

Zadanie nr 3.15. Wytworzenie materiałów wyjściowych maliny właściwej (czerwonej) dla hodowli innowacyjnych odmian o cechach: bezkolcowość, dwupiętrowość (podwójny zbiór owoców), podwyższona trwałość pozbiorcza owoców, przydatność do kombajnowego zbioru i podwyższona odporność roślin na stres suszy.

Cel zadania: Uzyskanie materiałów wyjściowych maliny właściwej (czerwonej) dla prowadzenia hodowli twórczej maliny, ukierunkowanej na uzyskanie nowych odmian o innowacyjnych cechach, ważnych z użytkowego punktu widzenia, jak: bezkolcowość, dwupiętrowość (podwójny zbiór owoców), podwyższona trwałość pozbiorcza owoców, przydatność do kombajnowego zbioru owoców i podwyższona odporność roślin na stres suszy.

Zakres rzeczowy zadania i przyjęte cele realizowano zgodnie z założeniami na 2023 r. Łącznie, w szklarni wyprodukowano 1 200 siewek; w kwaterach selekcyjnych oceniano 7 120 siewek pod względem plenności i jakości owoców; w kolekcji klonów prowadzono ocenę 68 klonów; w doświadczeniu porównawczym oceniano 16 klonów; prowadzono rozmnażanie w kulturach *in vitro* 8 klonów wyselekcjonowanych w poprzednim roku lub w latach wcześniejszych; dla klonu M-14345E przygotowano dokumentację zgłoszeniową do badań rejestrowych COBORU; opracowano metkę identyfikacyjną „DNA-fingerprinting” i ofertę wdrożeniową.

W ramach realizacji Zadania 3.15 wykonano następujące prace:

1) skaryfikacja, stratyfikacja i wysiew części nasion uzyskanych z programu krzyżowań wykonanego w roku 2022;

Nasiona 15 kombinacji, uzyskane z programu krzyżowań w roku 2022, poddano lutym br. skaryfikacji chemicznej stężonym (95%) kwasem siarkowym przez okres 30 minut, a następnie wielokrotnie przepłukiwano wodą przez 10 minut, po czym zanurzano w roztworze sodы oczyszczonej. W kolejnym etapie nasiona zalewano roztworem wodorotlenku wapnia w +4°C, czynność powtarzano co 2 dni w ciągu tygodnia. Następnie po przepłukaniu wodą i odkażeniu 0,2% roztworem Kaptanu umieszczono je w wilgotnym odkażonym torfie i poddano 9-tygodniowej stratyfikacji w temperaturze około +4°C. W kwietniu wysiano je w szklarni do doniczek o pojemności 3,3 l, wypełnionych mieszaniną substratu torfowego i piasku.

2) produkcja, sadzenie w polowej kwaterze selekcyjnej i pielęgnacja siewek wyprodukowanych z nasion uzyskanych w roku 2022 (1 200 siewek);

Pikowanie pierwszych kiełkujących siewek rozpoczęto w dniu 17 maja, a zakończono 4 sierpnia 2023 r. Łącznie wyprodukowano 1 200 siewek, należących do 15 rodzin. Po skiełkowaniu młode siewki (w fazie 2-3 liści) pikowano indywidualnie do doniczek plastikowych, wypełnionych podłożem kokosowym. Doniczki z zapikowanymi siewkami wstawiano do plastikowych skrzynek, oddzielnie dla poszczególnych rodzin mieszańcowych. Systematycznie prowadzono ochronę młodych siewek przed przedziorkami, wciornastkami i mszycami, a także inne zabiegi pielęgnacyjne, jak nawożenie, nawadnianie, usuwanie chwastów itp. Po uzyskaniu odpowiedniej fazy wzrostu siewki sukcesywnie wystawiano na zewnątrz w celu zahartowania przed wysadzeniem w kwaterze selekcyjnej. W dniach 21-22 września 2023 r. wszystkie siewki wysadzono w kwaterze selekcyjnej.

