

Zadanie nr 3.10 – Wytworzenie materiałów wyjściowych czereśni (*Prunus avium* L.) o wysokiej jakości oraz tolerancyjnych na pęknięcie owocach deserowych z wykorzystaniem techniki *embryo rescue*

Kierownik zadania: dr Marek Szymajda

Cele zadania:

Wytworzenie nowych materiałów wyjściowych czereśni wytwarzających wysokiej jakości oraz tolerancyjne na pęknięcie owoce deserowe (kontynuacja oceny materiałów hodowlanych czereśni otrzymanych w latach 2008-2013 i realizacja nowego programu hodowli) oraz optymalizacja warunków metody *embryo rescue* dla prawidłowego rozwoju niedojrzałych zarodków wytwarzanych przez formy mateczne o wczesnym terminie dojrzewania owoców.

Zakres rzeczowy zadania i przyjęte cele realizowano zgodnie z założeniami na 2025 r.

Wykonano 10 kombinacji krzyżowań, zapyłono 7 056 kwiatów, uzyskano 2 458 owoców, z których pozyskano 2 235 nasion. Wyprodukowano 901 nowych siewek, które jesienią posadzono w kwaterze selekcyjnej Sadu Doświadczalnego w Dąbrowicach. W kwaterach selekcyjnych oceniano 1 987 siewek; wyselekcjonowano 1 pojedynek. Rozmnożono 1 pojedynek oraz 1 klon do ewentualnego wykorzystania ich w dalszej hodowli; prowadzono 3 doświadczenia odmianowo-porównawcze. Przeprowadzono weryfikację tożsamości genetycznej, przy zastosowaniu markerów mikrosatelitarnych (SSR), trzech klonów czereśni hodowli IO: Cz-KD3-1-12 ('Van' × 'Summit'), Cz-KD3-2-77 ('Summit' × 'Burlat') oraz Cz-KD3-2-38 ('Drogana Żółta' × 'Regina'). Do badań nad uzyskaniem siewek techniką *embryo rescue* z nasion form matecznych o wczesnym terminie dojrzewania owoców zastosowano dwie pożywki Murashige & Skoogi oraz Boxus różniące się źródłem i stężeniem mikro- i makroelementów oraz rodzajem cukru (sacharoza 20g/l i glukoza 40g/l) oraz wprowadzono modyfikację składu obu ww. pożywek polegającą na zmniejszeniu o połowę mikro- i makroskładników ($1/2$ MS, $1/2$ Boxus). Koncentracja żelaza oraz regulatorów wzrostu pozostała bez zmian. Na każdą pożywkę wykładano po 240 nasion z dwóch kombinacji krzyżowań: 'Rita' × 'Kasandra' oraz 'Jacinta' × 'Rita', pobranych odpowiednio w 7 i 8 tygodniu po zapyleniu kwiatów w początkowej fazie czerwonego owocu.

W ramach zadania 3.10 w 2025 r. wykonano następujące prace:

1) Wykonanie programu krzyżowań z wykorzystaniem różnych form rodzicielskich o komplementarnych cechach fenotypowych i użytkowych oraz zbiorów owoców, pozyskiwanie nasion.

Wykonano 10 kombinacji krzyżowań na drzewach posadzonych w tunelu foliowym (Sad Pomologiczny w Skierniewicach), zapyłono 7 056 kwiatów. Do programu krzyżowań wykorzystano 10 form rodzicielskich ('Rita', 'Jacinta', 'Kasandra', 'Carmen', 'Tamara', 'Justyna', 'Kordia', 'Regina' i 2 klony hodowlane: C16-1 i C16-2), pochodzących z różnych rejonów geograficznych – Węgry, Czechy, Niemcy i Polska oraz zróżnicowanych genetycznie. Jako formy rodzicielskie wybrano genotypy o wysokiej plenności i wytwarzające atrakcyjne owoce. Trzy odmiany oraz dwa klony hodowlane należą do genotypów o wczesnym terminie dojrzewania owoców. Otrzymano 2 458 owoców, z których pozyskano 2 235 nasion. W celu uzyskania siewek z zarodków otrzymanych z krzyżowania genotypów o wczesnym terminie dojrzewania owoców zastosowano metodę *embryo rescue*.

