

Możliwości poprawy jakości owoców truskawki metodą hybrydyzacji wewnątrz- i międzygatunkowej w obrębie rodzaju *Fragaria*

Possibilities of improvement the quality of strawberry fruit by intra- and interspecific hybridization within the *Fragaria* genus

Agnieszka Masny¹✉, Monika Mieszczakowska-Frać²✉

¹Zakład Hodowli Roślin Ogrodniczych, Instytut Ogrodnictwa, ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice,

²Zakład Przechowalnictwa i Przetwórstwa Owoców i Warzyw, Instytut Ogrodnictwa, ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice,

✉ e-mail: agnieszka.masny@inhort.pl

Prace badawcze nad poszerzaniem zmienności genetycznej u truskawki na świecie ukierunkowane są głównie na poprawę zewnętrznej i wewnętrznej jakości owoców. Celem podjętych w Instytucie Ogrodnictwa badań było określenie możliwości zwiększenia zawartości substancji bioaktywnych (przede wszystkim polifenoli, antocyjanów oraz kwasów organicznych) w owocach truskawki metodą hodowli konwencjonalnej. Na podstawie dwuletniej oceny fenotypowej spośród 6097 siewek, otrzymanych w wyniku krzyżowań wewnątrz- i międzygatunkowych w obrębie rodzaju *Fragaria*, wyselekcjonowano 90 wartościowych genotypów. W roku 2019 genotypy te oceniono pod względem plonu, masy, atrakcyjności i jędrności owoców, a także zawartości w owocach ekstraktu, związków fenolowych, antocyjanów i kwasu askorbinowego.

Stwierdzono, że największe, najbardziej atrakcyjne i jędrne owoce wytworzyły klony T-201536-16 i T-201536-08 ('Clery' × 'Grandarosa'), T-201514-04 i T-201514-05 ('Candiss' × 'Panvik') oraz T-201560-07 ('Onda' × 'Panvik'). Największą zawartością ekstraktu odznaczały się owoce genotypów T-201536-16 i T-201536-09 ('Clery' × 'Grandarosa'). Najwięcej związków fenolowych zawierały owoce klonów T-201501-02 ('Alba' × 'Grandarosa'), T-201512-04 ('Camarosa' × 'Panvik') oraz T-201567-01 ('Patty' × 'Panvik'), zaś antocyjanów - owoce klonów T-201514-08 ('Candiss' × 'Panvik'), T-201508-01 ('Alice' × 'Matis'), T-201517-05 ('Chandler' × 'Matis') oraz T-201580-01 (*Fragaria chiloensis* Del Norte × 'Elsanta'). Najbardziej bogate w kwas askorbinowy były owoce klonów T-201526-05 ('Cigaline' × 'Grandarosa'), T-201501-03 ('Alba' × 'Grandarosa'), T-201536-15 ('Clery' × 'Grandarosa') oraz T-201567-01 ('Patty' × 'Panvik'). Najwyższą łączną zawartością wszystkich analizowanych związków bioaktywnych w owocach odznaczały się klony T-201514-08 ('Candiss' × 'Panvik'), T-201517-05 ('Chandler' × 'Matis') oraz T-201567-04 ('Patty' × 'Panvik').

Słowa kluczowe: antocyjany, jakość owoców, kwas L-askorbinowy, polifenole, truskawka

Research on widening genetic variation in strawberry around the world is focused mainly on improving external and internal fruit quality. The aim of the research undertaken at the Research Institute of Horticulture was to determine the possibility of increasing the content of bioactive compounds (polyphenols, anthocyanins and organic acids) in strawberry by conventional breeding. Based on a two-year phenotypic evaluation, 90 valuable genotypes were selected from 6097 hybrids obtained as a result of intra- and interspecific hybridization within the *Fragaria* genus. In 2019, these genotypes were assessed in terms of fruit yield, weight, attractiveness and firmness, as well as the content of the extract, phenolic compounds, anthocyanins and ascorbic acid in the fruit.

We found that the largest, most attractive and firmest fruits were produced by clones T-201536-16 and T-201536-08 ('Clery' × 'Grandarosa'), T-201514-04 and T-201514-05 ('Candiss' × 'Panvik') and T-201560-07 ('Onda' × 'Panvik'). The highest extract content was noted in the fruits of genotypes T-201536-16 and T-201536-09 ('Clery' × 'Grandarosa'). The greatest number of phenolic compounds were encountered in the fruits of clones T-201501-02 ('Alba' × 'Grandarosa'), T-201512-04 ('Camarosa' × 'Panvik') and T-201567-01 ('Patty' × 'Panvik'), while the highest anthocyanin levels were evident in the fruit of clones T-201514-08 ('Candiss' × 'Panvik'), T-201508-01 ('Alice' × 'Matis'), T-201517-05 ('Chandler' × 'Matis') and T-201580-01 (*Fragaria chiloensis* Del Norte × 'Elsanta'). Moreover, the richest levels of ascorbic acid were in the fruits of clones T-201526-05 ('Cigaline' × 'Grandarosa'), T-201501-03 ('Alba' × 'Grandarosa'), T-201536-15 ('Clery' × 'Grandarosa') and T-201567-01 ('Patty' × 'Panvik'). Finally, the highest total content of all analyzed bioactive compounds in fruits was noted for clones T-201514-08 ('Candiss' × 'Panvik'), T-201517-05 ('Chandler' × 'Matis') and T-201567-04 ('Patty' × 'Panvik').

