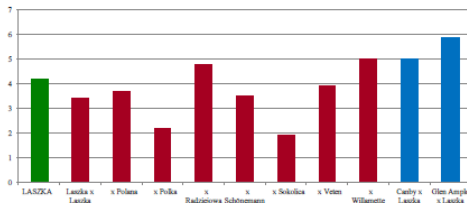
Genotypy zawierające najwięcej badanych związków (2018 r.)

Ekstrakt	Polifenole	Antocyjany	Kwas askorbin.	Kwas jabłkowy	Kwas cytrynowy
Schönem. x Sokolica	Laszka	Polana x Polka	Schönem. x Sokolica	G. Ample x Schonem.	Polana x Polka
Willamette	Laszka x Sokolica	Polka x Sokolica	Laszka	Polka x Vetem	Polana x Sokolica
Polana x Canby	Polka x Vetem	Polka x Vetem	Laszka x Sokolica	Willamette	Polana x Schonem.
Canby x Sokolica	Schönem. x Sokolica	Glen Ample x Schönemann	Sokolica x Sokolica	Glen Ample x G. Ample	Glen Ample x Polana
Laszka x Willamette	Laszka x Willamette	Polka	Polka x Sokolica	Canby	Polana x Polka

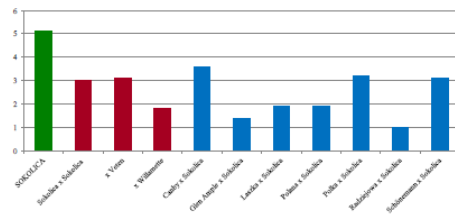
ŚREDNI PŁON DLA RODZIN (kg/poletko)



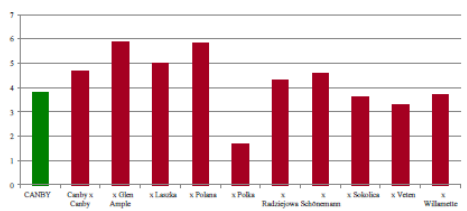
ŚREDNI PŁON DLA RODZIN POCODZĄCYCH OD ODM. LASZKA (kg/poletko)



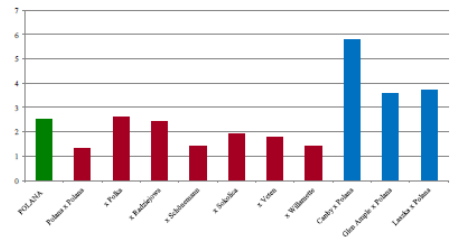
ŚREDNI PŁON DLA RODZIN POCODZĄCYCH OD ODM. SOKOLICA (kg/poletko)



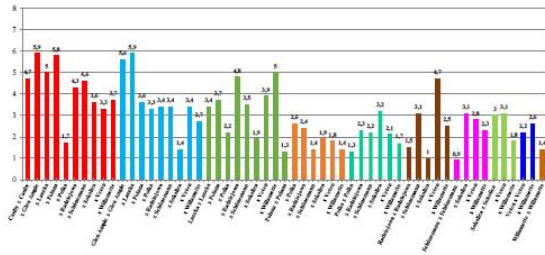
ŚREDNI PŁON DLA RODZIN POCODZĄCYCH OD ODM. CANBY (kg/poletko)



ŚREDNI PŁON DLA RODZIN POCODZĄCYCH OD ODM. POLANA (kg/poletko)



ŚREDNI PŁON DLA BADANYCH RODZIN (kg/poletko)



LETNIE ODMIANY MALINY



Sokolica



Przehyba

Laszka

JESIENNE ODMIANY MALINY



Polana



Polesie



Polka

WNIOSKI

- Efektywność krzyżowania użytych w badaniach form rodzicielskich maliny właściwej (odmian uprawnych) jest różna, ale możliwe jest uzyskanie populacji siewek o zróżnicowanych cechach użytkowych.
- Krzyżując odmiany uprawne maliny właściwej, różniące się pod względem wielu cech, możliwe jest otrzymanie nowych genotypów, poszerzających istniejącą zmienność genetyczną w obrębie gatunku *Rubus idaeus*.
- Bardzo cenna jest możliwość połączenia w jednym genotypie zdolności roślin do owocowania w terminie jesiennym i wytwarzania wysokiej jakości owoców na pędach bez kolców.