2) Stratyfikacja, wysiew nasion oraz produkcja siewek w szklarni i wysokim nieogrzewanym tunelu foliowym.

Uzyskane z programu krzyżowań nasiona poddano stratyfikacji. Przed stratyfikacją z nasion usunięto endokarpy za pomocą imadła stołowego. Pozyskane nasiona odkażano poprzez namoczenie w 0,5% roztworze fungicydu Kaptan zawieszinowy 50 WP przez 1-2 godz. Następnie wymieszano je z wilgotnym podłożem do stratyfikacji (perlit), zapakowano do oddzielnych, perforowanych foliowych torebek i umieszczono w inkubatorze do stratyfikacji nasion w temperaturze ok. 5°C. Pierwsze cztery przeglądy nasion wykonano po 20, 40, 60 i 80 dniach od rozpoczęcia stratyfikacji, a następnie co 10 dni. W trakcie tych przeglądów wybierano i liczono kiełkujące nasiona, które

sukcesywnie wysiewano (sadzono) pojedynczo do plastikowych doniczek o wymiarach 7 × 7 cm, wypełnionych mieszaniną substratu torfowego i piasku w stosunku objętościowym 3:1. Doniczki z wysianymi nasionami ustawiano na parapecie w szklarni ze zmienną temperaturą 20/18°C (dzień/noc), pod sztucznym doświetlaniem 16/8 h (dzień/noc). W szklarni z nasion uzyskanych w latach 2022-2023 wyprodukowano 734 nowe siewki. W maju siewki posadzono w wysokim tunelu foliowym. W tunelu foliowym kontynuowano też produkcję 167 siewek uzyskanych w roku ubiegłym. W trakcie uprawy prowadzono zabiegi ochrony roślin według zaleceń Programu Ochrony Roślin Sadowniczych na 2025 r. oraz zabiegi pielęgnacyjne: nawożenie, nawadnianie, odchwaszczanie, cięcie.

3) Optymalizacja metody *embryo rescue*.

W 2025 r. do badań nad uzyskaniem siewek techniką *embryo rescue* z nasion form matecznych o wczesnym terminie dojrzewania owoców wybrano pożywki: Murashige & Skoog (1962) i Boxus (1974) różniące się źródłem i stężeniem mikro- i makroelementów oraz rodzajem cukru (sacharoza 20g/l i glukoza 40g/l). Pożywka Murashige & Skoog (1962) jest podstawowym podłożem wykorzystywanym w hodowli *in vitro* roślin. Charakteryzuje się bogatym składem związków mineralnych i organicznych, natomiast Boxus zawiera dodatkowe źródło żelaza. Dodatkowo wprowadzono modyfikację składu obu ww. pożywek polegającą na zmniejszeniu o połowę mikro- i makroskładników (1/2 MS, 1/2 Boxus). Koncentracja żelaza oraz regulatorów wzrostu pozostała bez zmian. Na każdą pożywkę wykładano po 240 nasion z dwóch kombinacji krzyżowań: 'Rita' × 'Kassandra' oraz 'Jacinta' × 'Rita', pobranych w 7 i 8 tygodniu po zapyleniu w początkowej fazie czerwonego owocu. Pozyskane z owoców pestki poddano sterylizacji w roztworze 0,1% chlorku rtęci przez 5 minut, a następnie izolowano z nich nasiona. Nasiona wykładano na pożywki bez regulatorów wzrostu i poddano stratyfikacji ciepło – chłodnej (25°C/ 3 tygodnie – 4°C /12 tygodni). Po tym czasie poczyniono obserwacje związane ze stanem zarodków na przygotowanych pożywkach. W kombinacji krzyżowań 'Rita' × 'Kassandra' zarodki białe i twarde (żywotne) stanowiły 43% wszystkich wyłożonych na pożywkę 1/2 MS, 67% na MS, 42% na 1/2 Boxus i 45% na Boxus. Analogiczne obserwacje przeprowadzono dla zarodków pochodzących z kombinacji krzyżowań 'Jacinta' × 'Rita'. Zarodki żywotne stanowiły 82% wszystkich wyłożonych na pożywkę 1/2 MS oraz MS, 87% na 1/2 Boxus i 88% na Boxus. Po okresie stratyfikacji zarodki przekładano na pożywkę WPM (sacharoza 30 g/l) bez regulatorów wzrostu i umieszczano w fitotronie. Po kolejnych 4 tygodniach hodowli oceniano, ile zarodków podjęło wzrost i rozwój oraz wykształciło organy roślinne (korzeń i pęd). Zarodki z kombinacji 'Rita' × 'Kassandra' wykazywały niską zdolność do kiełkowania. Tylko 6% zarodków na pożywce 1/2 MS i MS wytworzyły rośliny. Na pożywce 1/2 Boxus oraz Boxus pęd tworzył rozetę liściową, która kończyła swój wzrost elongacyjny. W sumie do podłoża wysadzono 3% roślin w stosunku do całej puli wyizolowanych zarodków. Zarodki z kombinacji 'Jacinta' × 'Rita' lepiej rozwijały się na pożywkach typu Boxus niż MS. Na pożywkach 1/2 MS i MS, uzyskano odpowiednio 48% i 47% roślin, natomiast na pożywkach 1/2 Boxus i Boxus odpowiednio 80% i 63%. Część nadliścieniowa większości roślin osiągała długość ok. 20 mm i wykształcała 3-4 liście, a długość korzenia średnio wynosiła ok. 62 mm. Rośliny, które wytworzyły system korzeniowy oraz pęd o długości min. 1,5 cm zostały wysadzone w szklarni i poddane aklimatyzacji. Finalnie, w odniesieniu do wszystkich wyłożonych nasion, do podłoża wysadzono odpowiednio 32% roślin uzyskanych na pożywce 1/2 MS, 30% roślin uzyskanych na pożywce MS, 62% na pożywce 1/2 Boxus i 43% roślin uzyskanych na pożywce Boxus.