Key words: anthocyanins, fruit quality, L-ascorbic acid, polyphenols, strawberry

Wstęp

Polska należy do grona największych producentów i eksporterów truskawek w świecie. W ostatnich latach w naszym kraju produkuje się ok. 180-200 tys. ton tych owoców (dane za lata 2013-2018). Według FAOSTAT (dane za 2017 r.), z taką wielkością produkcji Polska zajmuje drugie miejsce w Europie i siódme w świecie. Aby utrzymać tak wysoką pozycję, prace badawcze nad poprawieniem jakości truskawek powinny uwzględniać trendy europejskie, wśród których najważniejsza jest obecnie poprawa jakości życia i zdrowia mieszkańców Europy. W sadownictwie szczególnie nacisk kładziony jest na poprawę właściwości odżywczych i prozdrowotnych owoców poprzez zwiększenie w nich zawartości substancji bioaktywnych (Capocasa i in., 2008 a, b). Związki te, znane z właściwości antyoksydacyjnych i antykancerogennych, pełnią bardzo istotną rolę w diecie człowieka, zwłaszcza w zapobieganiu chorobom nowotworowym, miażdżycy i cukrzycy oraz nadciśnieniu tętniczemu (Battino i in., 2009; 2017; Mirończuk-Chodakowska i in., 2011; Giampieri i in., 2012; Białasiewicz i in., 2014; Zasowska i in., 2016). Szczególne znaczenie w profilaktyce tych chorób przypisuje się związkom z grupy polifenoli, flawonoidom i antocyjanom, kwasowi askorbinowemu oraz oligomerom kwasu elagowego - elagotanimom (da Silva-Pinto i in., 2008; Kazimierczak i in., 2009; Marques i in., 2010; Prymont-Przymińska i in., 2016).

Truskawki, podobnie jak i inne owoce jagodowe, są uznawane za bardzo ważne źródło związków bioaktywnych. Jednakże zawartość tych związków w bardzo dużym stopniu zależy od genotypu/ odmiany (Wang i Lewers, 2007). Bogate w związki bioaktywne są owoce odmian 'Clery', 'Diana', 'Selvik' (Michalska i in., 2017), 'Manille', 'Matis', 'Asia', 'Camarosa', 'Alice', 'Roxana', 'Madeleine', 'Cifrance', 'Patty' i 'Dora' (Capocasa i in., 2008 b), a także 'Alba', 'Sveva', 'Marina', 'Darselect', 'Elsanta', 'Honeoye' i 'Panvik' (EUBerry germplasm database, 2014). Jednak znacznie więcej związków bioaktywnych, w porównaniu do wymienionych odmian uprawnych z gatunku *Fragaria* × *ananas-sa*, zawierają owoce dzikich form *F. chiloensis* i *F. virginiana* (Wang i Lewers, 2007; Diamanti i in., 2012). Wyniki niektórych badań wskazują, że wykorzystanie puli genowej tych gatunków może skutkować zwiększeniem zawartości związków odżywczych i fitochemicznych w owocach truskawki (Capocasa i in., 2008 a).

Celem podjętych badań było określenie możliwości zwiększenia zawartości związków

bioaktywnych (przede wszystkim polifenoli, antocyjanów oraz kwasów organicznych) w owocach truskawki metodą hodowli konwencjonalnej w oparciu o ocenę mieszańców uzyskanych w wyniku krzyżowań wewnątrz- i międzygatunkowych wybranych form rodzicielskich należących do rodzaju *Fragaria*.

Material i Metody

Badania prowadzono w Instytucie Ogrodnictwa (IO) w Skierniewicach w roku 2019. Przedmiotem badań były owoce 90 mieszańców (klonów) truskawki, wyselekcjonowanych i rozmnożonych w roku 2017 po dwuletniej ocenie 6097 siewek pokolenia F₁, uzyskanych w wyniku krzyżowań wewnątrz- i międzygatunkowych wybranych form rodzicielskich z rodzaju *Fragaria*, odznaczających się wysoką zawartością w owocach składników bioaktywnych, głównie kwasu askorbinowego, antocyjanów i polifenoli.

Doświadczenie porównawcze założono jesienią 2017 roku w Sadzie Pomologicznym IO w Skierniewicach na glebie płowej, IV klasy bonitacyjnej, średnio zasobnej w składniki pokarmowe. Szczegółowy wykaz genotypów wraz z ich rodowodami zamieszczono w Tabeli 1. Każdy z wyselekcjonowanych genotypów reprezentowany był przez 15 roślin, posadzonych w jednym powtórzeniu w rozstawie 1,1 × 0,3 m, w kolejności zgodnej z numeracją wyselekcjonowanych pojedynków. Wszystkie prace uprawowo-pielęgnacyjne wykonywano zgodnie z zaleceniami dla plantacji towarowych.

Dojrzewające owoce każdego klonu zbierano sukcesywnie w miarę ich dojrzewania (przeprowadzono łącznie 5 zbiorów owoców), a następnie sortowano na owoce zdrowe i porażone przez szarą pleśń. W każdym z terminów zbiorów oceniano wagowo wielkość plonu i masę owoców zdrowych, zaś bonitacyjnie - atrakcyjność i jędrność owoców, używając w tym celu skali 1-5, gdzie 1 oznacza najniższą wartość, zaś 5 – najwyższą wartość badanej cechy. Oceniając atrakcyjność owoców zwracano uwagę zwłaszcza na kształt owocu i jego wyrównanie (brak deformacji), barwę skórki oraz jej połysk. Po wykonaniu oceny plenności i jakości zewnętrznej, wszystkie owoce zebrane w każdym terminie zbioru umyto, usunięto z nich kielich, zapakowano w indywidualne torebki strunowe i umieszczono w zamrażarce w temperaturze -25°C do czasu wykonywania analiz. Po zakończeniu zbiorów przygotowano próby mieszane owoców każdego genotypu i przekazano do Pracowni Przetwórstwa i Oceny Jakości Owoców i Warzyw Zakładu Przechowalnictwa i Przetwórstwa Owoców i Warzyw w celu wykonania podstawowych

analiz składu chemicznego owoców. Bezpośrednio przed analizą owoce rozdrobniono za pomocą młynka Blixer 3. Stosowano stały CO₂ lub ciekły N₂ w zależności od wielkości dostarczonej próby. Powstała w ten sposób średnia próbka laboratoryjna została podzielona na dwa powtórzenia techniczne i poddana analizom chemicznym. W badanych próbach oznaczono następujące składniki:

1. Ekstrakt (ekstrakt ogólny): suma składników substancji nielotnych do temperatury 100 oC, rozpuszczalnych w wodzie określona za pomocą refraktometru (RE 50, Mettler Toledo, Szwajcaria) według normy PN-90 A-75101/02;
2. Zawartość barwników antocyjanowych (ANT) - metodą różnicowego pH z zastosowaniem spektrofotometru UV/Vis CARY 300E (Varian) według Giusti i Wrolstad (2001). Pomiar absorbancji przy długości fali 520 nm. Zawartość antocyjanów wyliczono na podstawie molowej absorbancji glukozydu-3-pelargonidyny (22400) i masy molowej – 433,2 g/mol, a wyniki wyrażono w mg/100 g świeżej masy owoców;
3. Zawartość związków fenolowych ogółem (TPC) oznaczono zmodyfikowaną metodą spektrofotometryczną (Tsao i Yang, 2003) przy użyciu odczynnika Folin-Ciocalteu. Ogólna zawartość związków fenolowych przy długości fali 765 nm wyrażona została w mg kwasu galusowego/100 g świeżej masy owocu;
4. Zawartość kwasu L-askorbinowego oznaczono metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (Agilent 1200, detektor DAD) po ekstrakcji w 6% kwasie metafosforowym. Rozdział prowadzono przy użyciu kolumny Supelco LC-18 z prekolumną. Warunki elucji: 0,8 ml/min, temperatura 30 oC, długość fali 244 nm i 210 nm, faza ruchoma – 1% bufor fosforanowy (K₂HPO₄) o pH=2,5 w przepływie izokratycznym. Wyniki wyrażono w mg/100 g świeżej masy owoców.

Wyniki i Dyskusja

Plonowanie badanych genotypów było bardzo zróżnicowane; różnice dla poszczególnych genotypów wynosiły od 104 do 2802 g/poletko (Tab. 1). Przyczyną tak dużych różnic były przede wszystkim uszkodzenia przez przymrozki wiosenne pąków kwiatowych i kwiatów u genotypów odznaczających się wczesną porą kwitnienia. W okresie wiosennym 2019 roku odnotowano spadki temperatury (mierzone na wysokości 2 m nad powierzchnią gruntu) do -1,2°C w dniach 10-11 kwietnia, do -3,6°C w dniach 15-16 kwietnia oraz do -1,7°C w dniu 8 maja. Do grupy najlepiej

plonujących genotypów (powyżej 2 kg owoców z poletka) zaliczono T-201506-01 i T-201506-02 ('Alice' × 'Pink Rosa'), T-201510-02 i T-201510-04 ('Asia' × 'Matis'), T-201511-01 ('Asia' × 'Panvik'), T-201526-01, T-201526-02 i T-201526-05 ('Cigaline' × 'Grandarosa') oraz T-201536-06 ('Clery' × 'Grandarosa'). Dwie z wymienionych odmian ojcowskich, 'Grandarosa' i 'Pink Rosa', we wcześniejszych badaniach prowadzonych w Instytucie Ogrodnictwa w Skierniewicach odznaczały się wysoką plennością (Masny i Żurawicz, 2015; Masny i in., 2015). Jak wynika z przeprowadzonych wcześniej badań, odmiany te są nie tylko wysoce przydatne do uprawy towarowej, ale są również dobrymi donorami cechy wysokiej plenności, którą przekazują potomstwu.

Ocena fenotypowa cech jakości owoców badanych klonów (pomiar ich wielkości, a także ocena bonitacyjna atrakcyjności i jędrności) pozwoliła na wyodrębnienie najbardziej wartościowych genotypów. Do klonów o największych owocach zaliczono: T-201536-07 ('Clery' × 'Grandarosa'; średnia masa 1 owocu 21,0 g), T-201525-01 ('Cifrance' × 'Panvik'; 18,0 g) oraz T-201536-16 ('Clery' × 'Grandarosa'; 16,2 g). Najbardziej atrakcyjnymi owocami (ocena powyżej 4,5 w skali 1-5) w grupie badanych genotypów odznaczały się: T-201511-01 ('Asia' × 'Panvik'), T-201536-04 oraz T-201536-16 ('Clery' × 'Grandarosa'), zaś najbardziej jędrne owoce (ocena 5 w skali 1-5) posiadały klony: T-201501-03 ('Alba' × 'Grandarosa'), T-201512-06 ('Camarosa' × 'Panvik'), T-201536-10 ('Clery' × 'Grandarosa'), T-201555-02 ('Marmolada' × 'Grandarosa') oraz T-201560-02 ('Onda' × 'Panvik'). Biorąc pod uwagę cały kompleks wymienionych cech jakości owoców, za najbardziej cenne uznano klony: T-201501-03 ('Alba' × 'Grandarosa'), T-201511-01 ('Asia' × 'Panvik'), T-201512-05 i T-201512-06 ('Camarosa' × 'Panvik'), T-201514-04 ('Candiss' × 'Panvik'), T-201526-06 ('Cigaline' × 'Grandarosa'), T-201536-01, T-201536-02, T-201536-05, T-201536-06, T-201536-07 i T-201536-09 ('Clery' × 'Grandarosa') oraz T-201560-07 ('Onda' × 'Panvik').

Wymienione genotypy odznaczały się bardzo atrakcyjnymi owocami: dużymi lub bardzo dużymi, o stożkowatym lub sercowatym kształcie, pomarańczowoczerwonej lub intensywnie czerwonej barwie skórki z silnym połyskiem oraz wysokiej jędrności. Owoce o takich cechach są szczególnie pożądane przez konsumentów, dlatego też wysoka wizualna jakość owoców jest jednym z głównych kierunków prac hodowlanych prowadzonych na całym świecie (Roudeillac i Trajkovski, 2004), również w Instytucie Ogrodnictwa.

Tabela 1

Table 1

Plon i wizualna jakość owoców 90 genotypów truskawki (Skierniewice, 2019)
Fruit yield and external fruit quality of 90 strawberry genotypes (Skierniewice, 2019)