Najcenniejsze klony selekcyjne (2019)

- Nr 217 (Polka x Sokolica) – klon o bezkolcowych pędach oraz dużych (7 w skali 1-9) i atrakcyjnych (7) owocach
- Nr 345 (Canby x Polana) – klon o pędach prawie bezkolcowych oraz bardzo dużych (8) i bardzo atrakcyjnych (8) owocach
- Nr 378 (Glen Ample x Polka) – klon o bezkolcowych pędach, posiadający duże (7) i dość atrakcyjne (6) owoce
- Nr 255 (Glen Ample x Polka) – klon o bezkolcowych pędach oraz dużych (7) i atrakcyjnych (7) owocach
- Nr 47 (Polka x Sokolica) – klon o bezkolcowych pędach, posiadający atrakcyjne (7) i dość duże (6) owoce
- Nr 104 (Canby x Polana) – klon o bardzo dużych (8) i bardzo atrakcyjnych (8) owocach

DZIĘKUJEMY ZA UWAGĘ



Prace wykonano w ramach Badań Podstawowych na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej – Zadanie 75

Abstrakt zamieszczony w materiałach konferencyjnych:

Kuras Anita, Masny Agnieszka, Żurawicz Edward, Instytut Ogrodnictwa w Skierniewicach, „Wykorzystanie markerów SSR do molekularnej weryfikacji mieszańcowości i opracowania profili genetycznych „DNA-fingerprinting” najwartościowszych klonów maliny właściwej”. V Zjazd Polskiego Towarzystwa Nauk Ogrodniczych, Konferencja Naukowa „Miejsce Ogrodnictwa we współczesnym życiu człowieka i ochronie środowiska, SGGW Warszawa, 16-18 września 2019 r. Streszczenia: 118

**WYKORZYSTANIE MARKERÓW SSR DO MOLEKULARNEJ WERYFIKACJI
MIESZAŃCOWOŚCI I OPRACOWANIA PROFILI GENETYCZNYCH „DNA-
FINGERPRINTING” NAJWARTOŚCIOWSZYCH KLONÓW MALINY
WŁAŚCIWEJ**

Anita Kuras, Agnieszka Masny, Edward Żurawicz

Instytut Ogrodnictwa, ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice

e-mail: Anita.Kuras@inhort.pl

Celem badań wykonanych w roku 2018 była molekularna weryfikacja statusu mieszańca z planowanego zapylenia klonów maliny właściwej wyselekcjonowanych w latach 2016-2017 z populacji siewek, ocenianej w doświadczeniu polowym, założonym jesienią 2014 roku i opracowanie dla nich profili genetycznych („DNA-fingerprinting”) przy użyciu metody SSR. Metoda ta bazuje na obecności w genomie sekwencji mikrosatelitarnych, w których motyw powtarzalny ma długość 1-4 nukleotydów. Markery SSR są cenione wśród badaczy ze względu na wysoki stopień polimorfizmu i kodominujący charakter dziedziczenia.

Do amplifikacji użyto 9 par starterów mikrosatelitarnych (weryfikacja statusu mieszańca) oraz 5 par oligonukleotydów. („DNA-fingerprinting”) z 25 testowanych par starterów SSR, specyficznych dla genomu maliny. Łącznie przeprowadzono 1.326 reakcji amplifikacji, w których wygenerowano 169 polimorficznych ampikonów o długości od 120 do 520 pz. Każdy z testowanych genotypów został oceniony na podstawie 7-10 charakteryzujących go fragmentów DNA. Status mieszańca potwierdzono dla 9 z 10 testowanych genotypów. Określono również procentowy udział ampikonów pochodzących od formy matecznej, który wynosił od 100 do 22%. Ponadto oszacowano procentowy udział alleli pochodzących od formy ojcowskiej, który wynosił od 78 do 25%. Dla testowanych genotypów opracowano ich profil genetyczny „DNA-fingerprinting” metodą SSR z wytypowanymi 5 parami oligonukleotydów.