4) Sadzenie, uprawa i pielęgnacja siewek w polowej kwaterze selekcyjnej.

W kwaterach selekcyjnych (ok. 0,5 ha) kontynuowano uprawę 250 siewek, wyprodukowanych w ostatnich latach edycji poprzedniego programu wieloletniego (lata 2008-2013) oraz 1 737 siewek wyprodukowanych w ramach dotacji celowej – zadanie 3.10. W kwaterze selekcyjnej prowadzono zabiegi pielęgnacyjne: nawożenie, nawadnianie, odchwaszczanie, cięcie i formowanie drzew oraz ochronę chemiczną przeciwko chorobom i szkodnikom według zaleceń Programu Ochrony Roślin Sadowniczych na 2025 r. Jesienią w Sadzie Doświadczalnym w Dąbrowicach posadzono 901 siewek wyprodukowanych w wysokim tunelu foliowym.

5) Ocena i selekcja pozytywna w obrębie populacji siewek (oznaczanie pojedynków będących nośnikami pożądanых cech, molekularna weryfikacja tożsamości genetycznej wartościowych pojedynków).

W kwaterach selekcyjnych (ok. 0,5 ha) kontynuowano ocenę 250 siewek, wyprodukowanych w ostatnich latach edycji poprzedniego programu wieloletniego (lata 2008-2013) oraz 1 737 siewek wyprodukowanych w ramach dotacji celowej – zadanie 3.10. Ocenianymi cechami fenotypowymi były: siła wzrostu i pokrój drzew, termin i intensywność kwitnienia oraz owocowania drzew, wielkość owoców oraz barwa owoców i soku. W trakcie prowadzonej oceny wyselekcjonowano 1 nowy pojedynek: Cz-KD3-2-77 ('Summit' × 'Burlat').

