

MAŁGORZATA PODWYSZYŃSKA
AGATA BRONIAREK-NIEMIEC
AGNIESZKA WOJTANIA
KRZYSZTOF KLAMKOWSKI
AGNIESZKA MARASEK-CIOŁAKOWSKA
JOANNA PUŁAWSKA

Instytut Ogrodnictwa, ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice
e-mail: Malgorzata.Podwyszynska@inhort.pl

Ocena fenotypowa autotetraploidów jabłoni ze szczególnym uwzględnieniem podatności na porażenie przez *Venturia inaequalis* i *Erwinia amylovora* *

Jednym z ważnych źródeł zmienności dla hodowli, w Polsce niedocenianym, jest proces poliploidyzacji. Poliploidy — genotypy o zwielokrotnionej liczbie chromosomów są szeroko wykorzystywane w programach hodowlanych wielu roślin użytkowych, gdyż charakteryzują się bujnym wzrostem, większymi rozmiarami organów, np. kwiatów, owoców, mniejszą liczbą kwiatów w kwiatostanie, czasem krótszymi pędami i bardziej zwartym pokrojem, wyższą zawartością chlorofilu, późniejszym kwitnieniem oraz zwiększonymi zdolnościami adaptacyjnymi na stresowe czynniki biotyczne (patogeny i szkodniki) i abiotyczne (np. deficyt wody w podłożu). W naszym kraju jabłoń jest najważniejszym gatunkiem sadowniczym uprawianym na dużą skalę. Wielkim zagrożeniem dla sadów jabłoniowych są choroby grzybowe i bakteryjne. Spośród chorób grzybowych jabłoni duże straty w plonie powoduje parch jabłoni wywołany przez *Venturia inaequalis*. Z kolei najpoważniejszą chorobą bakteryjną jest zaraza ogniowa, powodowana przez *Erwinia amylovora*. Bakteria ta ma status organizmu kwarantannowego w materiale rozmnożeniowym roślin żywicielskich. W związku z brakiem skutecznych środków ochrony przeciwko zarazie ogniowej niezwykle istotnym jest wprowadzenie do produkcji odmian o zmniejszonej podatności na tego patogena. Z kolei regulacje prawne oraz informacje o przełamywaniu genetycznie uwarunkowanej odporności na choroby takie jak parch czy mączniak skłaniają do poszukiwania nowych

* Badania finansowane w ramach badań podstawowych na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej (MRiRW, zad. 70)

metod uzyskiwania odmian jabłoni o bardziej ustabilizowanej odporności a jednocześnie o wysokich walorach produkcyjnych.

W pierwszych latach realizacji badań opracowano metodę poliploidyzacji *in vitro* jabłoni, w wyniku której uzyskano tetraploidy 6 odmian. Należy zaznaczyć, że są to pierwsze tetraploidy jabłoni uzyskane w kraju. Dokonano też wstępnej oceny fenotypowej i genetycznej uzyskanych tetraploidów.

Celem prezentowanego zakresu badań jest ocena wielkości i charakteru zmian fenotypowych jakie pojawiły się u autotetraploidów oraz ocena tych zmian pod względem użytkowym, zwłaszcza odporności na ww. groźne choroby jabłoni.

Do badań wykorzystano tetraploidy 6 odmian: 'Free Redstar', 'Gala Must', 'Pinova', 'Redchief', 'Sander' i 'Co-op 32'. Ich fenotyp oceniano w odniesieniu do diploidalnych odmian wyjściowych. W przypadku oceny stopnia odporności na choroby, w testach dodatkowo stosowano odmiany referencyjne o dużej wrażliwości na badane choroby 'Idared' i 'Lobo'.

W naszych badaniach, podwojenie liczby chromosomów spowodowało wyraźną zmianę fenotypu. Korelacja pomiędzy zwielokrotnieniem liczby chromosomów a wartościami kilku cech morfologicznych była ujemna. W porównaniu z diploidami, nowo otrzymane autotetraploidy miały krótsze pędy i mniejsze liście o zmienionym kształcie. Jednak zawartość chlorofilu w liściach była znacząco wyższa, także wydajność fotosyntezy i fluorescencja były zwiększone w roślinach autotetraploidalnych.