Genotyp Genotype	Rodowód Parentage	Plon owoców Fruit yield (g)	Masa 1 owocu Weight of 1 fruit (g)	Atrakcyjność owoców ¹ Fruit attractiveness ¹	Jędrność owoców ¹ Fruit firmness ¹
T-201501-01	Alba × Grandarosa	1414	10,63	4,4	4,3
T-201501-02	Alba × Grandarosa	819	9,53	3,7	4,8
T-201501-03	Alba × Grandarosa	1494	8,81	4,2	5,0
T-201506-01	Alice × Pink Rosa	2094	11,44	3,6	4,3
T-201506-02	Alice × Pink Rosa	2334	10,14	3,5	4,5
T-201508-01	Alice × Matis	827	6,70	3,0	3,8
T-201508-02	Alice × Matis	832	7,46	2,8	4,8
T-201508-03	Alice × Matis	530	8,25	2,8	4,7
T-201508-04	Alice × Matis	1608	10,51	4,0	4,1
T-201510-01	Asia × Matis	771	7,02	3,9	4,9
T-201510-02	Asia × Matis	2737	11,49	3,9	4,9
T-201510-03	Asia × Matis	1860	8,01	4,3	4,4
T-201510-04	Asia × Matis	2744	8,18	4,1	4,8
T-201511-01	Asia × Panvik	2802	10,96	4,6	4,8
T-201512-01	Camarosa × Panvik	617	7,90	3,6	4,3
T-201512-02	Camarosa × Panvik	1934	9,06	4,1	4,6
T-201512-03	Camarosa × Panvik	1934	10,61	3,5	4,8
T-201512-04	Camarosa × Panvik	1057	8,20	3,7	4,8
T-201512-05	Camarosa × Panvik	333	8,74	4,5	4,8
T-201512-06	Camarosa × Panvik	1016	8,23	4,0	5,0
T-201513-01	Candiss × Matis	626	8,89	4,0	4,1
T-201513-02	Candiss × Matis	680	6,09	4,0	4,7
T-201513-03	Candiss × Matis	373	6,80	3,9	4,5
T-201513-04	Candiss × Matis	1060	7,59	3,9	4,8
T-201513-05	Candiss × Matis	1067	9,92	3,7	4,3
T-201513-06	Candiss × Matis	1145	9,89	4,0	4,4
T-201514-01	Candiss × Panvik	2000	10,74	4,2	4,6
T-201514-02	Candiss × Panvik	1987	9,27	3,3	4,3
T-201514-03	Candiss × Panvik	1569	7,00	4,1	4,4
T-201514-04	Candiss × Panvik	1784	11,62	4,3	4,7
T-201514-05	Candiss × Panvik	628	11,80	4,5	4,6
T-201514-06	Candiss × Panvik	692	9,73	4,3	4,8
T-201514-07	Candiss × Panvik	472	8,73	4,0	4,8
T-201514-08	Candiss × Panvik	536	7,70	3,6	4,1
T-201514-09	Candiss × Panvik	561	10,95	3,8	4,5
T-201517-01	Chandler × Matis	734	10,65	3,9	4,5
T-201517-02	Chandler × Matis	672	8,71	4,1	4,6
T-201517-03	Chandler × Matis	1251	10,32	4,4	4,6
T-201517-05	Chandler × Matis	1282	5,39	3,3	4,8
T-201524-01	Cifrance × Matis	1333	8,05	4,1	4,7

Objaśnienie: ¹Ocena według skali bonitacyjnej 1-5, gdzie 1 oznacza najniższą wartość, zaś 5 – najwyższą wartość badanej cechy.

Explanation: ¹Assessment according to the rating scale 1-5, where 1 is the lowest value and 5 - the highest value of the examined trait

Tabela 1 cd.

Table 1 cd.

Plon i wizualna jakość owoców 90 genotypów truskawki (Skierniewice, 2019)
Fruit yield and external fruit quality of 90 strawberry genotypes (Skierniewice, 2019)

Genotyp Genotype	Rodowód Parentage	Plon owoców Fruit yield (g)	Masa 1 owocu Weight of 1 fruit (g)	Atrakcyjność owoców ¹ Fruit attractiveness ¹	Jędrność owoców ¹ Fruit firmness ¹
T-201524-02	Cifrance × Matis	916	9,59	4,0	4,6
T-201525-01	Cifrance × Panvik	821	17,97	3,3	4,5
T-201526-01	Cigaline × Grandarosa	2294	8,10	4,1	4,9
T-201526-02	Cigaline × Grandarosa	2618	10,97	3,7	4,7
T-201526-03	Cigaline × Grandarosa	1010	7,59	3,6	4,6
T-201526-04	Cigaline × Grandarosa	1374	8,07	3,9	4,6
T-201526-05	Cigaline × Grandarosa	2143	7,70	4,0	4,5
T-201526-06	Cigaline × Grandarosa	840	9,96	4,5	4,7
T-201529-01	Cigaline × Matis	476	10,08	4,0	4,0
T-201536-01	Clery × Grandarosa	1103	9,08	4,2	4,8
T-201536-02	Clery × Grandarosa	1033	9,03	4,5	4,9
T-201536-03	Clery × Grandarosa	1208	7,13	4,3	4,8
T-201536-04	Clery × Grandarosa	671	10,81	4,6	4,6
T-201536-05	Clery × Grandarosa	997	9,44	4,3	4,7
T-201536-06	Clery × Grandarosa	2791	10,44	4,4	4,7
T-201536-07	Clery × Grandarosa	218	20,96	4,5	4,9
T-201536-08	Clery × Grandarosa	362	11,37	4,5	4,5
T-201536-09	Clery × Grandarosa	633	9,22	4,0	4,9
T-201536-10	Clery × Grandarosa	489	11,76	4,0	5,0
T-201536-14	Clery × Grandarosa	187	6,74	3,8	4,8
T-201536-15	Clery × Grandarosa	202	7,35	3,8	4,5
T-201536-16	Clery × Grandarosa	744	16,12	4,9	4,6
T-201536-17	Clery × Grandarosa	241	14,92	3,8	4,0
T-201537-01	Clery × Matis	226	10,23	3,5	4,2
T-201537-02	Clery × Matis	1031	9,16	4,0	4,3
T-201539-01	Darselect × Grandarosa	920	6,27	3,3	3,5
T-201555-01	Marmolada × Grandarosa	1170	8,18	3,0	4,3
T-201555-02	Marmolada × Grandarosa	996	8,79	3,3	5,0
T-201555-04	Marmolada × Grandarosa	952	7,83	4,3	4,4
T-201555-06	Marmolada × Grandarosa	1241	7,43	3,8	4,8
T-201555-07	Marmolada × Grandarosa	104	11,00	4,0	4,8
T-201555-08	Marmolada × Grandarosa	833	7,92	3,6	4,9
T-201555-09	Marmolada × Grandarosa	675	10,33	3,7	4,7
T-201560-01	Onda × Panvik	629	6,29	3,8	4,5
T-201560-02	Onda × Panvik	397	5,79	4,0	5,0
T-201560-04	Onda × Panvik	519	7,37	3,8	4,3
T-201560-05	Onda × Panvik	244	5,71	3,3	4,7
T-201560-07	Onda × Panvik	1563	11,44	4,2	4,8
T-201560-08	Onda × Panvik	1167	11,61	3,8	4,9
T-201567-01	Patty × Panvik	876	6,86	3,9	4,9

Objaśnienie: ¹Ocena według skali bonitacyjnej 1-5, gdzie 1 oznacza najniższą wartość, zaś 5 – najwyższą wartość badanej cechy.

