

## ZADANIE 46

**Zastosowanie poliploidyzacji mitotycznej *in vitro* w indukowaniu zmienności genetycznej oraz możliwości poprawy wybranych cech użytkowych agrestu (*Ribes grossularia* L.) i czereśni (*Prunus avium* L.).**

**DOFINANSOWANIE - 160 000 zł/rok**

**CAŁKOWITA WARTOŚĆ INWESTYCJI - 1 120 000 zł na lata 2021-2027**

### CEL PROJEKTU

Celem badań jest opracowanie metody poliploidyzacji *in vitro* oraz uzyskanie tetraploidów (4x) agrestu (*Ribes grossularia* L.) i czereśni (*Prunus avium* L.) o nowych cechach takich jak: zwiększone parametry wielkości i jakości owoców, zawartości związków prozdrowotnych, a także odporności na amerykańskiego mączniaka agrestu (*Podosphaera mors-uvae* Schw) oraz raka bakteryjnego drzew owocowych (*Pseudomonas spp.*) w przypadku czereśni. Prowadzona będzie ocena otrzymanych poliploidów pod względem zmian fenotypowych i genetycznych w porównaniu do kontrolnych roślin wyjściowych. Nowo uzyskane tetraploidy agrestu mogą być następnie krzyżowane z diploidami w celu uzyskania triploidów (3x) lub z nowo uzyskanymi tetraploidami. W przypadku czereśni tetraploidalne formy będą wykorzystywane do hodowli wiśni ukierunkowanej na uzyskanie odmian wytwarzających wysokiej jakości owoce, o dobrych walorach smakowych oraz zróżnicowanej porze dojrzewania.

### REALIZOWANE ZADANIA

Zadania będą prowadzone równolegle nad dwoma gatunkami w ramach 11 tematów badawczych.

1. Sprawdzenie metodą RT-PCR roślin matecznych pod kątem obecności wirusów i fitoplazm; dla agrestu wirus otaśmienia nerwów agrestu (GVBV), dla czereśni wirusy: karłowatości śliwy (PDV) oraz nekrotycznej plamistości pierścieniowej wiśni (PNRSV).
2. Określenie poziomu ploidalności roślin donorowych metodą cytometrii przepływowej.
3. Zainicjowanie kultur *in vitro*, dobór optymalnej pożywki, stabilizacja i namnażanie kultur wytypowanych gatunków i odmian.
4. Optymalizacja metody indukowania poliploidów *in vitro* poprzez kultury pędów bocznych poddane działaniu 4 antymitotyków w dwóch stężeniach każdy.
5. Ocena poziomu ploidalności zregenerowanych roślin, metodą cytometrii przepływowej.
6. Rozmnożenie i ukorzenienie *in vitro* otrzymanych tetraploidów oraz roślin kontrolnych, aklimatyzacja do warunków szklarni oraz dalsza ich uprawa w warunkach szklarniowych i polowych.
7. Okulizacja tetraploidalnej czereśni na podkładce dla czereśni, Gisela 5, WSL-2, lub siewce czereśni ptasiej, aby jak najszybciej tetraploidy doprowadzić do kwitnienia.
8. Indywidualna ocena roślin tetraploidalnych w warunkach szklarniowych i polowych pod względem zmian fenotypowych.
9. Ocena zdrowotności otrzymanych poliploidów pod kątem odporności na amerykańskiego mączniaka agrestu, raka bakteryjnego drzew owocowych u czereśni na podstawie testów szalkowych, szklarniowych i polowych oraz analiz molekularnych.

10. Ocena przydatności poliploidów badanych gatunków do dalszej hodowli twórczej: kwitnienie, żywotność pyłku, zawiązywanie owoców, zdolność do krzyżowania.
11. Badania genomu tetraploidów na poziomie molekularnym zmienność epigenetyczna (zmiana stopnia metylacji DNA) czy genetyczna (mutacje DNA, delecje) analizowane będą przy użyciu metody MSAP.

## **GRUPY DOCELOWE**

Hodowla poliploidalna jako ważne źródło zmienności jest jedną z technik-metod do zastosowania w hodowli ważnych gospodarczo roślin sadowniczych. Otrzymane tetraploidy będą włączone do zasobów genowych i dostępne dla hodowców, jako źródło poszukiwanych kreacji, w pracach hodowlanych nad tworzeniem nowych odmian agrestu, czereśni i wiśni. Podjęcie badań w tym temacie ma również aspekt poznawczy rozszerzenia wiedzy z tego zakresu. Uzyskane wyniki badań w formie publikacji i doniesień naukowych będą skierowane do szerszego grremium odbiorców, jak instytucje naukowe i wyższe uczelnie.

## **EFEKTY WYNIKAJĄCE Z REALIZACJI PROJEKTU**

Wyniki planowanych badań pozwolą na opracowanie metody poliploidyzacji mitotycznej *in vitro* agrestu i czereśni oraz uzyskanie nowych tetraploidalnych genotypów badanych gatunków. Zakłada się optymalizację procesu mikrorozmnażania, ukorzeniania *in vitro* oraz aklimatyzacji tetraploidów. Badania pozwolą również na uzyskanie oraz pogłębienie wiedzy dotyczącej zmian fenotypowych oraz odporności nowo powstałych tetraploidów w porównaniu do diploidalnych form wyjściowych, a także ocenę możliwości występowania zjawiska przedwczesnego wchodzenia w stan spoczynku. Określony zostanie potencjał genetyczny tetraploidów, jako form rodzicielskich dla hodowli, poprzez ocenę kwitnienia, żywotności i kiełkowania pyłku oraz zawiązywania owoców. Planowane są badania genomu nowopowstałych autotetraploidów i sprawdzenie na poziomie molekularnym zmienności epigenetycznej (stopień metylacji DNA) oraz genetycznej (mutacje DNA i delecje). Efektem prac będzie uzyskanie genotypów charakteryzujących się większymi owocami i wysoką zawartością związków bioaktywnych, przydatnych do dalszej hodowli ukierunkowanej na wytwarzanie odmian deserowych o zróżnicowanej porze owocowania oraz zwiększonej odporności na choroby.