

AGNIESZKA MASNY
DANUTA KUCHARSKA
MONIKA MIESZCZAKOWSKA-FRĄC
ANITA KURAS
EDWARD ŻURAWICZ

Instytut Ogrodnictwa, ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice

Kierownik Tematu: dr inż. Agnieszka Masny Zakład Hodowli Roślin Ogrodniczych, Pracownia Genetyki i Hodowli Roślin Sadowniczych, Instytut Ogrodnictwa, ul. Pomologiczna 18, 96-100 Skierniewice, tel. 46 8345273; 501622880, e-mail: agnieszka.masny@inhort.pl

Prace zostały wykonane w ramach badań podstawowych na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej na podstawie decyzji Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi nr HOR.hn.802.20.2018, Zadanie 75.

Badania nad możliwością poszerzenia zmienności genetycznej maliny właściwej (*Rubus idaeus*) pod względem pory dojrzewania i jakości owoców

The research on the possibility of extending the genetic variability of red raspberry (*Rubus idaeus*) in terms of different ripening time and fruit quality

Słowa kluczowe: hodowla maliny, odmiany maliny, siewki maliny

CELE TEMATÓW BADAWCZYCH I PROWADZONYCH BADAŃ

W zasobach genetycznych Instytutu Ogrodnictwa znajduje się wiele genotypów maliny właściwej (*Rubus idaeus*) różniących się wieloma cechami biologicznymi. Celem prowadzonych badań jest weryfikacja hipotezy zakładającej, że metodą hodowli konwencjonalnej możliwe jest poszerzenie istniejącej zmienności genetycznej w obrębie gatunku *Rubus idaeus* pod względem wielu cech fenotypowych, poprzez wykorzystanie potencjału genetycznego dziesięciu odmian maliny właściwej (form rodzicielskich), pochodzących z różnych regionów geograficznych świata.

W ramach Zadania 75 w roku 2018 realizowano 4 tematy szczegółowe, których celem była:

- ocena fenotypowa wybranych cech maliny właściwej: plonowanie, jakość owoców, siła wzrostu, pokrój, kolczastość pędów. Badania prowadzono w oparciu o populację siewek 55 rodzin mieszańców (otrzymanych ze skrzyżowania w układzie diallelicznym, II metoda Griffinga) oraz 10 form rodzicielskich maliny: ‘Canby’,

‘Glen Ample’, ‘Laszka’, ‘Polana’, ‘Polka’, ‘Radziejowa’, ‘Schönemann’, ‘Sokolica’, ‘Veten’, ‘Willamette’.

- optymalizacja warunków rozmnażania *in vitro* i rozmnożenie *in vitro* pojedynczych maliny właściwej, wyselekcjonowanych w latach 2016–2017, dla założenia kolekcji klonów.
- wykonanie analiz chemicznych owoców 40 wyselekcjonowanych genotypów dla uzyskania informacji, czy możliwa jest poprawa jakości wewnętrznej owoców maliny właściwej, w oparciu o użyte w badaniach odmiany rodzicielskie.
- wykonanie analiz molekularnych 10 klonów w celu weryfikacji statusu mieszańca z planowanego zapylenia genotypów maliny właściwej i opracowanie dla nich profili genetycznych („DNA-fingerprinting”).

OPIS WYNIKÓW

Wykazano, że oceniane siewki maliny, bardzo różnią się pod względem ocenianych cech fenotypowych. Siewki ocenianej populacji mieszańców w różnym stopniu łączą cechy fenotypowe form rodzicielskich, tworząc genotypy o cechach, których nie posiadały formy rodzicielskie. Uzyskane wyniki oceny fenotypowej wskazują na możliwe połączenie w jednym genotypie zdolności do wytwarzania wysokiej jakości owoców (jakość zewnętrzna i wewnętrzna), letnio-jesiennego owocowania, bezkolcowości pędów, małej podatności na choroby i szkodniki oraz wysokiego stopnia samopłodności (Żurawicz i in., 2018). Jednakże dalsza ocena powinna być wykonana na co najmniej kilku roślinach uzyskanych z rozmnożenia pojedynczych, wówczas możliwe będzie zebranie reprezentatywnych prób owoców dla wykonania analiz chemicznych.

Zainicjowano kultury *in vitro* 10 najwartościowszych pojedynczych. Stwierdzono różną zdolność użytych genotypów do rozmnażania *in vitro*. Wzrostu nie podjęło 0–85,7% pąków inicjalnych. Odsetek pąków pozostałych w kulturach do dalszego namnożenia zależał od genotypu i pory pobierania pąków. Najślabiej przebiegała izolacja w terminie od stycznia do marca. Wiele pąków inicjalnych zamierających w warunkach *in vitro* miało zawiązki kwiatostanów i objawy szklistości. Efektywniejsze były izolacje w miesiącach wiosennych maj-czerwiec. Widoczne były duże różnice w potencjale rozmnożeniowym genotypów tzw. ‘łatwych’, z których uzyskanie pędów do ukorzenia nie sprawiało trudności. Jednak dla większości genotypów uzyskanie pędów do ukorzenia wymagało 2–3 pasaży. Współczynnik namnażania wahał się od 1,6–4,4 pędów z jednego eksplantatu. Efektywność ukorzenia *in vitro* i aklimatyzacji *ex vitro* była również zależna od genotypu i wahała się od 52,3–100%, średnio wynosiła 88,2%.