3) pielęgnacja, ocena i selekcja pozytywna w obrębie populacji siewek posadzonych w kwaterze selekcyjnej w 2022 roku i latach wcześniejszych (oznaczanie pojedynków będących nośnikami pożądanych cech);

Wykonywano prace pielęgnacyjne 5 355 siewek, posadzonych w kwaterze selekcyjnej we wrześniu 2020 roku, 1 765 siewek posadzonych we wrześniu 2021 roku oraz 2 012 siewek posadzonych we wrześniu 2022 r. Prowadzono również systematyczne lustracje roślin pod kątem ich zdrowotności. W końcu czerwca rozpoczęto ocenę i selekcję roślin starszych siewek (łącznie 7 120 pojedynków) pod względem plenności i jakości owoców, którą zakończono wraz z pierwszymi przygruntowymi przymrozkami. Jako najbardziej wartościowe, oznaczono 154

pojedynki, owocujące zarówno na jednorocznych, jak i dwuletnich pędach. Późną jesienią wyselekcjonowane pojedynki wykopano i zadołowano w belgijce, w której będą przechowywane aż do czasu posadzenia ich wiosną w kolekcji klonów.

4) pielęgnacja i szczegółowa ocena (fenotypowa i laboratoryjna) najbardziej wartościowych klonów (roślin i owoców), posadzonych w kolekcji klonów w roku 2022 oraz latach wcześniejszych;

Systematycznie prowadzono pielęgnację 68 klonów maliny, posadzonych wiosną 2023 roku w kolekcji klonów (powierzchnia ok. 0,25 ha) oraz wykonywano lustracje roślin pod kątem ich zdrowotności. Młode rośliny oceniono również pod względem siły wzrostu i pokroju, obecności kolców na pędach, a w przypadku genotypów, które mimo młodego wieku wytworzyły owoce, także plenności i jakości tych owoców.

5) szczegółowa ocena wartości produkcyjnej klonów w hodowlanym doświadczeniu porównawczym, z uwzględnieniem badań laboratoryjnych (analiza składu chemicznego owoców) oraz molekularnych (molekularna weryfikacja tożsamości genetycznej i statusu zdrowotności genotypów pod kątem chorób wirusowych);

Systematycznie przeprowadzano pielęgnację 16 klonów maliny rosnących w doświadczeniu porównawczym, założonym w październiku 2021 roku w Sadzie Pomologicznym (powierzchnia ok. 0,15 ha), wykonywano również lustracje roślin pod kątem ich zdrowotności. W czerwcu wykonano ocenę roślin pod względem ich siły wzrostu i pokroju, a także obecności kolców na pędach. Wśród badanych genotypów 6 klonów wytwarzało pędy całkowicie pozbawione kolców, a jeden – o bardzo nielicznych i delikatnych kolcach. W końcu czerwca rozpoczęto ocenę plonu i jakości (wielkość, wygląd i smak) owoców oraz typu owocowania krzewów (na jednorocznych lub dwuletnich pędach) ww. klonów; prowadzono ją do pierwszych przymrozków jesiennych. Wstępnie wytypowano 8 genotypów o najwyższej plenności i jakości owoców.