Przeprowadzono weryfikację tożsamości genetycznej (na poziomie DNA) trzech perspektywicznych klonów czereśni hodowli IO: Cz-KD3-1-12 ('Van' × 'Summit'), Cz-KD3-2-77 ('Summit' × 'Burlat') oraz Cz-KD3-2-38 ('Drogana Żółta' × 'Regina'). Pobrano materiał roślinny w postaci młodych liści z analizowanego klonu i jego genotypów rodzicielskich. Z pobranej tkanki (2g/ 3 powtórzenia) wyizolowano DNA metodą opartą na CTAB, zgodną z Doyle i Doyle (1990), uzyskano 24 próby DNA. Czystość i jakość przygotowanych preparatów określano spektrofotometrycznie przy długości 230, 260, 280, 320 nm (Gene Quant Pro Amersham Pharmacia Biotech). Do analiz molekularnych zastosowano technikę SSR (Simple Sequence Repeat), umożliwiającą analizę regionów mikrosatelitarnych. Reakcje amplifikacji przeprowadzano na uzyskanych matrycach DNA (2 powt. biol./ 2-3 powt. tech.) w obecności 20 par oligonukleotydów, specyficznych dla genomu czereśni. Polimorficzne fragmenty DNA obserwowano po elektroforezie produktów amplifikacji z dwiętnastoma z dwudziestu testowanych oligonukleotydów, które posłużyły do weryfikacji tożsamości testowanych klonów czereśni. Łącznie przeprowadzano 480 testów PCR, wygenerowano 84 amplikony o długości od 90 do 390 pz. Potwierdzono tożsamość genetyczną wszystkich analizowanych klonów, ponieważ po wizualizacji produktów amplifikacji obserwowano allele zarówno od formy matecznej jak i ojcowskiej. Wygenerowane amplikony poddano analizie bioinformatycznej pod kątem oceny stopnia ich powinowactwa genetycznego. Obecność lub brak polimorficznych fragmentów DNA była podstawą do określenia pokrewieństwa genetycznego badanych genotypów.

6) Rozmnażanie (klonowanie) wyselekcjonowanych pojedynków dla założenia kolekcji wyjściowych materiałów hodowlanych dla ich dalszej oceny pod kątem poziomu pożądanych cech i możliwości włączenia do hodowli.

Rozmnożono poprzez zimowe szczepienie w rękę na podkładce 'Gisela 5' nowy pojedynek czereśni Cz-KD3-1-12 ('Van' × 'Summit'), w celu prowadzenia jego dalszej dokładnej oceny.

7) Ocena wartości produkcyjnej klonów selekcyjnych w kolekcji klonów i rozmnożenie najcenniejszych klonów.

Oceniono wzrost i owocowanie 15 klonów rosnących w kwaterach hodowlanych (ok. 0,3 ha) w Sadzie Doświadczalnym w Dąbrowicach. Ocenianymi cechami fenotypowymi były: siła wzrostu i pokrój drzew, termin i intensywność kwitnienia oraz owocowania drzew, wielkość owoców oraz barwa owoców i soku. Rozmnożono na podkładce 'Gisela 5' 1 klon o wczesnym terminie dojrzewania owoców: Cz-KD3-2-38 ('Drogana Żółta' × 'Regina'), w celu jego dalszej oceny.

8) Prowadzenie wstępnych hodowlanych doświadczeń porównawczych z najwartościowszymi klonami, uzyskanymi w latach 2008-2013 w celu zgłoszenia ich, jako potencjalnych odmian, do badań rejestrowych COBORU (ocena fenotypowa, laboratoryjna, molekularna weryfikacja tożsamości genetycznej i statusu zdrowotności mieszańców pod kątem chorób wirusowych).

Kontynuowano 3 doświadczenia odmianowo-porównawcze:

Czereśnia – 1/2016 - doświadczenie odmianowo-porównawcze z nowymi klonami hodowlanymi czereśni o wczesnym terminie dojrzewania owoców – 2 nowe klony: C16-1 i C16-2; odmiana standardowa – 'Burlat' na podkładce 'Gisela 5'. Doświadczenie prowadzone jest w Sadzie Doświadczalnym w Dąbrowicach na powierzchni ok. 0,1 ha. Wiosną roku 2025 wykonano obserwacje terminu i intensywności kwitnienia drzew. Latem oceniono termin dojrzewania owoców, masę plonu oraz średnią masę owoców. Jesienią oceniono siłę wzrostu drzew, wyrażoną polem poprzecznego przekroju pnia (PPPP).

W 2025 roku drzewa badanych genotypów kwitły w tym samym czasie i tak samo intensywnie jak drzewa standardowej odmiany 'Burlat'. Owoce klonów C 16-1 oraz C 16-2 dojrzały w tym samym czasie, 3 dni wcześniej niż owoce odmiany 'Burlat'. Największy plon owoców zebrano z drzew klonu

C 16-2. Drugi badany klon C 16-1 plonował słabiej, ale lepiej od odmiany kontrolnej. Drzewa obu badanych klonów wytwarzały większe owoce oraz słabiej rosły niż drzewa kontrolnej odmiany 'Burlat'.