Explanation: ¹Assessment according to the rating scale 1-5, where 1 is the lowest value and 5 - the highest value of the examined trait

Plon i wizualna jakość owoców 90 genotypów truskawki (Skierniewice, 2019)
Fruit yield and external fruit quality of 90 strawberry genotypes (Skierniewice, 2019)

Genotyp Genotype	Rodowód Parentage	Plon owoców Fruit yield (g)	Masa 1 owocu Weight of 1 fruit (g)	Atrakcyjność owoców ¹ Fruit attractiveness ¹	Jędrność owoców ¹ Fruit firmness ¹
T-201567-02	Patty × Panvik	307	11,80	3,9	4,6
T-201567-03	Patty × Panvik	1070	8,27	4,1	4,8
T-201567-04	Patty × Panvik	1173	7,98	4,1	4,3
T-201571-01	Sophie × Pink Rosa	509	8,70	4,0	4,5
T-201571-02	Sophie × Pink Rosa	210	4,62	3,3	4,3
T-201571-03	Sophie × Pink Rosa	725	8,78	3,4	4,6
T-201580-01	<i>F. chil.</i> Del Norte × Elsanta	1046	3,56	3,2	4,3
T-201580-02	<i>F. chil.</i> Del Norte × Elsanta	649	3,61	2,8	4,3
T-201585-01	<i>F. chil.</i> Yaquina A × Matis	335	4,53	3,7	4,5
T-201590-01	<i>F. chil.</i> Yaquina B × Panvik	1408	4,49	2,7	4,3
Średnia dla wszystkich genotypów Average for all genotypes		1051	9,05	3,87	4,58

Objaśnienie: ¹Ocena według skali bonitacyjnej 1-5, gdzie 1 oznacza najniższą wartość, zaś 5 – najwyższą wartość badanej cechy.

Explanation: ¹Assessment according to the rating scale 1-5, where 1 is the lowest value and 5 - the highest value of the examined trait

Zawartość ekstraktu refraktometrycznego (substancji rozpuszczalnych) w owocach 90 badanych genotypów wahała się od 5,3% do 12,7% (Tab. 2). Najwyższą zawartość ekstraktu (powyżej 11%) wykazano w owocach klonów: T-201508-03 ('Alice' × 'Matis'), T-201517-05 ('Chandler' × 'Matis'), T-201536-09 i T-201536-16 ('Clery' × 'Grandarosa'), T-201567-01 i T-201567-04 ('Patty' × 'Panvik') oraz T-201580-01 (*F. chiloensis* Del Norte × 'Elsanta'). Należy podkreślić, że owoce tych klonów w naszych badaniach zawierają więcej cukrów rozpuszczalnych w porównaniu z ocenianymi przez Hasinga i współautorów (2013) owocami mieszańców, otrzymanych w wyniku czynnika układu krzyżowań (5 × 4), w których stwierdzono zawartość ekstraktu na poziomie 5,1% do 9,9% oraz 6,5% do 10,6%, zależnie od sezonu. Podobnie Voća i in. (2008), badając skład chemiczny owoców siedmiu odmian truskawki ('Clery', 'Maya', 'Alba', 'Miss', 'Camarosa', 'Queen Elisa' i 'Elsanta'), wykazali zawartość substancji rozpuszczalnych na poziomie od 6% dla odmiany 'Maya' do 10,1% dla odmiany 'Elsanta'. Poziom cukrów rozpuszczalnych w owocach truskawki, przede wszystkim sacharozy, glukozy i fruktozy, jest ważną cechą jakościową, decydującą o ich smaku (Cordenunsi i in., 2002; Perkins-Veazie, 1995).

Zawartość kwasu askorbinowego w owocach badanych klonów wahała się od 24 do 106 mg/100 g. Tak duże zróżnicowanie tej cechy jest typowe pomiędzy odmianami uprawnymi truskawki (da Silva-Pinto i in., 2008; van De Velde i in., 2013). Jednak

z punktu widzenia zdrowia ludzkiego najcenniejsze są owoce o wysokiej zawartości kwasu askorbinowego (Cruz-Rus i in., 2011). W naszych badaniach najwyższym poziomem kwasu askorbinowego w owocach (powyżej 90 mg/100 g) odznaczały się klony: T-201501-03 ('Alba' × 'Grandarosa'), T-201526-02 i T-201526-05 ('Cigaline' × 'Grandarosa'), T-201536-08 i T-201536-15 ('Clery' × 'Grandarosa'), T-201537-02 ('Clery' × 'Matis'), T-201539-01 ('Darselect' × 'Grandarosa'), T-201555-02, T-201555-08 i T-201555-09 ('Marmolada' × 'Grandarosa') oraz T-201567-01 i T-201567-03 ('Patty' × 'Panvik'). Zawartość tego składnika w owocach wymienionych klonów jest zatem znacznie wyższa od przeciętnej, wynoszącej około 60 mg/100 g świeżych owoców (Miller i in., 2019). Według Cruz-Rus i współautorów (2011), jeszcze niższą zawartością kwasu askorbinowego (50 mg/100 g) charakteryzują się owoce odmiany 'Camarosa', będącej formą mateczną sześciu, spośród 90 genotypów opisywanych w niniejszej pracy.

Zawartość antocyjanów w owocach wszystkich badanych klonów wahała się od 8 do 70 mg/100 g. Należy podkreślić, że bardzo wysoka zawartość antocyjanów w spożywanych owocach jest pożądana z uwagi na silne właściwości przeciwutleniające tych związków. W naszych badaniach zawartość antocyjanów przekraczająca 50 mg/100 g owoców, stwierdzona została w owocach klonów T-201508-01 ('Alice' × 'Matis'), T-201512-03 ('Camarosa' × 'Panvik'), T-201514-02 i T-201514-08 ('Candiss' × 'Panvik'), T-201517-05 ('Chandler' × 'Matis'),

T-201567-04 ('Patty' × 'Panvik') oraz T-201580-01 (*Fragaria chiloensis* Del Norte × 'Elsanta'). Świadczy to o wysokiej wartości prozdrowotnej owoców wymienionych klonów. Według Voća i współautorów (2008), najmniej antocyjanów (spośród siedmiu badanych przez nich odmian truskawki) zawierały owoce odmiany 'Elsanta' (114,76 mg/kg), podczas gdy najwyższą zawartością tych związków odznaczała się odmiana 'Camarosa' (327,39 mg/kg), będąca formą mateczną jednego z wymienionych wyżej mieszańców. Na bardzo wysoką zawartość antocyjanów w owocach odmiany 'Camarosa' (840,2 mg/kg), zwrócili również uwagę Garcia-Viguera i współautorzy (1998).

