

**Zadanie 3.16 Wytworzenie materiałów wyjściowych jagody kamczackiej (*Lonicera caerulea*) o zróżnicowanej porze dojrzewania, wysokiej jakości owoców i tolerancji na choroby grzybowe, suszę i poparzenia słoneczne.**

**Kierownik Zadania: dr inż. Seliga Łukasz**

**Cel zadania:** Uzyskanie materiałów wyjściowych do hodowli nowych odmian jagody kamczackiej, przydatnych zarówno do przetwórstwa jak i bezpośredniego spożycia.

W Polsce od kilku lat obserwuje się rosnące zainteresowanie uprawą towarową jagody kamczackiej (suchodrzewu jadalnego), którego owoce są przydatne zarówno do przetwórstwa, jak i do bezpośredniego spożycia. Owoce suchodrzewu jadalnego dojrzewają najwcześniej w sezonie (już pod koniec maja) i zawierają wiele witamin, makro- i mikroelementów oraz polifenoli, niezwykle cennych dla organizmu człowieka. Krzewy mają małe wymagania glebowe, są mrozoodporne, a kwiaty wykazują wysoką tolerancję na przymrozki wiosenne (nawet do  $-7^{\circ}\text{C}$ ). Niestety, dostępne na rynku odmiany w większości są mało plenne, a ich owoce są mało atrakcyjne (małe, o przeciętnym smaku z goryczką) i nieprzystosowane do długiego transportu (mało jędrne). Ponadto wiele z tych odmian wykazuje tendencję do opadania owoców w trakcie dojrzewania. W związku z dużym zainteresowaniem producentów nowymi odmianami o lepszych cechach w stosunku do obecnie dostępnych istnieje pilna potrzeba rozpoczęcia hodowli tego gatunku, celem uzyskania nowych odmian przystosowanych do uprawy towarowej w Polsce.

**Opis zadania:**

- 1) wykonanie programu krzyżowań z wykorzystaniem różnych form rodzicielskich jagody kamczackiej (*Lonicera caerulea*) o komplementarnych cechach fenotypowych i użytkowych, zbiór owoców, wybieranie nasion, stratyfikacja i wysiew nasion;

W warunkach szklarniowych wysadzono łącznie 2 125 siewek, pochodzących z programu krzyżowań z 2023 roku. Siewki te były regularnie podlewane, nawożone i odchwaszczane, a ich dalsze wysadzanie na polu w Sadzie Doświadczalnym w Dąbrowicach zaplanowano na rok 2025. Program krzyżowań objął 15 kombinacji krzyżowych w układzie diallelicznym z wykorzystaniem sześciu różnych form rodzicielskich, pochodzących z odmian rosyjskich, kanadyjskich i japońskich. Łącznie w warunkach polowych i szklarniowych przeprowadzono kastrację i zapylenie 980 kwiatów, uzyskując 128 owoców. Wybrane genotypy form rodzicielskich charakteryzowały się zróżnicowaną porą dojrzewania, kształtem owoców oraz wysoką zdrowotnością roślin. Badania nad oceną wybranych cech użytkowych genotypów jagody kamczackiej przeprowadzono w Sadzie Pomologicznym w Skierniewicach w 2024 roku. Krzewy rosły w pojemnikach i donicach w tunelu foliowym. Analizowano m.in. termin pełni kwitnienia, intensywność kwitnienia i zawiązywania owoców, które oceniono w skali bonitacyjnej od 1 do 9. Wyniki wskazały na zróżnicowanie cech pomiędzy odmianami. Przykładowo, odmiana ‘Indigo Gem’ charakteryzowała się wczesnym terminem pełni kwitnienia (27 marca) oraz wysoką intensywnością kwitnienia i owocowania (7/7). Z kolei odmiana ‘Amphora’ osiągnęła pełnię kwitnienia 29 marca, uzyskując średnie oceny intensywności kwitnienia i owocowania (5/2). W badaniach uwzględniono również termin owocowania, plonowanie, masę, jędrność owoców oraz podatność na poparzenia słoneczne. Wyniki pokazały istotne różnice między odmianami. Odmiana ‘Jugana’ wyróżniła się najwyższą masą 100 owoców (180 g), podczas gdy ‘Wojtek’ osiągnął najwyższy plon (1,13 kg/krzew). Odmiana ‘Zojka’ uzyskała największą masę 100 owoców (190 g) przy zachowaniu dobrej jędrności (0,58 N). Większość odmian charakteryzowała się niskim poziomem poparzeń słonecznych. Charakterystyka morfologiczna krzewów obejmowała pomiary wysokości,

