

Zadanie 3.17. Wytworzenie materiałów wyjściowych pigwowca japońskiego (*Chaenomeles japonica*) o bezierniowych pędach oraz wysokiej jakości i zawartości składników prozdrowotnych w owocach.

Streszczenie:

W pierwszym półroczu 2024 roku wykonano program krzyżowań pigwowca japońskiego (20 kombinacji krzyżowań), wykorzystując 12 form rodzicielskich. Łącznie wykastrowano i zapylono 518 kwiatów, uzyskano 106 owoców z zapyleń oraz wydobyto około 3,5 tys. nasion.

Wiosną łącznie wyprodukowano 2768 siewek pokolenia F₁, które na początku maja br. wysadzono w kwaterze hodowlano-selekcyjnej (pole „klin”) w Sadzie Pomologicznym w Skierniewicach.

Regularnie pielęgnowano, odchwaszczano i nawożono siewki wysadzone w 2 kwaterach hodowlano-selekcyjnych na polu w Sadzie Pomologicznym w Skierniewicach.

Rozmnożono wegetatywnie przez szczepienie w ręku 14 genotypów na podkładce pigwy S₁, które użyte będą jako formy rodzicielskie w programach krzyżowań w przyszłości Zakładzie Hodowli Roślin Ogrodniczych (ZHRO). Metoda wegetatywnego rozmnażania przez szczepienie w ręku 14 genotypów na podkładce pigwy S₁ okazała się efektywna, gdyż ok. 70% zaszczepionych zrazów genotypów przyjęło się i wytworzyło tegoroczne przyrosty. Inne metody rozmnażania (sadzonki zdrewniałe i półzdrewniałe) okazały się mniej skuteczne, gdyż od 0 do 30% udało się ich ukorzenie.

Z wyselekcjonowanych roślin 12 klonów pigwowca w kolekcji ZHRO, IO-PIB, pobrano młode liście do izolacji matryc DNA, w celu weryfikacji zróżnicowania genetycznego badanych genotypów. Dystans genetyczny przedstawiono w postaci hierarchicznego drzewka skupień (dendrogramu) oraz wykresu PCA. W analizie PCA podobieństwo między badanymi genotypami oszacowano na poziomie 84 %. Generalnie, genotypy w badanej puli roślin pigwowca japońskiego wykazały wysoki stopień podobieństwa genetycznego.

Z wyselekcjonowanych roślin 12 klonów pigwowca japońskiego: Pig-1, Pig-2, Pig-3, MW-1, MW-2, MW-3, S-1, S-2, S-3, S.K-1, S.K-2 oraz SK-3, pochodzących z kolekcji ZHRS-IO-PIB, skolekcjonowano młode liście celem izolacji matryc DNA. Przygotowane matryce użyto podczas weryfikacji zróżnicowania genetycznego ww. genotypów z wykorzystaniem 10 opublikowanych sekwencji oligonukleotydowych, komplementarnych do regionów mikrostatelitarnych genomu *Chaenomeles*.

Bazując na ocenie profili DNA (PCA, UPGMA) najbardziej oddalony genetycznie okazał się pigwowiec japoński oznaczony S.K3, a badana pula roślin wykazała wysoką homologię pod względem genetycznym. Dodatkowo, dla owocujących genotypów: ‘Darius’, 3B/1, ‘Rasa’ i 11D/2, skolekcjonowano próby miąższu dojrzałych owoców, z których przeprowadzono izolację całkowitego RNA. Dla sporządzonych matryc przeprowadzono analizy profili ekspresji dwóch genów (ze względu na brak oczekiwanego produktu qPCR, dla wytypowanych w I półroczu genów PST i PSTP, do badań wytypowano gen uczestniczący w szlaku etylenowym PETH i gen odpowiedzialny za proces degradacji skrobi StG). Wysoką aktywność obu genów odnotowano w owocach klonu 11D/2, a genu StG także w owocach klonu 3B/1.