Czereśnia – 1/2017 - doświadczenie z nowymi klonami hodowanymi czereśni o wczesnym terminie dojrzewania owoców – 3 nowe klony: Cz-KD1-3-8 ('Vanda' × 'Merton Premier'), Cz-KD1-3-48 ('Drogana Żółta' × 'Walerija'), Cz-KD1-3-80 ('Vospominanie' × 'Sweetheart'); odmiana standardowa – 'Burlat' na podkładce 'Gisela 5'. Doświadczenie o powierzchni ok. 0,1 ha prowadzone jest w Sadzie Doświadczalnym w Dąbrowicach. Wiosną roku 2025 wykonano obserwacje terminu i intensywności kwitnienia drzew. Latem oceniono termin dojrzewania owoców, masę plonu oraz średnią masę owoców. Jesienią oceniono siłę wzrostu drzew, wyrażoną polem poprzecznego przekroju pnia (PPPP).

W ósmym roku po posadzeniu najpóźniej kwitły drzewa klonów Cz-KD1-3-48. Drzewa wszystkich badanych klonów kwitły z taką samą intensywnością jak drzewa kontrolnej odmiany 'Burlat'. Owoce klonów Cz-KD1-3-8 oraz Cz-KD1-3-80 dojrzewały w podobnym terminie co owoce odmiany 'Burlat', natomiast klonu Cz-KD1-3-48 3 dni później. Drzewa klonu Cz-KD1-3-8 wytworzyły większy plon owoców od drzew odmiany kontrolnej. Pozostałe dwa klony owocowały słabiej od odmiany kontrolnej. Drzewa odmiany 'Burlat' wytwarzały większe owoce oraz silniej rosły od drzew badanych klonów.

Czereśnia – 2/2017 - doświadczenie odmianowo-porównawcze z nowymi klonami hodowanymi czereśni o późnym terminie dojrzewania owoców – 7 klonów: Cz-KD1-3-23 ('Drogana Żółta' × 'Sweetheart'), Cz-KD1-3-25 ('Drogana Żółta' × 'Sweetheart'), Cz-KD1-3-51 ('Drogana Żółta' × 'Regina'), Cz-KD1-3-53 ('Drogana Żółta' × 'Regina'), Cz-KD1-3-54 ('Drogana Żółta' × 'Regina'), Cz-KD1-3-59 ('Drogana Żółta' × 'Regina'), Cz-KD1-3-62 ('Drogana Żółta' × 'Regina'), na 2 podkładkach: wegetatywna - 'Gisela 5' i generatywna – siewki czereśni ptasiej 'Alkavo'; odmiany standardowe – 'Regina' i 'Kordia'. Doświadczenie prowadzone jest w Sadzie Doświadczalnym w Dąbrowicach na powierzchni ok. 0,2 ha. Wiosną roku 2025 wykonano obserwacje terminu i intensywności kwitnienia drzew. Latem oceniono termin dojrzewania owoców, masę plonu oraz średnią masę owoców. Jesienią oceniono siłę wzrostu drzew, wyrażoną polem poprzecznego przekroju pnia (PPPP).

W ósmym roku po posadzeniu najpóźniej kwitły drzewa klonu Cz-KD1/3/59. Wszystkie badane klony kwitły tak samo intensywnie jak obie odmiany kontrolne. Najwcześniej dojrzewały owoce odmiany kontrolnej 'Kordia', zarówno na podkładce 'Gisela 5', jak i na siewkach czereśni ptasiej. Rozpatrując średnie wartości dla dwóch podkładek najlepiej plonowały drzewa klonów Cz-KD1/3/51 i Cz-KD1/3/53. Zdecydowanie najslabiej plonowały drzewa klonu Cz-KD1/3/59 i kontrolnej odmiany 'Regina'. Największą masę miały owoce klonu Cz-KD1/3/59 i Cz-KD1/3/62 oraz odmiany 'Regina'. Na podkładce 'Gisela 5' najsłabszym wzrostem, wyrażonym polem przekroju poprzecznego pnia, wykazały się drzewa odmiany kontrolnej 'Regina', a na siewkach czereśni ptasiej drzewa klonu Cz-KD1/3/25 i Cz-KD1/3/53. Średnio dla podkładek, zarówno drzewa badanych klonów, jak i odmian kontrolnych rosły słabiej i znacznie lepiej owocowały na podkładce 'Gisela 5' niż na siewkach czereśni ptasiej 'Alkavo'.