Wykonano analizy chemiczne owoców, uzyskanych z 40 różnych genotypów maliny, w tym kilku odmian rodzicielskich. Badane genotypy były zróżnicowane pod względem zawartości badanych związków chemicznych w owocach. Zawartość polifenoli ogółem w badanych próbkach mieściła się w przedziale 250–505 mg/100 g, najwyższą zawartość polifenoli miały owoce odmiany ‘Laszka’. Zawartość antocyjanów w próbach owoców mieściła się w zakresie 21–57 mg/100 g. Dominującym kwasem organicznym w mali-

nach jest kwas cytrynowy, którego zawartość w owocach kształtowała się na poziomie 1307–2420 mg/100 g. Poziom kwasu askorbinowego w owocach badanych genotypów wynosił 19–50 mg/100 g. W wyniku skrzyżowania formy rodzicielskiej ‘Canby’ z odmianami ‘Radziejowa’ lub ‘Sokolica’ otrzymano klony o wyższej zawartości polifenoli ogółem i kwasu askorbinowego, ale niższej zawartości kwasu jabłkowego. Natomiast klon, uzyskany ze skrzyżowania odmian ‘Canby’ × ‘Polana’ wykazywał niższe wartości wszystkich badanych składników chemicznych w owocach, w porównaniu z odmianą rodzicielską ‘Canby’. Klony, pochodzące od odmiany ‘Glen Ample’, charakteryzowały się wyższą zawartością związków fenolowych w owocach oraz zdecydowanie wyższą zawartością antocyjanów w porównaniu do formy rodzicielskiej, co sugeruje, że odmiana ta może przyczynić się do poprawienia zawartości tych związków w owocach genotypów potomnych. Z kolei, klony wywodzące się od odmiany ‘Laszka’ wykazały niższą zawartość składników fenolowych w owocach, w tym antocyjanów i kwasu askorbinowego, w porównaniu do formy rodzicielskiej. Tak więc krzyżując odmianę ‘Polka’ z odmianami ‘Sokolica’, ‘Radziejowa’ lub ‘Veten’ można uzyskać klony o zdecydowanie wyższej zawartości polifenoli ogółem, chociaż o niższej zawartości antocyjanów.

Przeprowadzono 1326 reakcji amplifikacji, w których wygenerowano 180 amplikonów, w tym 169 polimorficznych o długości 120–520 pz. Każdy z testowanych genotypów został oceniony na podstawie 7–10 charakteryzujących go fragmentów DNA. Status mieszańca potwierdzono dla 9 z 10 testowanych genotypów. Określono udział amplikonów pochodzących od formy matecznej (22–100%). Oszacowano udział alleli pochodzących od formy ojcowskiej (25–78%). Najwyższy udział fragmentów DNA charakterystycznych dla formy matecznej obserwowano na matrycy DNA wydzielonych z genotypu ‘Polana’ × ‘Sokolica’, najniższy dla genotypu ‘Glen Ample’ × ‘Polana’. Dla wszystkich testowanych genotypów opracowano profil genetyczny „DNA-fingerprinting” metodą SSR z wytypowanymi 5 parami oligonukleotydów. Nie potwierdzono statusu mieszańca z planowanego zapylenia dla genotypu ‘Polana’ × ‘Sokolica’. W genotypach o potwierdzonej mieszańcowości najwyższy procentowy udział alleli pochodzących od formy matecznej obserwowano u genotypów roślin ‘Polana’ × ‘Schönemann’ i ‘Polka’ × ‘Sokolica’ odpowiednio 70 i 75%. Na matrycy wydzielonej z mieszańców: ‘Canby’ × ‘Radziejowa’, ‘Polka’ × ‘Veten’, ‘Polka’ × ‘Radziejowa’, ‘Polana’ × ‘Polka’, ‘Canby’ × ‘Polana’ i ‘Laszka’ × ‘Polka’ zamplifikowano fragmenty DNA charakterystyczne dla formy matecznej (42–60%). Po analizie wzorów DNA uzyskanych dla mieszańców: ‘Polka’ × ‘Sokolica’, ‘Polana’ × ‘Schönemann’ i ‘Laszka’ × ‘Polka’ obserwowano najniższy udział fragmentów DNA charakteryzujący formę ojcowską, który wynosił 25, 30 i 40%. Najwyższy udział amplikonów DNA charakterystycznych dla formy ojcowskiej 78%, oszacowano dla mieszańca ‘Glen Ample’ × ‘Polana’.

WNIOSKI

1. Uzyskano populację siewek o bardzo zróżnicowanych cechach fenotypowych, poszerzających istniejącą zmienność genetyczną gatunku *Rubus idaeus*. Cennym elementem nowej zmienności jest połączenie w jednym genotypie tego gatunku owocowania w terminie letnio-jesiennym z tworzeniem pędów bez kolców oraz wysoką jakością owoców.
2. Inicjację kultur *in vitro* genotypów maliny można prowadzić z pąków zimowych, jak też wiosennych i letnich, a powodzenie inicjacji oraz dalszych etapów rozmnażania w kulturach *in vitro* zależy od genotypu maliny.
3. Owoce ocenianych genotypów maliny różnią się pod względem zawartości ekstraktu, polifenoli, antocyjanów, kwasu askorbinowego, kwasu jabłkowego i kwasu cytrynowego. Posiadają zarówno wyższą, jak i niższą zawartość związków chemicznych w porównaniu do odmian rodzicielskich.
4. Mieszance o potwierdzonym statusie stanowią 9 z 10 testowanych mieszańców F₁ maliny właściwej.

LITERATURA

- Żurawicz E., Studnicki M., Kubik J., Pruski K. 2018. A careful choice of compatible pollinizers significantly improves the size of fruits in red raspberry (*Rubus idaeus* L.). *Scientia Horticulturae* 235: 253 — 257.