Badania wykonano w ramach Badań Podstawowych na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej – Zadanie 75

Poster prezentowany podczas V Zjazdu Polskiego Towarzystwa Nauk Ogrodniczych, Warszawa, 16-18 września 2019 r.; wyniki molekularnej weryfikacji statusu mieszańców maliny właściwej z planowanego zapylenia, uzyskane w roku 2018 (Sprawozdanie za rok 2018, Temat badawczy 4, str. 24-28):

Kuras Anita, Masny Agnieszka, Żurawicz Edward, Instytut Ogrodnictwa w Skierniewicach, „Wykorzystanie markerów SSR do molekularnej weryfikacji mieszańców i opracowania profili genetycznych „DNA-fingerprinting” najwartościowszych klonów maliny właściwej”.

WYKORZYSTANIE MARKERÓW SSR DO MOLEKULARNEJ WERYFIKACJI MIESZAŃCOWOŚCI I OPRACOWANIA PROFILI GENETYCZNYCH „DNA-FINGERPRINTING” NAJWARTOŚCIOWSZYCH KLONÓW MALINY WŁAŚCIWEJ



ANITA KURAS, AGNIESZKA MASNY, EDWARD ŻURAWICZ

WSTĘP

Metody molekularne oparte na analizie polimorfizmu DNA, umożliwiają szybką i precyzyjną ocenę tożsamości odmianowej roślin, pozwalają na ocenę odrębności odmiany oraz określenie stopnia pokrewieństwa genetycznego badanych roślin w odniesieniu do przypuszczalnych form rodzicielskich. Jest to istotne zwłaszcza przy charakteryzowaniu odmian roślin sadowniczych, które ze względu na specyfikę hodowli są często blisko spokrewnione i trudne do rozróżnienia jedynie na podstawie cech morfologicznych lub też na ich rozróżnienie nie pozwala etap rozwoju, w którym znajdują się rośliny.

Celem przedstawianych badań jest molekularna weryfikacja statusu mieszańca z planowanego zapylenia klonów maliny właściwej wyselekcjonowanych z populacji sievek i ocenianych w doświadczeniu polowym oraz opracowanie dla nich profili genetycznych („DNA-fingerprinting”) przy użyciu metody SSR bazującej na obecności w genomie sekwencji mikro-satelitarnych, w których motyw powtarzalny ma długość 1-4 nukleotydów. Markery SSR są cenione wśród badaczy ze względu na wysoki stopień polimorfizmu i kodominujący charakter dziedziczenia.

MATERIALY METODY

MATERIAL ROŚLINNY:		IZOLACJA DNA Doyle & Doyle (1990)	OCENA JAKOŚCI DNA	AMPLIFIKACJA DNA SIMPLE SEQUENCE REPEAT TECHNIQUE (SSR)
Nr mieszańca	Rodowód mieszańca		<p style="text-align: center;">SPEKTROFOTOMETR (Gene Quant Pro Amersham Pharmacia Biotech)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • SSR (13 µl) – 5 ng DNA, 1,25 mM dNTP, 0,35 µM starter, 10 x PCR buffer II, 2,5 mM MgCl₂, 0,325 U polimerazy (Applied Taq Biosystems) • Warunki termiczne PCR – 4 cykle: 94°C/ 90 s, 65°C - 55°C/ 60 s (spadek temperatury o 1°C na cykl), 72°C/ 60 s, 30 cykli: 94°C/ 60 s, 60°C - 50°C/ 90 s, 72°C/ 60 s), 72°C/ 10 min. • 15 par oligonukleotydów: • Wizualizacja – 2% żel agarozowy, bromek etydyny, światło UV
7	Polana x Schönemann			
18	Canby x Radziejowa			
32	Polka x Veten			
40	Polka x Sokolica			
158	Polka x Radziejowa			
316	Glen Ample x Polana			
327	Polana x Polka			
335	Polana x Sokolica			
345	Canby x Polana			
400	Laszka x Polka			

