

Konferencja Naukowa
Zjazd Absolwentów

19-20
czerwca
2026

Ziemia.
Roślina.
Odpowiedzialność.

110 lat
ogrodnictwa
w SGGW
1916-2026



210
LAT TRADYCJI
SGGW

Wydział
Ogrodniczy

Wstępne badania nad opracowaniem metodyki transformacji genetycznej i edycji genomu z wykorzystaniem systemu CRISPR/Cas9 u maliny właściwej (*Rubus idaeus* L.)

Danuta Wójcik*, Agnieszka Wojtania, Aleksandra Trzewik, Justyna Trzeciak,
Anita Kuras, Agnieszka Masny, Ewa Gołębiewska

Instytut Ogrodnictwa – Państwowy Instytut Badawczy, Skierniewice

*E-mail: danuta.wojcik@inhort.pl

Malina właściwa (*Rubus idaeus* L.) jest ważnym gospodarczo gatunkiem uprawianym komercyjnie w Polsce. Według danych FAOSTAT, Polska zajmuje piąte miejsce w rankingu największych na świecie producentów malin i pierwsze miejsce w Europie. Rozwój nowych technik genomowych, w tym techniki ukierunkowanej mutagenyzy z wykorzystaniem systemu CRISPR/Cas, daje hodowcom roślin sadowniczych możliwość precyzyjnej modyfikacji genów odpowiedzialnych za ważne gospodarczo cechy, takie jak odporność na stresy biotyczne i abiotyczne, wysoka jakość owoców, w tym zawartość związków prozdrowotnych, oraz ich długa trwałość pozbiorcza.

Do badań wytypowano trzy genotypy maliny właściwej: odmianę 'Polana' oraz dwa klony hodowlane L-15 i L-41, pochodzące z programu hodowlanego Zakładu Hodowli Roślin Ogrodniczych IO-PIB. Transformację prowadzono za pośrednictwem szczepu LBA 4404 *Agrobacterium tumefaciens* niosącego plazmid binarny pCambia1105.1r. z genem reporterowym *gus*, kodującym β -glukuronidazę. Jako eksplantatów do transformacji użyto blaszek i ogonków liściowych pochodzących z ustabilizowanych kultur *in vitro* wytypowanych genotypów. Dla genotypu L-41 potwierdzono aktywność β -glukuronidazy w transformowanych tkankach w reakcji histochemicznej z X-Gluc.

Jako gen docelowy do opracowania metodyki edycji genomu maliny właściwej wybrano gen kodujący desaturazę fitoenuową (*pds*), enzym zaangażowany w biosyntezę karotenoidów. Przeprowadzono sekwencjonowanie cDNA genu *pds* wybranych genotypów maliny posiłkując się sekwencją tego genu z innych gatunków z rodziny Rosaceae – truskawki i poziomki leśnej, dostępnych w bazie danych NCBI. Dla uzyskanych sekwencji zaproponowano 2 cząsteczki sgRNA do edycji z wykorzystaniem systemu CRISPR/Cas9.

Badania wykonano w ramach zadań celowych finansowanych przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi, Zadanie nr 3.18 pt. „Opracowanie systemu edycji genomu techniką CRISPR/Cas oraz optymalizacja metod regeneracji i transformacji wybranych gatunków roślin jagodowych”.

Słowa kluczowe: *Agrobacterium tumefaciens*, gen reporterowy *gus*, gen *pds*

Preliminary Studies on Genetic Transformation and CRISPR/Cas9-Based Genome Editing in Raspberry (*Rubus idaeus* L.)

Danuta Wójcik*, Agnieszka Wojtania, Aleksandra Trzewik, Justyna Trzeciak, Anita Kuras, Agnieszka Masny, Ewa Gołębiewska

The National Institute of Horticultural Research, Skierniewice

*E-mail: danuta.wojcik@inhort.pl

Raspberry (*Rubus idaeus* L.) is an economically important species cultivated commercially in Poland. According to FAOSTAT data, Poland ranks fifth among the world's largest raspberry producers and first in Europe. The development of site-directed mutagenesis techniques using the CRISPR/Cas system provides fruit breeders with the ability to precisely modify genes responsible for economically important traits, such as resistance to biotic and abiotic stresses, improved fruit quality, and extended postharvest shelf life.

Three raspberry genotypes were selected for the study: cultivar 'Polana' and breeding clones L-15 and L-41 from the breeding program of the Department of Horticultural Crop Breeding at IO-PIB. Transformation was carried out using the *Agrobacterium tumefaciens* strain LBA4404, harbouring the binary plasmid pCAMBIA1105.1r with the *gus* reporter gene encoding β -glucuronidase. Leaf blades and petioles from stabilized *in vitro* cultures were used as explants for transformation. For the L-41 genotype, β -glucuronidase activity was confirmed in transformed tissues using a histochemical assay.

The gene encoding phytoene desaturase (*pds*) was selected as the target for developing a genome editing methodology in raspberry. The cDNA sequence of the *pds* gene in raspberry genotypes was determined based on homologous sequences from strawberry and wild strawberry. Based on the obtained sequences, two single-guide RNA molecules were designed for CRISPR/Cas9-mediated genome editing.

This research was carried out as part of the targeted subsidy of the Ministry of Agriculture and Rural Development, Task 3.18: "Development of a genome editing system using the CRISPR/Cas technique and optimization of regeneration and transformation methods for selected berry plant species".

Keywords: *Agrobacterium tumefaciens*, *gus* reporter gene, *pds* gene