

**Zadanie 3.14. Wytworzenie materiałów wyjściowych podkładek wegetatywnych dla jabłoni (*Malus Mill.*) odpornych na zgniliznę pierścieniową podstawy pnia jabłoni, wytrzymałych na niskie ujemne temperatury oraz beziernistych.**

**Cel zadania:** 1) Wytworzenie cennych materiałów wyjściowych podkładek wegetatywnych dla jabłoni odpornych na zgniliznę pierścieniową podstawy pnia jabłoni (*Phytophthora cactorum*) oraz wytrzymałych na niskie ujemne temperatury i charakteryzujących się brakiem cierni; 2) Opracowanie markerów opartych na analizie sekwencji genomowych oraz ocenie stopnia zróżnicowania poziomu ich ekspresji, przydatnych do monitorowania ww. cech i selekcji najcenniejszych genotypów podkładek dla jabłoni.

**Opis zadania – zakres rzeczowy planowany na 2024 rok:**

- 1) utrzymanie roślin w formie wegetatywnych kolekcji polowych, w karkasach, tunelach foliowych, kulturach *in vitro* oraz w kriobankach zgodnie z normami międzynarodowymi;
- 2) dobór form rodzicielskich do krzyżowań w oparciu o ich cechy fenotypowe, testy laboratoryjne i molekularną ocenę stopnia pokrewieństwa metodami SSR-PCR oraz przy zastosowaniu programów statystycznych przeznaczonych do analizy skupień PCA i UPGMA;
- 3) wykonywanie programów krzyżowań (7 kombinacji) oraz zbiorów owoców, pozyskiwanie i wysiew nasion;
- 4) produkcja siewek w szklarni i sadzenie siewek w polowej kwaterze selekcyjnej;
- 5) pielęgnacja, ocena i selekcja pozytywna w obrębie populacji siewek (oznaczanie pojedynków będących nośnikami pożądanых cech);
- 6) rozmnażanie tradycyjne i *in vitro* wyselekcjonowanych pojedynków dla założenia kolekcji klonów w celu ich dalszej oceny pod kątem poziomu pożądanых cech;
- 7) ocena wartości produkcyjnej klonów selekcyjnych i rozmnożenie najcenniejszych genotypów; (4 genotypy)
- 8) szczegółowa ocena wartości produkcyjnej najbardziej wartościowych genotypów w doświadczeniach porównawczych, z możliwością zgłoszenia ich do badań rejestrowych COBORU, jako potencjalne nowe podkładowki wegetatywne dla jabłoni, z uwzględnieniem badań molekularnych (molekularna weryfikacja tożsamości genetycznej i statusu zdrowotności mieszańców pod kątem chorób wirusowych);
- 9) testowanie wartościowych genotypów pod względem tolerancji na stropy biotyczne i abiotyczne w warunkach kontrolowanych (sztuczne przemrażanie roślin, wstępna ocena fenotypowa i molekularna roślin inokulowanych *Phytophthora cactorum* (sprawca zgnilizny podstawy pnia jabłoni) - w ramach doświadczenia rozpoczętego w 2022 roku, kopia doświadczenia przygotowana także w 2023 (tunel).
- 10) zakładanie i prowadzenie doświadczeń demonstracyjno-wdrożeniowych dla upowszechniania nowych genotypów;

W ramach badań molekularnych równolegle prowadzone będą prace obejmujące:

- 11) wyizolowanie DNA/RNA z tkanek roślin wytypowanych genotypów podkładek zróżnicowanych pod względem ocenianych cech (wstępna ocena fenotypowa) przeznaczonych do badań;
- 12) wytypowanie sekwencji genów kandydujących oraz sekwencji transpozomowych (dostępne bazy, literatura, sekwencje o zróżnicowanej ekspresji uzyskane z analiz NGS wyłonione na podstawie przeprowadzonego sekwencjonowania transkryptomów podkładek wzorcowych) (2 sekwencje z odczytów bibliotek NGS), do analizy RT-qPCR poprzez opracowanie ich profili ekspresyjnych.