Podatność na parcha jabłoni oceniano w doświadczeniu szklarniowym prowadzonym na uzyskanych 5–6 miesięcznych i 1-roczych tetraploidach. Rośliny inokulowano zawiesiną zarodników *V. inaequalis* o koncentracji ok. 10^5 zarodników/ml, uzyskaną w wyniku zmywania zarodników z silnie porażonych liści jabłoni pobranych z sadu. Po inokulacji rośliny umieszczano na 48 godzin w warunkach sprzyjających infekcji (98–100% wilgotności względnej powietrza i temperaturze 20–25°C). Po tym czasie rośliny przenoszono do standardowych warunków szklarniowych (temperatura 18–25°C). Ocena porażenia liści została przeprowadzona po 4 tyg. od inokulacji przy użyciu 6-stopniowej skali od 0 (brak objawów porażenia) do 5 (75,0% powierzchni liścia zajętej przez grzyb). Wykazano, że spośród diploidalnych odmian wybranych do poliploidyzacji, mniej podatne na porażenie przez *V. inaequalis* okazały się 'Free Redstar', 'Redchief' i 'Pinova', dla których porażenie według skali bonitacyjnej wyniosło od 2,8 do 3,7. Należy zaznaczyć, że mniejsza podatność na parcha jabłoniowego odmian 'Pinova' i 'Free Redstar' warunkowana jest obecnością genów *Vf* (*Rvi6*), *Vr* (*Rvi15*), *Vbj* (*Rvi11*) i *Vm* (*Rvi 5*). Bardziej podatne okazały się odmiany 'Gala Must' i 'Sander' (stopień porażenia powyżej 4,8). Spośród 25 testowanych tetraploidalnych klonów badanych odmian, wykryto 8 klonów, które okazały się istotnie mniej podatne na parcha w porównaniu do odmian wyjściowych (stopień porażenia pędów wynosił od 0 do 0,8). Obniżoną podatność obserwowano u tetraploidalnych klonów następujących odmian: 'Free Redstar' (wszystkie 4 badane klony), 'Pinova' (2 klony spośród 7), 'Redchief' (1 klon spośród 6) i 'Sander' (1 spośród 6). W przypadku odmiany 'Free Redstar', tetraploidy testowano dwukrotnie w 2017 i 2018 r. i w żadnym z testów nie stwierdzono objawów porażenia w

przeciwnie do roślin diploidalnych, których stopień porażenia w 2017 r. wynosił 1,5 a w 2018 — 3,7.

Ocenę podatności uzyskanych tetraploidów jabłoni na porażenie przez *Erwinia amylovora* wykonano przy użyciu wcześniej opracowanego testu *in vitro*. Wykorzystano wyizolowany z jabłoni szczep *E. amylovora* nr 659 o średniej wirulencji. Użyto pędów o długości 4–5 cm, które inokulowano bakteriami poprzez usunięcie wierzchołka pędu skalpelem zanurzonym w inokulum (105 bakterii w mililitrze). Następnie pędy inkubowano *in vitro* na standardowej pożywce do namnażania pędów, w fitotronie, w warunkach standardowych dla tego gatunku. Stopień porażenia pędów oceniano wg skali bonitacyjnej: od 0 (brak objawów porażenia) do 4 (całkowita nekroza pędu i liści). Obserwacje wykonywano w tygodniowych odstępach przez 6 tygodni. Spośród 17 testowanych klonów tetraploidalnych sześciu odmian wykryto w sumie siedem klonów o istotnie mniejszym stopniu porażenia pędów w porównaniu do diploidalnych odmian wyjściowych oraz odmiany referencyjnej ‘Lobo’. Istotnie mniejszą podatnością na *E. amylovora* charakteryzowały się tetraploidalne klony 3 odmian: ‘Free Redstar’ (2 klony spośród 4 testowanych), ‘Pinova’ (wszystkie 3 testowane klony) i ‘Redchief’ (2 spośród 4). U pozostałych odmian klony tetraploidalne nie różniły się istotnie pod względem porażenia pędów przez *E. amylovora* od pędów odmian wyjściowych.

Wiele doniesień dotyczących różnych gatunków roślin uprawnych wskazuje, że tetraploidy są bardziej odporne na choroby w porównaniu do swoich diploidalnych odpowiedników. Autorzy przypisują to podwojeniu liczby genów (w tym wypadku odporności na patogeny) na skutek poliploidyzacji. To może tłumaczyć uzyskanie klonów tetraploidalnych o niższym stopniu podatności na *V. inaequalis* czy *E. amylovora* w porównaniu do genotypów diploidalnych. W naszych badaniach ocenę podatności na patogeny wykonano w testach szklarniowych (*V. inaequalis*) oraz *in vitro* (*E. amylovora*). Aby uwiarygodnić wyniki przeprowadzonej oceny wskazane jest powtórzenie testów w kolejnych latach badań, a w przyszłości potwierdzenie wyników poprzez obserwację podatności na badane patogeny w warunkach uprawy roślin tetraploidalnych w sadzie.