

## ZADANIE 42

# OCENA POTENCJAŁU GENETYCZNEGO MALINY WŁAŚCIWEJ (*Rubus idaeus* L.) POD WZGLĘDEM WAŻNYCH CECH FENOTYPOWYCH (ZDOLNOŚĆ DO DWUKROTNEGO OWOCOWANIA, POZBIORCZA TRWAŁOŚĆ OWOCÓW, BEZKOLCOWOŚĆ, SAMOPŁODNOŚĆ) PRZY ZASTOSOWANIU METOD KONWENCJONALNYCH I BIOTECHNOLOGICZNYCH

**POSTĘP BIOLOGICZNY**  
Okres realizacji: 2021

### KIEROWNIK ZADANIA 42

**dr hab. Agnieszka Masny, prof. IO**

**e-mail: [Agnieszka.Masny@inhort.pl](mailto:Agnieszka.Masny@inhort.pl)**

**Wykonawcy:** dr hab. Mirosława Cieślińska, dr hab. Stanisław Pluta, dr Sylwia Keller-Przybyłkiewicz, dr Anita Kuras, dr Mariusz Lewandowski, dr Łukasz Seliga, dr Marek Szymajda, mgr Jarosław Kołodziejki, mgr Agnieszka Walencik, mgr Renata Czarnecka, mgr Bogusława Idczak, mgr Jolanta Kubik, mgr Agnes Zmarlickine-Laszlovszky, Dorota Starzec, Krystyna Strączyńska, Krzysztof Pęzik, Marzena Śnieguła, Katarzyna Skrzeczkowska, Igor Stankiewicz, Ilona Skiba, Maria Kalisiak

Instytut Ogrodnictwa –  
Państwowy Instytut Badawczy  
ul. Konstytucji 3 Maja 1/3  
96-100 Skierniewice



# **CELE PROJEKTU**

- 1. Ocena stanu zdrowotnego wybranych genotypów maliny właściwej, przed ich włączeniem do programu krzyżowań, co pozwoli na upewnienie się, że użyte w badaniach genotypy są wolne od groźnych chorób wirusowych.**
- 2. Wykonanie 40 kombinacji zapyleń w obrębie badanych genotypów, dla uzyskania wiedzy czy krzyżując te genotypy w układzie czynnikowym możliwe jest uzyskanie potomstwa, łączącego ważne cechy użytkowe roślin: bezkolcowość pędów, wysoka pozbiorcza trwałość owoców, zdolność pędów do dwukrotnego owocowania (podwójny zbiór owoców) oraz wysoka samopłodność.**

**Cele zostały osiągnięte.**

# MATERIAŁY I METODY

## TEMAT BADAWCZY 1. Ocena stanu zdrowotnego wybranych genotypów maliny właściwej przed ich włączeniem do programu krzyżowań

- **Materiał roślinny: 13 genotypów maliny właściwej - ‘Glen Ample’, ‘Przehyba’, ‘Covichan’, ‘Willamette’, ‘Veten’, ‘Tulameen’, ‘Sokolica’, ‘Canby’, ‘Schönemann’, ‘Laszka’, M-258 (‘Glen Ample’ × ‘Sokolica’), M-345 (‘Canby’ × ‘Polana’) oraz M-378 (‘Glen Ample’ × ‘Polka’).**
- **Testy na obecność wirusa krzaczastej karłowatości maliny dla 50 roślin każdego genotypu - metoda DAS-ELISA według standardowych procedur laboratoryjnych, z wykorzystaniem komercyjnie dostępnych zestawów przeciwciał (Loewe Biochemica GmbH, Niemcy).**
- **Testy na obecność wirusa cętkowanej plamistości liści maliny (RLMV), wirusa żółtaczkii nerwów liści maliny (RYNV) i wirusa plamistości maliny (RLBV) dla 10 losowo wybranych roślin z 10 odmian matecznych – metoda odwrotnej transkrypcji - łańcuchowej reakcji polimerazy RT-PCR (zastosowano zestaw One-Step RT-PCR Kit)**
- **Do wykrywania wymienionych wirusów użyto starterów:**
  - CPh-F/CPh-R amplifikujące gen białka płaszczka RLMV,
  - RYN1-f/RYN1-r specyficzne dla fragmentu genomu RYNV,
  - RLBV-1f/RLBV-1r specyficzne dla genu polimerazy RNA zależnej od RNA.
- **Produkty PCR rozdzielano elektroforetycznie w 1,2% żelu agarozowym, barwiono bromkiem etydyny i analizowano w świetle UV.**