Zawartość związków fenolowych w owocach badanych genotypów wynosiła od 257 do 478 mg/100 g świeżych owoców. Najwyższym poziomem związków fenolowych w owocach (powyżej 430 mg/100 g) wyróżniały się genotypy: T-201501-02 i T-201501-03 ('Alba' × 'Grandarosa'), T-201512-04 i T-201512-05 ('Camarosa' × 'Panvik'), T-201567-01, T-201567-02 i T-201567-04 ('Patty' × 'Panvik') oraz T-201585-01 (*Fragaria chiloensis* Yaquina A × 'Matis'). Tak wysokiego poziomu związków fenolowych wymaga się zwłaszcza od owoców, przeznaczonych na rynek owoców deserowych, ze względu na ich wysoką wartość prozdrowotną. Jednakże, mimo ogromnego znaczenia polifenoli dla diety człowieka, nadmierny poziom tych związków może powodować lekko cierpki smak truskawek i przez to obniżać ich wartość sensoryczną. Z kolei dla owoców przeznaczonych do przetworstwa, wysoki poziom związków fenolowych może wiązać się z szeregiem problemów technologicznych, a więc najlepsze do tego celu są owoce o średniej zawartości tych związków, która w przypadku badanych klonów wynosiła 360 mg/100 g świeżych owoców. W badaniach, przeprowadzonych przez Palmieri i in. (2017), zawartość fenoli w dojrzałych

truskawkach także była zależna od odmiany i wynosiła od 33,2 mg/100 g świeżych owoców dla odmiany 'Marmolada' do 127,3 mg/100 g dla odmiany 'Eva', a więc znacznie mniej w porównaniu z klonami wyhodowanymi w Instytucie Ogrodnictwa.

Biorąc pod uwagę kompleks analizowanych składników bioaktywnych, za szczególnie cenne klony uznano T-201510-02 ('Asia' × 'Matis'), T-201514-02 i T-201514-08 ('Candiss' × 'Panvik'), T-201517-05 ('Chandler' × 'Matis'), T-201526-01 i T-201526-04 ('Cigaline' × 'Grandarosa'), T-201567-03 i T-201567-04 ('Patty' × 'Panvik') oraz T-201571-02 ('Sophie' × 'Pink Rosa'), ze względu na wysoką zawartość w owocach związków fenolowych ogółem, antocyjanów, a także kwasu askorbinowego. Ponadto, z uwagi na fakt, że związki fenolowe oddziałują synergistycznie na organizm człowieka wraz z kwasem L-askorbinowym (Kazimierzczak i in., 2009), do wartościowych genotypów zaliczono także klony T-201501-02 i T-201501-03 ('Alba' × 'Grandarosa'), T-201526-05 i T-201526-06 ('Cigaline' × 'Grandarosa'), T-201536-04, T-201536-05, T-201536-06, T-201536-14, T-201536-15 i T-201536-16 ('Clery' × 'Grandarosa') oraz T-201571-02 ('Sophie' × 'Pink Rosa'), posiadające owoce o wysokiej zawartości obu tych składników. Należy także podkreślić, że cztery z wymienionych klonów (T-201501-03, T-201526-06, T-201536-05, T-201536-06) odznaczały się również wysoką jakością zewnętrzną owoców. Można zatem oczekiwać, że owoce tych klonów będą szczególnie cenione przez konsumentów ze względu na ich wysokie walory jakościowe i prozdrowotne. Klony te mogą w przyszłości dać początek nowym, cennym odmianom, jeżeli potwierdzą swoje inne walory produkcyjne, w tym odporność lub małą wrażliwość roślin na stresy biotyczne i abiotyczne.

Tabela 2
Table 2

Skład chemiczny owoców 90 genotypów truskawki (Skierniewice, 2019)

Chemical composition of fruit of 90 strawberry genotypes (Skierniewice, 2019)

Genotyp Genotype	Ekstrakt Extract [%]	Zawartość związków fenolowych Content of phenolic compounds [mg /100 g]	Zawartość antocyjanów Content of anthocyanins [mg/100 g]	Zawartość kwasu L-askorbinowego Content of L-ascorbic acid [mg/100 g]
T-201501-01	9,0	306	20	73
T-201501-02	9,3	478	20	89
T-201501-03	8,8	434	18	103
T-201506-01	7,9	265	42	52
T-201506-02	7,2	369	48	26
T-201508-01	9,0	322	54	39
T-201508-02	8,6	337	48	32

Skład chemiczny owoców 90 genotypów truskawki (Skierniewice, 2019)

Chemical composition of fruit of 90 strawberry genotypes (Skierniewice, 2019)