Wyjazdy zagraniczne:

Udział wykonawcy – dr Marka Szymajda w 5th International Scientific Conference "Challenges in Temperate Climate. Sustainable Horticulture: from Plant to Product" – 2025" Riga, Latvia, 20-22 August 2025 (<https://ej.uz/lathortconference>).

Na konferencji przedstawiono poster multimedialny pt. „Growth and yield of new late ripening sweet cherry (*Prunus avium* L.) clones grafted on two rootstocks” („Wzrost i plonowanie nowych klonów czereśni (*Prunus avium* L.) o późnej porze dojrzewania owoców na dwóch podkładkach”).

Wymierne/trwałe rezultaty realizacji zadania:

Wyprodukowano 901 nowych siewek czereśni, które jesienią posadzono w kwaterze selekcyjnej Sadu Doświadczalnego w Dąbrowicach. Po ukończeniu fazy juvenilnej możliwe będzie wykonanie oceny fenotypowej owoców, co stworzy szanse wyselekcjonowania nowych cennych genotypów o pożądanym cechach użytkowych (wysoka jakość oraz tolerancja na pęknięcie owoców).

W trakcie prowadzonej oceny siewek czereśni wyselekcjonowano 1 nowy pojedynek o wczesnym terminie dojrzewania owoców: Cz-KD3-2-77 ('Summit' × 'Burlat').

Oceniono wzrost i owocowanie drzew nowych klonów czereśni w 3 doświadczeniach odmianowo-porównawczych.

Wykonano wstępną przydatności dwóch pożywek MS i Boxus o zmodyfikowanym składzie do hodowli niedojrzałych zarodków czereśni. Udoskonalenie hodowli *embryo rescue* zwiększy szansę uzyskania większej ilości siewek od form matecznych wytwarzających owoce o wczesnym terminie dojrzewania.

Działania upowszechnieniowo-promocyjne:

W siedzibie Pracowni Genetyki i Hodowli Roślin Sadowniczych, a także telefonicznie oraz e-mailowo udzielano porad i konsultacji producentom czereśni na temat nowego programu hodowli, oceny wartości produkcyjnej wytworzonych klonów hodowlanych oraz ich przydatności do uprawy towarowej w Polsce.

Prowadzono spotkania informacyjne dla producentów owoców oraz szkółkarzy zainteresowanych programem hodowli w IO - PIB.

W dniach 20-22 sierpnia 2025 r. na Międzynarodowej Konferencji Naukowej (V International Scientific Conference "Challenges in Temperate Climate. Sustainable Horticulture: from Plant to Product, Ryga, Łotwa), przedstawiono poster multimedialny pt. „Growth and yield of new late ripening sweet cherry (*Prunus avium* L.) clones grafted on two rootstocks”.

Abstrakt:

Szymajda M. 2025. Growth and yield of new late ripening sweet cherry (*Prunus avium* L.) clones grafted on two rootstocks. V International Scientific Conference "Challenges in Temperate Climate. Sustainable Horticulture: from Plant to Product". Biodiversity and innovations in horticultural crop breeding. Riga, Latvia, 20-22 August 2025. Book of Abstracts: 51.

Wykonanie mierników:

Mierniki na 2025 r. dla zadania 3.10.:

1. liczba kombinacji w wykonanym programie krzyżowań – **plan: 10, wykonanie: 10**
2. liczba wyselekcjonowanych i rozmnożonych materiałów wyjściowych o pożądanych cechach dla wykorzystania ich w dalszej hodowli – **plan: 1 genotyp, wykonanie: 1**
3. molekularna weryfikacja tożsamości genetycznej wartościowych klonów hodowlanych - **plan: 3 klony, wykonanie: 3**
4. liczba prowadzonych hodowlanych doświadczeń porównawczych – **plan: 3, wykonanie: 3**
5. liczba doniesień (ustnych lub posterów) na konferencjach międzynarodowych – **plan: 1, wykonanie: 1 doniesienie** (pt. Growth and yield of new late ripening sweet cherry (*Prunus avium* L.) clones grafted on two rootstocks)