szerokości, wskaźnika pokroju oraz wielkości powierzchni zajmowanej przez krzewy. Największą powierzchnię zajmowały krzewy odmiany Nr 44 (3,02 m<sup>2</sup>), natomiast najmniejszą odmiana 'Tundra' (0,18 m<sup>2</sup>). Skład chemiczny owoców analizowano pod kątem zawartości ekstraktu, suchej masy, kwasowości, polifenoli, antocyjanów i kwasu askorbinowego. Wartości te różniły się między odmianami. Na przykład odmiana 'Morena' charakteryzowała się wysoką zawartością polifenoli (763 mg/100 g) oraz antocyjanów (323 mg/100 g). Odmiana 'Honeybee' osiągnęła najwyższą zawartość ekstraktu (15,9 °Brix), a odmiana 'Zojka' wyróżniała się niską kwasowością (1,83%).

- 2) cytometryczna ocena poziomu ploidalności 3 nowych genotypów w kolekcji i liczby chromosomów 10 odmian w kolekcji odmian;

W 2024 roku przeprowadzono analizę cytometryczną oraz badania liczby chromosomów w odniesieniu do wybranych odmian jagody kaczackiej, w celu oceny ich ploidalności i liczby chromosomów. Analizy wykonano w Zakładzie Hodowli Roślin Ogrodniczych, Instytutu Ogrodnictwa – PIB w Skierniewicach. Analiza cytometryczna wykonana na odmianach 'Tomi', 'Maxim' i 'Willa' oraz odniesiona do odmiany referencyjnej 'Aurora' (tetraploidalnej) wykazała, że piki fluorescencji jąder komórkowych dla badanych odmian znajdowały się na osi X w podobnym zakresie, około 100 jednostek. Wyniki te potwierdzają tetraploidalność wszystkich analizowanych odmian (Fot. 2). Analizę przeprowadzono przy użyciu cytometru CyFlow Space z funkcją UV-LED, z barwieniem DAPI (FCM/DAPI). Dodatkowo, materiał do analizy liczby chromosomów obejmował 10 odmian z kolekcji Instytutu. Preparaty mikroskopowe do badań liczby chromosomów wykonano z wierzchołków wzrostu roślin, które barwiono DAPI zgodnie z protokołem opracowanym przez Marasek-Ciołakowską i współpracowników (2012). Preparaty badano za pomocą mikroskopu fluorescencyjnego Optiphot-2 (Nikon). Wszystkie analizowane odmiany, w tym 'Aurora', 'Czułymskaja', 'Baczarskaja', 'Indigo Gen', 'Kaczadalka', 'Tomiczka', 'Tundra', 'Wojtek', 'Vostorg' i 'Zojka', wykazywały tetraploidalność z liczbą chromosomów  $2n = 4x = 36$ .

- 3) Sprawdzanie żywotności pyłku na podstawie wybarwienia ziaren oraz na podstawie kiełkowania na pożywkach;

W 2024 roku przeprowadzono ocenę żywotności pyłku wybranych odmian jagody kaczackiej (*Lonicera caerulea* L.) użytych w programie krzyżowań. Analizowane odmiany obejmowały genotypy rosyjskie ('Jugana', 'Sinij Utes'), kanadyjskie ('Boreal Blizzard', 'Boreal Beast') oraz amerykańskie ('Colin' i 'Lori'). Materiał pochodził z kolekcji Zakładu Hodowli Roślin Ogrodniczych, Instytutu Ogrodnictwa – PIB w Skierniewicach. Żywotność pyłku oceniano dwiema metodami: poprzez barwienie cytoplazmy ziaren pyłku odczynnikami Aleksandra oraz poprzez ocenę zdolności kiełkowania na pożywce z sacharozą o stężeniu 15%. Procedury przeprowadzono zgodnie z protokołem opisanym przez Niles i Quesenberry (1992). Analizy wykazały brak korelacji między barwnością cytoplazmy ziaren pyłku a ich zdolnością do kiełkowania. Barwność cytoplazmy odczynnikami Aleksandra była wysoka, przekraczając 97% dla wszystkich odmian, co wskazuje na obecność cytoplazmy w większości analizowanych ziaren pyłku. Zdolność kiełkowania pyłku na pożywce była jednak znacznie niższa, z wartością od 8,3% u odmiany 'Jugana' do 73,8% u odmiany 'Boreal Beast'.

