

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

Instytut Ogrodnictwa – Państwowy Instytut Badawczy, Skierniewice

Badania Podstawowe na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej
Zadanie 46, okres realizacji 2021 – 2027

Kierownik zadania: Aleksandra Trzewik Aleksandra.Trzewik@inhort.pl

Wykonawcy: Małgorzata Podwyszyńska, Agnieszka Marasek-Ciołakowska, Justyna Góraj, Monika Markiewicz, Monika Działkowska, Aleksandra Machlańska, Marek Szymajda, Łukasz Seliga, Monika Kałużna, Agata-Broniarek-Niemiec, Małgorzata Grzelak, Urszula Kowalska, Angelika Niewiadomska-Wnuk, Justyna Trzeciak, Ewelina Wojciechowska, Dominika Niedzielska, Szymon Trzaska, Agnieszka Budzałek, Leszek Skorupiński

Cele badawcze projektu w 2025 r.

1. Ocena parametrów wzrostu, zawartości chlorofilu oraz liczby i wielkości aparatów szparkowych tetraploidalnych roślin, w porównaniu do diploidalnych odpowiedników rosnących w warunkach polowych.
2. Ocena podatności tetraploidalnych roślin czereśni i ich diploidalnych odpowiedników na raka bakteryjnego drzew owocowych powodowanego przez *Pseudomonas syringae* oraz tetraploidalnych roślin agrestu i ich diploidalnych odpowiedników na amerykańskiego mącznika agrestu powodowanego przez *Podosphaera mors-uvae*.
3. Ocena kwitnienia tetraploidalnych roślin czereśni i ich diploidalnych odpowiedników.
4. Ocena zmienności uzyskanych tetraploidów agrestu i czereśni w odniesieniu do ich diploidalnych genotypów wyjściowych. Określenie czy ewentualna zmienność ma źródło w zmianach epigenetycznych (zmiana stopnia metylacji DNA) czy genetycznych (mutacje DNA, delecje).

Wszystkie cele zostały osiągnięte

Materiały i metody

Temat 1. Materiałem do badań były tetraploidalne rośliny czereśni odmiany 'Regina' oraz ich diploidalne odpowiedniki posadzone w polu w roku 2024 w kwaterze hodowlanej. Określono dynamikę wzrostu roślin, zawartość chlorofilu oraz liczbę i wielkość aparatów szparkowych.

Temat 2. Do oceny podatności roślin czereśni na raka bakteryjnego drzew owocowych wykorzystano jednoroczne, odcięte pędy dwóch tetraploidalnych linii czereśni odmiany 'Merton Premier' oraz trzy tetraploidalne linie czereśni odmiany 'Regina' i ich diploidalne odpowiedniki. Dla porównania (kombinacja kontrolna) użyto pędy czereśni odmiany 'Rainier' podatnej na raka bakteryjnego. Wszystkie pędy inokulowano zawiesiną bakterii o stężeniu 10^8 jtk/ml naniesioną na wierzchołek. Po 30 dniach od inokulacji oceniono podatność pędów, czego wskaźnikiem były powstałe nekrozy. Testy oceniające podatność roślin na amerykańskiego mączniaka agrestu prowadzono na czterech tetraploidalnych liniach odmiany 'Biały Triumf' i trzech tetraploidalnych liniach klonu hodowlanego AGR9 oraz ich diploidalnych odpowiednikach. Diploidalne odmiany 'Captivator', 'Invicta' i 'Macurines' posłużyły jako kontrole – mało podatne na amerykańskiego mączniaka agrestu.

Temat 3. Materiałem do badań były tetraploidalne rośliny czereśni odmian 'Merton Premier' i 'Tamara' oraz ich diploidalne odpowiedniki posadzone w polu w roku 2023 w kwaterze hodowlanej. Określono dynamikę wzrostu roślin, zawartość chlorofilu oraz liczbę i wielkość aparatów szparkowych.

Do obserwacji morfologiczno-anatomicznej liści wykorzystano tetraploidalne linie agrestu odmiany 'Biały Triumf' i klonu AGR9 oraz ich diploidalne odpowiedniki. Do analizy histologicznej agrestu pobrano z nerwu głównego liścia skrawki o wymiarach $0,5 \times 1,5$ cm. Oceniono dziewięć cech: grubość górnej i dolnej skórki, grubość tkanki palisadowej i gąbczastej, liczbę przestrzeni międzykomórkowych, średnicę nerwu głównego, grubość łyka i ksylemu oraz powierzchnię komórek nerwu głównego.