Wyniki wykazały, że bardzo cennym genotypem jest klon o numerze M-14274E, posiadający zdolność do dwukrotnego owocowania w ciągu roku. W pierwszym roku rośliny tego klonu owocują jak odmiany jesienne, w miesiącach sierpień-wrzesień wytwarzają kwiatostany i owoce w górnej części pędów tegorocznych. W drugim roku owocują podobnie jak odmiany letnie, wytwarzając kwiatostany i owoce w dolnej części tych samych pędów, czyli wyrosłych w poprzednim sezonie wegetacyjnym. Dzięki temu klon M-14274E plonuje bardzo obficie, tworząc jednocześnie duże, atrakcyjne i smaczne owoce. Dodatkową zaletą tego klonu jest całkowita bezkolcowość pędów. Drugim klonem zdolnym do dwukrotnego owocowania w ciągu roku jest M-14394E, jednak jego owoce są nieco gorszej jakości, w porównaniu do M-14274E. Z genotypów owocujących na jednorocznych pędach, tzw. jesiennych, interesująco zapowiada się klon M-12114, o wysokiej plenności i bardzo dobrej jakości owoców, a także bezkolcowych pędach. Wśród genotypów owocujących na dwuletnich pędach, tzw. letnich, na szczególną uwagę zasługuje bezkolcowy klon M-14255E, odznaczający się bardzo wysokim plonowaniem oraz dobrą jakością owocami.

Najwięcej ekstraktu zawierały owoce klonów M-14018E, M-6084, M-12083 i M-14274E. Najbardziej bogate w kwas askorbinowy były owoce klonu M-6084.

Dodatkowo, w warunkach kontrolowanych (szklarnia) wykonano ocenę potencjalnej formy rodzicielskiej 'Sokolica' oraz najbardziej wartościowych klonów hodowlanych (M-14037E i M-14057E) pod względem tolerancji na niedobór wilgoci w glebie. Rośliny uprawiano w donicach wypełnionych podłożem bezglebowym. Deficyt wody (umiarkowany) indukowano poprzez ograniczenie nawadniania. Wilgotność podłoża monitorowano przy użyciu sond dielektrycznych. Wykonano następujące pomiary i obserwacje: natężenie wymiany gazowej liści, intensywność zielonej barwy liści, wzrost roślin (wyrażony pomiarem świeżej masy

części nadziemnej). Nie stwierdzono znaczących różnic w aktywności fizjologicznej roślin badanych genotypów maliny. Różnice we wzroście również były statystycznie nieistotne.

6) wyznaczenie i rozmnażanie (tradycyjne i *in vitro*) klonów łączących w najwyższym stopniu pożądane cechy (8 klonów);

Założono i rozmnożono kultury *in vitro* 8 klonów maliny (M-14345E, M-14148E, M-14170E, M-14124E, M-14037E, M-14104E, M-14317E i M-14278E) wyselekcjonowanych we wcześniejszych latach. Pobierano pędy wierzchołkowe o długości około 0,5 cm, które następnie sterylizowano. Z odkażonych pędów usuwano zewnętrzne liście, skracano pęd i umieszczano go w probówce na pożywce selekcyjnej w kamerze fitotronowej. Po okresie 2-3 tygodni przeprowadzono weryfikację materiału roślinnego pod kątem czystości fitopatologicznej. Prawidłowo rozwijające się kultury (bez zakażeń) przekładano na dwa rodzaje pożywek MS różniących się źródłem żelaza. Pasaże wykonywane były co cztery tygodnie aż do uzyskania z każdego genotypu wymaganej liczby dobrze wykształconych pędów tj. o długości $\geq 1,0$ cm. Takie pędy były przenoszone na pożywkę ukorzeniającą MS. Etap wytwarzania korzeni trwał 4 tygodnie. Ukorzone w warunkach *in vitro* sadzonki myto z resztek agaru, wysadzano w szklarni do tac wielokomórkowych wypełnionych substratem i umieszczano pod specjalnymi namiotami zapewniającymi wysoką wilgotność. W procesie aklimatyzacji siewki regularnie wietrzono i nawożono. Gdy korzenie przerastały komórki tacy, rośliny przesadzano do doniczek do dalszego wzrostu. Uzyskano 510 roślin, które przekazano do doświadczeń polowych.

W *in vitro* utrzymywane są również kultury 70 cennych genotypów maliny łączące w najwyższym stopniu pożądane cechy. W roku 2023 kolekcję *in vitro* powiększono poprzez założenie kultur dla kilku potencjalnych form rodzicielskich maliny o wysokim statusie zdrowotności do przyszłych programów krzyżowań.