- 4) analiza kiełkowania ziaren pyłku na znamieniu oraz przerastanie łagiewek pyłkowych przez poszczególne elementy słupka;

Przeprowadzono weryfikację genotypów rodzicielskich jagody kamczackiej oraz ocenę ich stopnia pokrewieństwa dla dziesięciu różnych form: 'Jugana', 'Sinij Utes', 'Boreal Blizzard', 'Boreal Beast', Nr 5, Nr 6, Nr 44, 'Rebeka', 'Wojtek', 'Indigo Gem'. Materiał roślinny w postaci młodych liści został poddany izolacji DNA zgodnie z metodą opartą na CTAB, a uzyskane preparaty DNA (30 prób) poddano analizie spektrofotometrycznej w zakresie 230, 260, 280 i 320 nm w celu oceny czystości i jakości. Technika mikrosatelitów (SSR) została zastosowana do analizy regionów mikrosatelitarnych genomu. W wyniku 900 testów PCR uzyskano 120 polimorficznych fragmentów DNA o długości od 100 do 690 pz za pomocą 16 z trzydziestu testowanych oligonukleotydów. Ocenę pokrewieństwa genetycznego przeprowadzono na podstawie obecności lub braku tych polimorficznych fragmentów DNA. Dystans genetyczny między badanymi genotypami został określony na podstawie analizy kodów binarnych 0/1, gdzie "0" oznaczał brak fragmentu DNA o określonej długości, a "1" - jego obecność, stosując metodę Jaccarda. Na podstawie tych danych skonstruowano dendrogram obrazujący pokrewieństwo genetyczne genotypów za pomocą metody UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic mean). Wyniki te mogą być istotne dla dalszych prac hodowlanych, umożliwiając selekcję genotypów o preferowanych cechach genetycznych.

- 5) molekularna weryfikacja genotypów rodzicielskich i określenie ich stopnia pokrewieństwa odmian jagody kamczackiej;

Przeprowadzono analizę genetycznego pokrewieństwa genotypów rodzicielskich jagody kamczackiej: 'Amphora', 'Aurora', 'Bakczarskaja', 'Bakczarskaja Jubilejnaja', 'Bakczarskij Velikan', 'Czułymskaja', 'Docz Velikan', 'Duet' i 'Gordost Bukczara'. Z liści pobrano DNA metodą CTAB, oceniono jego jakość spektrofotometrycznie, a następnie przeprowadzono amplifikację przy użyciu 30 par starterów SSR. Uzyskano 120 amplikonów (90–520 pz), z których 16 wykazało polimorfizm. Na podstawie binarnych danych (0/1) określono dystans genetyczny metodą Jaccarda, dendrogram pokrewieństwa skonstruowano metodą UPGMA. Stopień pokrewieństwa genotypów wynosił od 12 do 47%

- 6) ocena porażenia roślin jagody kamczackiej rosnącej w kolekcji przez patogeny grzybowe i bakteryjne

W 2024 r. przeprowadzono dwie inspekcje jagody kamczackiej (25.04 – kwitnienie i zawiązki owoców, 31.05 – dojrzewanie i zbiory) pod kątem chorób bakteryjnych i grzybowych. Objawy chorobowe zaobserwowano na liściach wielu odmian, a bakterie zidentyfikowano w próbach jako *Stenotrophomonas*, *Staphylococcus*, i *Pseudomonas* na podstawie analizy 16S rRNA. Zasychanie wierzchołków pędów i kwiatostanów spowodowane było przez grzyby z rodzajów *Alternaria*, *Diaporthe* oraz *Botrytis cinerea*. Podczas drugiej inspekcji na owocach zaobserwowano zmiany chorobowe spowodowane przez *Aureobasidium pullulans*, *Epicoccum* sp. oraz *Botrytis cinerea*. Przechowywanie owoców przez 10 dni w temperaturze pokojowej potwierdziło różnice w podatności odmian na szarą pleśń (*B. cinerea*). Największe nasilenie choroby (80%) odnotowano na owocach odmiany 'Roksana', podczas gdy owoce 'Wojtek' pozostały zdrowe. Odmiany 'Kamczadalka', 'Indigo Trent', 'Boreal Beast', 'Zojka' i 'Boreal Blizzard' wykazały niską podatność na szarą pleśń (<10%).