We współpracy z Zakładem Przechowalnictwa i Przetwórstwa Owoców i Warzyw IO – PIB w Skierniewicach wykonano kolejne analizy składu chemicznego owoców (ekstrakt, kwasowość, polifenole ogółem i kwas askorbinowy – wit. C) 15 wybranych genotypów pigwowca japońskiego, w tym 13 klonów selekcyjnych i dwóch odmian ukraińskich (‘Gold Clif’ i ‘Tamara’). Badane ukraińskie odmiany oraz klony różniły się pod względem zawartości w owocach związków chemicznych. Średnia zawartość ekstraktu analizowanych próbek owoców wszystkich genotypów wynosiła 10,47 °Brix i zawierała się między 7,44 i 12,53 °Brix.

Owoce pigwowca japońskiego charakteryzują się wysoką zawartością kwasów organicznych, są twarde i nie nadają się do bezpośredniego spożycia, tylko do przetworstwa. Średnia ogólna kwasowość miareczkowa wynosiła 3,87%, wahała się od 3,13% do 4,61%. Bioaktywne związki, jak polifenole i kwas askorbinowy (wit. C) należą do silnych antyoksydantów i mają działanie prozdrowotne dla człowieka. Średnia zawartość polifenoli ogółem badanych genotypów wynosiła 344,0 mg/100 g i mieściła się w zakresie od 230,5 do 449,1 mg/100 g. Średnia zawartość kwasu askorbinowego (wit. C) badanych odmian i klonów hodowlanych była dosyć wysoka i wynosiła 203,4 mg/100 g. Najbogatsze w ten bioaktywny związek były owoce większości klonów, w porównaniu do odmian 'Gold Clif' i 'Tamara'.

Z danych literatury jasno wynika, że owoce pigwowca japońskiego, podobnie jak porzeczki czarnej, są bogatym źródłem bioaktywnych związków tj. polifenoli, w tym antocyjanów i kwasu askorbinowego (wit. C). Związki te zaliczane są do naturalnych antyoksydantów i mają bardzo ważne znaczenie prozdrowotne dla człowieka.

W ramach współpracy z Zakładem Biologii Stosowanej (ZBS) wykonano ocenę poziomu ploidalności/wielkości genomu metodą cytometrii przepływowej 20 wybranych genotypów (form rodzicielskich) pigwowca japońskiego rosnących w pojemnikach w karkasie ZHRO. Większość badanych genotypów okazała się diploidami (2x). U trzech genotypów stwierdzono prawdopodobnie ich aneuploidalność lub wysoką zawartość związków np. fenolowych, będących inhibitorami wybarwienia DNA.

Oceniono żywotność pyłku dla form rodzicielskich pigwowca japońskiego użytych w programach krzyżowań, w preparatach rozmazowych pyłku barwionych wg metody Alexander (1969) oraz na podstawie kiełkowania ziaren pyłku na pożywce zestalonej agarom z 15% roztworem sacharozy. Barwliwość pyłku, dla wszystkich analizowanych genotypów wynosiła powyżej 93%. Zdolność kiełkowania pyłku na pożywkach wynosiła od 22,8% do 91,09%.

Określono zgodność kojarzeniową dla 10 kombinacji krzyżowań na podstawie obserwacji pod mikroskopem fluorescencyjnym stopnia kiełkowania ziaren pyłku na znamieniu i wnikania łagiewek pyłkowych w poszczególne części słupka po 24, 48, 72, 96 i 120 godzinach po zapyleniu kwiatów. W poszczególnych kombinacjach krzyżowań obserwowano zróżnicowaną intensywność kiełkowania ziaren pyłku i wnikania łagiewek pyłkowych do poszczególnych częściach słupka. Po 24 godzinach od zapylenia brak kiełkowania lub brak pyłku na znamieniu obserwowano jedynie w 2 kombinacjach krzyżowań. Po 48 godzinach od zapylenia dla większości krzyżowań łagiewki pyłkowe przerastały całą długość słupka. Pierwsze wnikanie łagiewek pyłkowych do załączni obserwowano już po 24 godzinach od zapylenia w kilku krzyżowaniach. Po 120 godzinach od zapylenia dla większości kombinacji krzyżowań (z wyjątkiem dwóch kombinacji) łagiewki pyłkowe obserwowano w załączni oraz ich wnikanie do załączków.