7) zgłoszenie klonów, łączących w najwyższym stopniu pożądane cechy, do badań rejestrowych COBORU (1 klon), opracowanie dla nich metki identyfikacyjnej „DNA-fingerprinting” (1 metka) i oferty wdrożeniowej (1 oferta).

Dokonano analizy wieloletnich wyników oceny najbardziej wartościowych klonów hodowlanych maliny i na jej podstawie wytypowano klon M-14345E (rodowód ‘Canby’ × ‘Polana’, proponowana nazwa – ‘Kanpola’) do zgłoszenia do badań rejestrowych COBORU.

Klon M-14345E owocuje dwukrotnie w sezonie. Na pędach dwuletnich zbiór owoców w uprawie polowej rozpoczyna się około połowy czerwca i trwa około miesiąca. Na pędach jednorocznych pierwsze owoce zaczynają dojrzewać około połowy sierpnia, zaś ostatnie – aż do jesiennych przymrozków. Owoce są duże i bardzo duże, bardzo atrakcyjne w wyglądzie – o jednolitym, kulisto-owalnym kształcie i jasnoczerwonej barwie z lekkim połyskiem. Pędy są prawie zupełnie pozbawione kolców (pojedyncze kolce występują tylko u nasady pędów). Ta nowa odmiana maliny może być polecana zarówno do uprawy na plantacjach towarowych, jak i w ogrodach przydomowych.

Późną jesienią przygotowano i wysłano do Centralnego Ośrodka Badania Odmian Roślin Uprawnych niezbędną dokumentację, wymaganą do zgłoszenia klonu do Rejestru Odmian oraz Księgi Ochrony.

Dla wytypowanego do badań rejestrowych klonu M-14345E o rodowodzie hodowlanym ‘Canby’ × ‘Polana’ opracowano metkę identyfikacyjną DNA-fingerprinting. W tym celu z analizowanego klonu i jego genotypów rodzicielskich pobrano materiał roślinny w postaci młodych liści. Z pobranej tkanki wyizolowano DNA metodą opartą na CTAB. Do analiz molekularnych zastosowano technikę SSR, umożliwiającą analizę regionów mikrosatelitarnych. Reakcje amplifikacji przeprowadzono na uzyskanych matrycach DNA

w obecności 20 par oligonukleotydów, specyficznych dla genomu maliny. Do przygotowania DNA-fingerprinting wytypowano zestaw pięciu oligonukleotydów.

Działania upowszechnieniowo-promocyjne:

W siedzibie Pracowni Genetyki i Hodowli Roślin Sadowniczych, a także telefonicznie oraz mailowo udzielano licznych porad i konsultacji wielu producentom maliny na temat realizowanego programu hodowli i dotychczasowych osiągnięć w obrębie tego gatunku, wartości produkcyjnej wyhodowanych odmian oraz ich przydatności do uprawy towarowej w Polsce.

Prowadzono spotkania informacyjne dla producentów owoców oraz szkółkarzy zainteresowanych odmianami wyhodowanymi w IO.

Wykonanie mierników:

1. liczba wyprodukowanych siewek: **plan - 1 200; wykonanie – 1 200;**
2. liczba wyselekcjonowanych i rozmnożonych materiałów wyjściowych: **plan – 8 klonów; wykonanie – 8 klonów;**
3. zgłoszenie klonu/odmiany do badań rejestrowych COBORU: **plan - 1 klon; wykonanie – 1;**
4. opracowanie metki identyfikacyjnej „DNA-fingerprinting” dla klonu/ odmiany zgłoszonej do badań rejestrowych: **plan - 1 metka; wykonanie – 1;**
5. opracowanie oferty wdrożeniowej dla klonu/odmiany zgłoszonej do badań rejestrowych COBORU: **plan - 1 oferta; wykonanie - 1.**