- 7) ocena zasiedlenia jagody kamczackiej rosnącej w kolekcji przez różne gatunki szkodników

W 2024 roku w miesiącach maj oraz czerwiec przeprowadzono dwukrotnie lustrację zasiedlenia jagody kamczackiej przez szkodniki. Zaobserwowano nieliczne gąsienice zwójki różoweczki (*Archipsrosana*) z rodziny zwójkowatych (*Tortricidae*). Incydentalnie, na jednej

roślinie, wystąpił również misecznik śliwowy (*Parthenolecanium corni*) w stadium zimującej samicy. Dotychczas nie stwierdzono obecności mszyc (*Aphidomorpha*) oraz innych szkodników.

**Wymierne/trwałe rezultaty realizacji zadania:**

Wartościowe genotypy (klony), o pożądanym cechach użytkowych, włączone będą do programu hodowli twórczej jagody kamczackiej w Instytucie Ogrodnictwa – PIB. Owocujące siewki poddane ocenie fenotypowej plonowania i jakości owoców, stworzą szanse wyselekcjonowania nowych cennych genotypów o pożądanym cechach użytkowych.

Przeprowadzono analizę cytometryczną trzech nowych genotypów ('Tomi', 'Maxim', 'Willa'), które wykazały tetraploidalność, podobnie jak odmiana referencyjna 'Aurora'.

Określono stopień pokrewieństwa 10 genotypów rodzicielskich, wyniósł od 12% do 47%, co zostało określone na podstawie analizy SSR.

**Działania upowszechnieniowo-promocyjne:**

W siedzibie Pracowni Genetyki i Hodowli Roślin Sadowniczych, a także telefonicznie oraz e-mailowo udzielano porad i konsultacji wielu producentom jagody kamczackiej na temat realizowanego programu hodowli, oceny wartości produkcyjnej wytworzonych odmian i klonów hodowlanych oraz ich przydatności do uprawy towarowej w Polsce.

W dniach 12-16 maja 2024 r. na V Europejskim Kongresie Ogrodniczym w Bukareszcie (EHC2024), Rumunia <https://ehc.usamv.ro/> zaprezentowano poster pt. „Application of polyploidy genotypes in breeding in genus Ribes and Lonicera”; Wykorzystanie genotypów poliploidalnych w hodowli twórczej w rodzaju Ribes i Lonicera. Abstrakt: [https://ehc.usamv.ro/wp-content/uploads/2024/05/S05\\_Book-of-abstracts\\_2.pdf](https://ehc.usamv.ro/wp-content/uploads/2024/05/S05_Book-of-abstracts_2.pdf) 17-18

W dniach 4-6 czerwca, na Ogólnopolskiej Konferencji Naukowej INNOWACYJNE OGRODNICTWO ŹRÓDŁEM PRODUKTÓW WYSOKIEJ JAKOŚCI w Lublinie zaprezentowano poster pt. „Cytologiczna ocena efektywności krzyżowania tetraploidalnych form rodzicielskich jagody kamczackiej (*Lonicera caerulea*)”.

W dniu 7 czerwca 2024 r. w Sadzie Pomologicznym w Skierniewicach odbyły się zajęcia pokazowe dla dzieci klas III szkoły podstawowej Zespołu Szkół Ogólnokształcących nr 5 w Skierniewicach, w ramach których dr Łukasz Seliga przedstawiła zakres badań nowych genotypów jagody kamczackiej.

4. Wykonanie miernika:

Mierniki na 2024 r. dla zadania 3.16:

1. liczba kombinacji w wykonanym programie krzyżowań: **plan: 15, wykonanie: 15**
2. cytometryczna ocena poziomu ploidalności **plan: 3, wykonanie: 3,**
3. ocena liczby chromosomów – **plan: 10 odmian, wykonanie: 10**
4. sprawdzenie żywotności pyłku: – **plan: 6 odmian, wykonanie: 6**
5. analiza kiełkowania ziaren pyłku: **plan: 12, wykonanie: 12**
6. molekularna weryfikacja genotypów rodzicielskich i określenie ich stopnia pokrewieństwa: **plan: 10, wykonanie: 10**
7. ocena porażenia roślin przez patogeny i szkodniki: **plan: 35, wykonanie: 35**
8. liczba doniesień (ustnych lub posterów) na konferencjach międzynarodowych: **plan: 1, wykonanie: 1**