# MATERIAŁY I METODY

## TEMAT BADAWCZY 2. Ocena możliwości skrzyżowania wybranych genotypów maliny właściwej w oparciu o wykonanie zaplanowanych kombinacji zapyleń w układzie czynnikowym

- Hybrydyzacja w układzie czynnikowym - 10 genotypów matecznych krzyżowano z trzema genotypami ojcowskimi, a dodatkowo wykonano zapylenie genotypów matecznych ich własnym pyłkiem (samozapylenie).

Genotyp mateczny	Genotyp ojcowski			
	M-258	M-345	M-378	Taki sam jak genotyp mateczny (samozapylenie)
Glen Ample	x	x	x	x
Przehyba	x	x	x	x
Covichan	x	x	x	x
Willamette	x	x	x	x
Veten	x	x	x	x
Tulameen	x	x	x	x
Sokolica	x	x	x	x
Canby	x	x	x	x
Schönemann	x	x	x	x
Laszka	x	x	x	x

- Zbiór owoców (ważenie i liczenie), ekstrakcja, liczenie i skaryfikacja nasion
- Produkcja sadzonek odmian rodzicielskich
- Przygotowanie pola pod założenie doświadczenia (zwalczanie chwastów trwałych, odkażanie, nawożenie, uprawa)

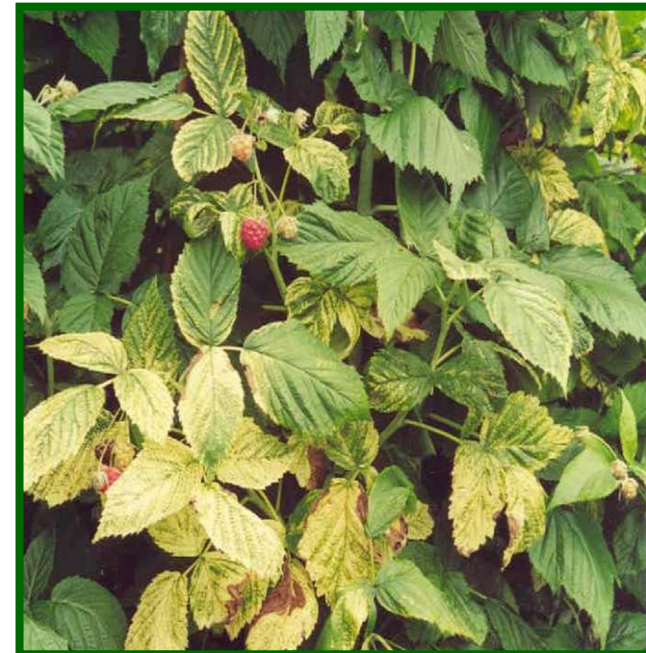
# WYNIKI

## TEMAT BADAWCZY 1. Ocena stanu zdrowotnego wybranych genotypów maliny właściwej przed ich włączeniem do programu krzyżowań

- Większość badanych krzewów maliny nie wykazywała objawów chorobowych charakterystycznych dla wirusa krzaczastej karłowatości maliny RBDV.
- Pozytywny wynik testów DAS-ELISA na obecność RBDV uzyskano dla następujących genotypów: 'Veten' - 2 rośliny, M-345 - 4 rośliny, M-378 - 6 roślin (odczyty absorbancji  $A_{405}$  dla ww. prób wynosiły 1,2-1,9 i były na poziomie odczytów uzyskanych dla kontroli pozytywnych)
- W pozostałych badanych roślinach nie wykryto wirusa RBDV (odczyty absorbancji 0,07-0,11, porównywalne z wartościami uzyskanymi dla kontroli negatywnej).



Objawy infekcji RBDV





## TEMAT BADAWCZY 1 (cd.).

- Na roślinach maliny nie obserwowano objawów wskazujących na infekcję wirusem cętkowanej plamistości liści maliny (RLMV), wirusem żółtaczki nerwów liści maliny (RYNV) czy wirusem plamistości maliny (RLBV).
- Testy RT-PCR wykazały obecność RLMV w 4 roślinach 'Canby'. W pozostałych krzewach tej odmiany oraz wszystkich testowanych roślinach innych odmian nie wykryto żadnego z wymienionych wirusów.
- Wszystkie rośliny, w tkankach których wykazano obecność któregośkolwiek z wirusów, zostały wyeliminowane z dalszych prac badawczych.