Genotyp Genotype	Ekstrakt Extract [%]	Zawartość związków fenolowych Content of phenolic compounds [mg /100 g]	Zawartość antocyjanów Content of anthocyanins [mg/100 g]	Zawartość kwasu L-askorbinowego Content of L-ascorbic acid [mg/100 g]
T-201508-03	11,1	366	34	61
T-201508-04	8,9	291	39	60
T-201510-01	8,8	303	26	74
T-201510-02	8,7	372	50	71
T-201510-03	9,3	360	37	66
T-201510-04	7,2	298	31	41
T-201511-01	9,3	325	20	69
T-201512-01	9,0	383	35	44
T-201512-02	9,0	362	33	50
T-201512-03	7,5	391	55	58
T-201512-04	9,9	452	36	52
T-201512-05	10,2	433	46	45
T-201512-06	10,0	388	43	56
T-201513-01	9,8	348	24	39
T-201513-02	10,1	421	50	59
T-201513-03	9,6	358	38	54
T-201513-04	9,1	390	26	53
T-201513-05	8,6	392	41	46
T-201513-06	9,6	422	40	59
T-201514-01	8,0	304	27	61
T-201514-02	9,3	394	65	75
T-201514-03	9,1	322	33	71
T-201514-04	9,1	367	34	52
T-201514-05	11,0	356	41	75
T-201514-06	10,0	301	36	67
T-201514-07	9,2	321	23	61
T-201514-08	10,5	403	70	70
T-201514-09	10,1	397	40	65
T-201517-01	8,0	381	36	54
T-201517-02	8,6	328	32	55
T-201517-03	9,4	359	44	59
T-201517-05	11,2	390	54	81
T-201524-01	5,3	318	21	25
T-201524-02	10,5	344	37	84
T-201525-01	9,6	326	34	61
T-201526-01	7,8	407	33	83
T-201526-02	9,0	351	26	98
T-201526-03	10,0	319	23	83
T-201526-04	9,7	392	34	88
T-201526-05	9,9	422	28	106
T-201526-06	9,1	377	25	80
T-201529-01	9,3	344	24	88
T-201536-01	9,4	306	31	85
T-201536-02	9,4	347	20	87
T-201536-03	9,1	313	25	75
T-201536-04	8,6	385	21	73
T-201536-05	10,5	368	19	78
T-201536-06	9,4	385	23	74
T-201536-07	8,3	320	39	65
T-201536-08	8,8	340	22	98
T-201536-09	11,6	280	12	86
T-201536-10	10,5	325	20	76
T-201536-14	10,2	427	24	60

Tabela 2 cd.

Table 2 cd.

Skład chemiczny owoców 90 genotypów truskawki (Skierniewice, 2019)

Chemical composition of fruit of 90 strawberry genotypes (Skierniewice, 2019)

Genotyp Genotype	Ekstrakt Extract [%]	Zawartość związków fenolowych Content of phenolic compounds [mg/100 g]	Zawartość antocyjanów Content of anthocyanins [mg/100 g]	Zawartość kwasu L-askorbinowego Content of L-ascorbic acid [mg/100 g]
T-201536-15	11,0	373	30	102
T-201536-16	11,8	418	22	83
T-201536-17	7,0	341	27	33
T-201537-01	6,0	295	22	24
T-201537-02	10,9	354	27	98
T-201539-01	10,3	354	27	91
T-201555-01	10,0	258	35	73
T-201555-02	9,7	257	32	98
T-201555-04	9,5	318	27	57
T-201555-06	9,0	367	24	54
T-201555-07	6,6	333	25	27
T-201555-08	8,5	335	25	94
T-201555-09	8,1	340	16	97
T-201560-01	6,3	309	9	47
T-201560-02	8,2	367	29	46
T-201560-04	10,1	366	27	73
T-201560-05	7,1	281	35	46
T-201560-07	9,5	327	18	49
T-201560-08	8,7	345	27	62
T-201567-01	11,2	454	8	102
T-201567-02	10,7	442	33	64
T-201567-03	10,1	386	34	98
T-201567-04	12,7	442	52	80
T-201571-01	8,2	419	24	76
T-201571-02	11,0	419	33	74
T-201571-03	10,0	332	28	65
T-201580-01	11,1	367	54	57
T-201580-02	10,0	314	43	59
T-201585-01	8,8	435	34	44
T-201590-01	10,9	416	18	45
Średnia dla wszystkich genotypów Average for all genotypes	9,31	359,5	31,9	66,5

Wnioski

- Możliwe jest poprawienie zewnętrznej jakości owoców truskawki oraz zwiększenie w nich zawartości składników bioaktywnych metodą hodowli konwencjonalnej opartej na hybrydyzacji wewnątrz- i międzygatunkowej w obrębie rodzaju *Fragaria*.
- Szczególne cenne dla diety człowieka są owoce klonów T-201510-02 ('Asia' × 'Matis'), T-201514-02 i T-201514-08 ('Candiss' × 'Panvik'), T-201517-05 ('Chandler' × 'Matis'), T-201526-01 i T-201526-04 ('Cigaline' × 'Grandarosa'), T-201567-03 i T-201567-04 ('Patty' × 'Panvik') oraz T-201571-02 ('Sophie' × 'Pink Rosa'),
- ze względu na wysoką zawartość takich związków bioaktywnych, jak związki polifenolowe, antocyjany, a także kwas askorbinowy.
- Genotypy o wysokiej jakości zewnętrznej i wewnętrznej owoców mogą stać się w przyszłości cennymi odmianami uprawnymi lub być wykorzystane w dalszych pracach hodowlanych jako źródło genów warunkujących te cechy.

Badania finansowano ze środków projektu MRiRW: Badania podstawowe na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej, decyzja HOR. hn.802.4.2019 z dnia 14.05.2019 r., Zadanie nr 76.