We współpracy z Zakładem Ochrony Roślin (ZOR) w sezonie wegetacyjnym 2024 roku przeprowadzono monitoring i badania nad występowaniem patogenów chorobotwórczych oraz szkodników roślin i owoców genotypów pigwowca japońskiego w hodowlanej kolekcji odmian i w polu selekcyjnym ZHRO zlokalizowanych w Sadzie Pomologicznym Instytutu Ogrodnictwa – PIB w Skierniewicach. Podczas 4 lustracji na młodych roślinach pigwowca japońskiego ocenianych genotypów nie stwierdzono występowania objawów chorób powodowanych przez grzyby patogeniczne na pędach i zawiązkach owoców. W fazie dojrzewania owoców wykrywano drobne, pojedyncze plamki na ich powierzchni, charakterystyczne dla grzyba *Botrytis cinerea*, powodującego chorobę infekcyjną – szarą pleśń.

W pierwszym i drugim półroczu 2024 r. przeprowadzono łącznie 10 obserwacji ocenę zagrożenia przez szkodniki genotypów w hodowlanej kolekcji ZHRO. W wiosną przed

kwitnieniem na krzewach znaleziono złoża jaj zwójki różoweczki (*Archips rosana*) i pojedyncze osobniki mszycy jabłoniowej (*Aphis (Aphis) pomi*). Po kwitnieniu krzewów, na wierzchołkach pędów zaobserwowano rozwijające się kolonie mszycy jabłoniowej oraz gąsienie zwójki różoweczki, a także chrząszcze ogrodnicy niszczylistki (*Phyllopertha horticola*). Populacja znalezionych szkodników była na niskim poziomie, dlatego szkody, które wyrządziły nie stanowiły zagrożenia dla roślin pigwowca japońskiego. Latem i jesienią w wyniku obserwacji na liściach stwierdzono występowanie przędziorka chmielowca (*Tetranychus urticae*) oraz objawy żerowania toczyka gruszowiaczka (*Leucoptera malifoliella*), larwy osnujowatych (Pamphilididae), chrząszczy z rodzaju naliściaki (*Phyllobius* sp.), larw śluzownicy ciemnej (*Caliroa limacina*), zaś na owocach powierzchowne uszkodzenia skórki spowodowane żerowaniem gąsienic zwójkówek (Tortricidae). W próbie 50 przejranych owoców, w dwóch znaleziono wgryzy i żerujące gąsienice owocówki jabłkóweczki (*Cydia pomonella*).

W podsumowaniu należy stwierdzić, że przeprowadzony w 2024 roku monitoring występowania szkodników i uszkodzeń wykazał sporadyczne zasiedlenie roślin i owoców pigwowca japońskiego, w związku z czym nie wymagały one chemicznej ochrony przed szkodnikami. Jak dotychczas wydaje się, że żadna z wymienionych grup roślinożerców nie stanowi ekonomicznego zagrożenia dla pigwowca japońskiego, gdyż obecność szkodników nie wpłynęła na zahamowanie rozwoju i wzrostu roślin oraz spadek plonowania.

Zrealizowano zagraniczny wyjazd służbowy i udział 1 osoby (kierownika Zadania celowego 3.17) w V Europejskim Kongresie Ogrodniczym (*V European Horticultural Congress - EHC2024*, <https://ehc.usamv.ro/>), w Bukareszcie, Rumunia, w dniach 12-16 maja 2024 r. Podczas organizowanego sympozjum 8 („S08. Genetic Resources in Horticulture: screening, propagation, use and conservation”) przedstawiono wystąpienie ustne dotyczące aktualnych celów i kierunków oraz zakres prowadzonych badań w ramach hodowli twórczej nowych odmian pigwowca japońskiego.