Objawy infekcji RLMV



Objawy infekcji RLBV



Objawy infekcji RYNV

# WYNIKI

## TEMAT BADAWCZY 2. Ocena możliwości skrzyżowania wybranych genotypów maliny właściwej w oparciu o wykonanie zaplanowanych kombinacji zapyleń w układzie czynnikowym

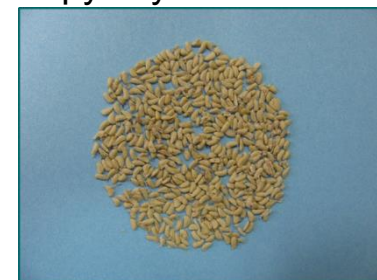
- Wykonano 40 kombinacji krzyżowań (30 krzyżowań kierunkowych i 10 krzyżowań wsobnych).
- Łącznie zapylono 2 562 kwiaty, z których uzyskano 1 669 owoców.
- Liczba zapylonych kwiatów w poszczególnych kombinacjach była zróżnicowana i wynosiła w przypadku zapyleń obcym pyłkiem od 32 do 101, zaś własnym pyłkiem (samozapyleń) od 58 do 103.
- Liczba owoców uzyskanych w wyniku zapyleń obcym pyłkiem wynosiła od 5 do 58, zaś w przypadku samozapyleń – od 45 do 97.
- Średnia efektywność krzyżowania, wyrażona jako procent uzyskanych owoców w stosunku do zapylonych kwiatów, wynosiła 63,5%.
- Najlepszą efektywnością krzyżowań kierunkowych odznaczały się kombinacje ‘Veten’ × M-258 oraz ‘Schönemann’ × M-258 (83,1%).
- Najniższą efektywność krzyżowania wykazano w przypadku pary genotypów: ‘Glen Ample’ × M-345 (9,6%).



Kastrowanie pąków



Owoce rozwijające się z zapylonych kwiatów



Wyekstrahowane nasiona

## TEMAT BADAWCZY 2. (cd.)

- Najlepszą efektywnością krzyżowania wsobnego (samozapylenia) charakteryzowały się odmiany: 'Tulameen' (98,3%), 'Covichan' (97,5%), 'Veten' (95,9%), 'Laszka' (94,2%) i 'Willamette' (93,9%).
- Najniższą efektywność krzyżowania wsobnego wykazały odmiany 'Canby' (77,2%), 'Przehyba' (76,3%) oraz 'Sokolica' (75,7%).
- Średnia masa owoców w poszczególnych kombinacjach była bardzo zróżnicowana i wynosiła, w przeliczeniu na jeden owoc, średnio 1,82 g.
- Największe owoce uzyskano w wyniku krzyżowania 'Przehyba' × M-258 (średnia masa jednego owocu to 3,20 g).
- Największe owoce z krzyżowań wsobnych otrzymano w kombinacji 'Glen Ample' × samozapylenie (3,39 g).
- Najmniejsze owoce stwierdzono w kombinacjach krzyżowań: 'Covichan' × M-345 (0,68 g) oraz 'Willamette' × M-345 (0,67 g).
- Z zebranych owoców uzyskano łącznie 61675 nasion (jeden owoc zawierał przeciętnie 37 nasion).
- Najwięcej nasion w jednym owocu stwierdzono w kombinacji krzyżowań: 'Schönemann' × M-258 (75,2 nasiona).



# WNIOSKI

- 1. Na podstawie oceny wizualnej nie można stwierdzić, czy rośliny maliny są zdrowe czy też porażone wirusami.**
- 2. Wykrycie RBDV i RLMV w niektórych badanych roślinach może wskazywać na obecność potencjalnego źródła tych wirusów w sąsiedztwie.**
- 3. Wszystkie badane rośliny maliny były wolne od RVCV i RLBV.**
- 4. Możliwe jest uzyskanie licznych nasion mieszańcowych na drodze krzyżowania wybranych genotypów maliny w układzie czynnikowym.**
- 5. Efektywność krzyżowania oraz wydajność nasion z jednego owocu jest zróżnicowana i uzależniona od kombinacji krzyżowań genotypów rodzicielskich maliny właściwej.**