Literatura

- Battino, M., Beekwilder, J., Denoyes–Rothan, B., Laimer, M., McDougall, G.J., Mezzetti, B. (2009). Bioactive compounds in berries relevant to human health. *Nutrition Reviews* 67 (1): 145–150.
- Battino, M., Forbez–Hernandez, T. Y., Gasparrini, M., Afrin, S., Mezzetti, B., Giampieri, F. (2017). The effects of strawberry bioactive compounds on human health. *Acta Hort. (ISHS)* (1156): 355–362. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2017.1156.54>
- Białasiewicz, P., Prymont–Przymińska, A., Zwolińska, A., Sarniak, A., Włodarczyk, A., Krol, M., Glusac, J., Nowak, P., Markowski, J., Rutkowski K.P., Nowak, D. (2014). Addition of strawberries to the usual diet decreases resting chemiluminescence of fasting blood in healthy subjects—possible health-promoting effect of these fruits consumption. *Journal of the American College of Nutrition* 33 (4): 274–87.
- Capocasa, F., Diamanti, J., Tulipani, S., Battino, M., Mezzetti, B. (2008) a. Breeding strawberry (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) to increase fruit nutritional quality. *Biofactors* 34 (1): 67–72.
- Capocasa, F., Scalzo, J., Mezzetti, B., Battino, M., 2008 b. Combining quality and antioxidant attributes in the strawberry: The role of genotype. *Food Chemistry* 111: 872–878.
- Cordenunsi, B. R., Oliveira Do Nascimento, J. R., Genovese, M. I., Lajolo, F. M. (2002). Influence of cultivar on quality parameters and chemical composition of strawberry fruits grown in Brazil. *J. Agric. Food Chem.* 50: 2581–2586.
- Cruz–Rus, E., Amaya, I., Sanchez–Sevilla, J. F., Botella, M. A., Valpuesta, V., 2011. Regulation of L–ascorbic acid content in strawberry fruits. *J. Exp. Bot.* 62 (12): 4191–4201.
- Da Silva–Pinto, M., Lajolo, F. M., Genovese, M. I. (2008). Bioactive compounds and quantification of total ellagic acid in strawberries (*Fragaria* × *ananassa* Duch.). *Food Chemistry* 107: 1629–1635.
- Diamanti, J., Capocasa, F., Balducci, F., Battino, M., Hancock, J., Mezzetti, B. (2012). Increasing strawberry fruit sensorial and nutritional quality using wild and cultivated germplasm. *PLoS ONE* 7 (10): e46470. DOI: 10.1371/journal.pone.0046470
- EUBerry germplasm database (2014). http://www.euberry.univpm.it/sites/www.euberry.univpm.it/files/euberry/documenti/D1.1%20Data%20base/Revisione/Summary–Genotype%20characteristics%20–%20WP1%207_2_14%20last%20versionStrawberry.pdf
- García–Viguera, C., Zafrilla, P., Tomás–Barberán, F. A. (1998). The use of acetone as an extactionsolvent for anthocyanins from strawberry fruit. *Phytochem. Anal.* 9: 274–277.
- Giampieri, F., Tulipani, S., Alvarez–Suarez, J. M., Quiles, J. L., Mezzetti, B., Battino, M., 2012. The strawberry: Composition, nutritional quality and impact on human health. *Nutrition* 28: 9–19.
- Giusti, M. M., Wrolstad, R. E. (2001). Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. In: *Current Protocols in Food Analytical Chemistry* (John Wiley & Sons, Inc., August 2001): F1.2.1–F1.2.13. DOI: 10.1002/0471142913.faf0102s00
- Hasing, T. N., Osorio, L. F., Whitaker, V. M. (2013). Within-season stability of strawberry soluble solids content. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 138 (3): 190–197.
- Kazimierczak, R., Hallmann, E., Brodzka, A., Rembiałkowska, E. (2009). A comparison of the polyphenol and vitamin C content in jams of several varieties of black currants *Ribes nigrum* L. from the organic and conventional cultivation. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering* 54 (3): 123–130.
- Marques, K. K., Renfro, M. H., Bowling, B. Brevard, P., Lee, R. E., Gloeckner, J. W. (2010). Differences in antioxidant levels of fresh, frozen and freeze–dried strawberries and strawberry jam. *International Journal of Food Science and Nutrition* 61 (8): 759–769.
- Masny, A., Żurawicz, E. (2015). ‘Pink Rosa’ Strawberry. *HortScience* 50 (10): 1585–1587.
- Masny, A., Żurawicz, E., Markowski, J. (2015). ‘Grandarosa’ Strawberry. *HortScience* 50 (9): 1401–1404.
- Michalska, A., Carlen, C., Heritier, J., Andlauer, W. (2017). Profiles of bioactive compounds in fruits and leaves of strawberry cultivars. *Journal of Berry Research* 7 (2): 71–84.
- Miller, K., Feucht, W., Schmid, M. (2019). Bioactive compounds of strawberry and blueberry and their potential health effects based on human intervention studies: a brief overview. *Nutrients*, 11, 1510. DOI: 10.3390/nu11071510
- Mirończuk–Chodakowska, I., Zujko, M. E., Witkowska, A. (2011). Zawartość polifenoli oraz aktywność antyoksydacyjna niektórych przetworów owocowych o znacznym stopniu przetworzenia. *Bromat. Chem. Toksykol.* XLIV (3): 905–910.
- Palmieri, L., Masuero, D., Martinatti, P., Baratto, G., Martens, S., Vrhovsek, U. (2017). Genotype–by–environment effect on bioactive compounds in strawberry (*Fragaria* × *ananassa* Duch.). *J. Sci. Food Agric.* 97: 4180–4189. DOI: 10.1002/jsfa.8290
- Perkins–Veazie, P. (1995). Growth and ripening of strawberry fruit. *Hort. Rev.* 17: 267–297.
- Prymont–Przymińska, A., Białasiewicz, P., Zwolińska, A., Sarniak, A., Włodarczyk, A., Markowski, J., Rutkowski, K. P., Nowak, D. (2016). Addition of strawberries to the usual diet increases postprandial but not fasting non urate plasma antioxidant activity in healthy subjects. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 59 (2): 1–8.
- Roudeillac, P., Trajkovski, K. (2004). Breeding for fruit quality and nutrition in strawberries. *Acta Horticulturae* 649: 55–60.

- Tsao, R., Yang, R. (2003) Optimization of a new mobile phase to know the complex and real polyphenolic composition: towards a total phenolic index using high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr. A.*, 1018 (1): 29–40. DOI: 10.1016/j.chroma.2003.08.034
- Van De Velde, F., Tarola, A. M., Guemes, D., Pirovani, M. E. (2013). Bioactive compounds and antioxidant capacity of Camarosa and Selva strawberries (*Fragaria* × *ananas-sa* Duch.). *Foods*, 2 (2): 120–131.
- Voća, S., Dobričević, N., Dragović-Uzelac, V., Duralija, B., Družić, J., Čmelik, Z., Skendrović Babojelić, M. (2008). Fruit quality of new early ripening strawberry cultivars in Croatia. *Food Technol. Biotechnol.* 46 (3): 292–298.
- Wang, S. Y., Lewers, K. S., 2007. Antioxidant capacity and flavonoid content in wild strawberries. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 132 (5): 629–637.
- Zasowska-Nowak, A., Nowak, P. J., Bialasiewicz, P., Prymont-Przyminska, A., Zwolinska, A., Sarniak, A., Włodarczyk, A., Markowski, J., Rutkowski, K. P., Nowak, D. (2016). Strawberries added to the usual diet suppress fasting plasma paraoxonase activity and have a weak transient decreasing effect on cholesterol levels in healthy non obese subjects. *Journal of the American College of Nutrition*, 35 (5): 422–35.