WYNIKI

POLIMORFIZM DNA

- Ocenie metodą SSR poddano najcenniejsze klony maliny właściwej, użyto 25 par starterów, specyficznych dla analizowanego genomu. Łącznie przeprowadzono 1326 reakcji amplifikacji.
- W reakcjach z 9. parami starterów uzyskano 169 polimorficznych ampikonów (98% wygenerowanych fragmentów DNA), o długości od 120 do 520 pz.
- Każdy z testowanych genotypów został scharakteryzowany na podstawie 7-10 polimorficznych fragmentów DNA.

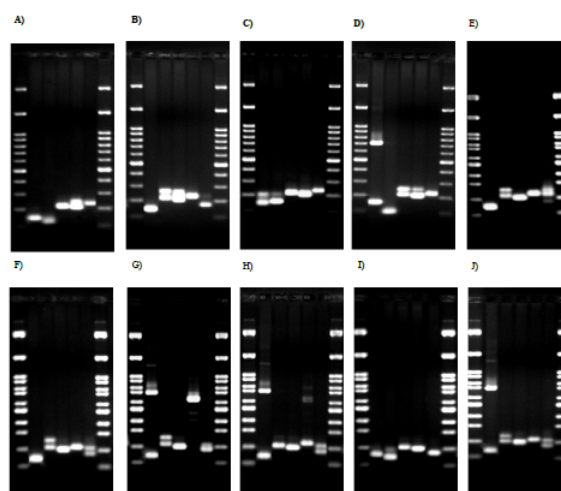
OCENA POKREWIEŃSTWA GENETYCZNEGO MIESZAŃCÓW ORAZ POTWIERDZENIE STATUSU MIESZAŃCA

Mieszańca (Nr)	7	18	32	40
Liczba ampikonów mieszańca	15	11	14	21
Produkty mono	4	4	2	5
Produkty polimorf. M	7	4	7	12
Produkty polimorf. O	3	3	5	4
Pokrewieństwo M:	70%	57%	58%	75%
Pokrewieństwo O:	30%	43%	42%	25%
Mieszańca (Nr)	158	316	327	335
Liczba ampikonów mieszańca	15	14	15	13
Produkty mono	5	5	8	7
Produkty polimorf. M	5	2	4	6
Produkty polimorf. O	5	7	3	-
Pokrewieństwo M:	50%	22%	57%	100%
Pokrewieństwo O:	50%	78%	43%	-
Mieszańca (Nr)	345	400		
Liczba ampikonów mieszańca	18	16		
Produkty mono	6	6		
Produkty polimorf. M	5	6		
Produkty polimorf. O	7	4		
Pokrewieństwo M:	42%	60%		
Pokrewieństwo O:	58%	40%		



Badania wykonano w ramach Badań Podstawowych na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej – Zadanie 75

„DNA FINGERPRINTING”



Profile genetyczne uzyskane metodą SSR z 5 parami starterów dla roślin nr: A) 7; B) 18; C) 32; D) 40; E) 158; F) 316; G) 327; H) 335; I) 345; J) 400.

PODSUMOWANIE

- Status mieszańca potwierdzono na 9 z 10 testowanych genotypów ponieważ u mieszańca nr 335 obserwowano allele pochodzące jedynie od formy matecznej
- Procentowy udział alleli pochodzących od formy ojcowskiej wynosił od 78 do 25%
- Procentowy udział alleli pochodzących od formy ojcowskiej wynosił od 100 do 22%
- Dla testowanych genotypów opracowano ich profil genetyczny „DNA-fingerprinting” metodą SSR z wytypowanymi 5 parami oligonukleotydów