Temat 4. Materiałem do badań były dwie tetraploidalne linie odmiany agrestu 'Biały Triumf' – linia BT a7/2-4x i BT a8/1-4x, dwie tetraploidalne linie odmiany czereśni 'Merton Premier' – linia MP d4/4-4x i MP c7/3-4x oraz ich diploidalne odpowiedniki. Analizę zmian genetycznych tetraploidów agrestu i czereśni w odniesieniu do form wyjściowych wykonano techniką AFLP-PCR. Analiza zmian epigenetycznych tetraploidów agrestu i czereśni w odniesieniu do form wyjściowych wykonano techniką MSAP (methylation-sensitive amplification polymorphism).

Temat 1. Wyniki

Największy przyrost wysokości i średnicy pędu oraz liczby międzywęźli wykazywały rośliny diploidalne (Tab. 1). U roślin tetraploidalnych długość aparatów szparkowych wynosiła 33,9 μm i była większa w porównaniu do roślin diploidalnych – 23,6 μm , ich gęstość wynosiła 127,6 szt./mm² i była mniejsza w porównaniu do diploidów – 223,1 szt./mm² (Tab. 2, Fot. 1). Tetraploidalne rośliny czereśni cechowały się wyższym indeksem zawartości chlorofilu zarówno na początku, jak i na końcu sezonu wegetacyjnego (Tab. 2).

Tab. 1. Dynamika wzrostu tetraploidalnych i diploidalnych roślin czereśni 'Regina' po pierwszym sezonie wegetacyjnym w warunkach polowych

Tetraploid	Przyrost wysokość pędu (cm)	Przyrost średnicy pędu (mm)	Przyrost liczby międzywęźli
Kontrola 2x	88,0* a	14,0 a	10,5 a
A7/2-4x	61,3 b	9,0 b	7,0 b

* Średnie w kolumnach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie wg testu Duncana przy p = 0,05

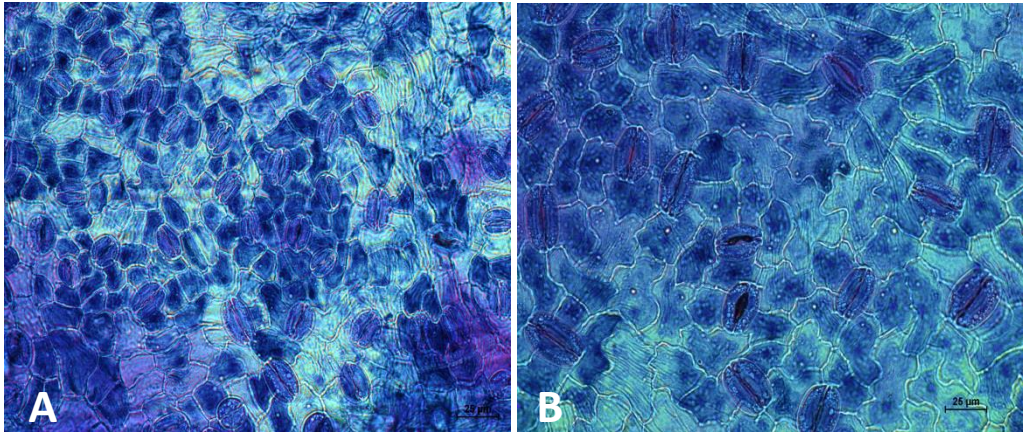
Tab. 2. Gęstość i długość aparatów szparkowych, zawartość chlorofilu u tetraploidalnych i kontrolnych roślin czereśni 'Regina' po pierwszym sezonie wegetacyjnym w warunkach polowych

Tetraploid	Aparaty szparkowe		Indeks zawartości chlorofilu na początku sezonu wegetacyjnego	Indeks zawartości chlorofilu na końcu sezonu wegetacyjnego
	Gęstość (szt./1 mm ²)	Długość (μm)		
Kontrola 2x	223,1* a	23,6 b	17,6 b	19,1 b
A7/2-4x	127,6 b	33,9 a	20,9 a	23,7 a

* Średnie w kolumnach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie wg testu Duncana przy p = 0,05

Wnioski

1. Tetraploidalne rośliny czereśni 'Regina' miały mniejszą dynamikę wzrostu niż ich diploidalne odpowiedniki. Tetraploidy czereśni odmiany 'Regina' rosnące w szklarni miały mniejszą dynamikę wzrostu niż ich diploidalne odpowiedniki.
2. Gęstość aparatów szparkowych tetraploidalnych roślin czereśni 'Regina' była mniejsza w porównaniu do ich diploidalnych odpowiedników, natomiast długość aparatów szparkowych była większa u tetraploidów.
3. Indeks zawartości chlorofilu u tetraploidalnych roślin czereśni 'Regina' był wyższy w porównaniu do roślin diploidalnych zarówno na początku jak i na końcu sezonu wegetacyjnego.



Fot. 1. Wielkość i gęstość aparatów szparkowych czereśni 'Regina': A – diploid, B – tetraploid D4-4x

Temat 2. Wyniki

Testowane izolaty *Pseudomonas syringae* kolonizowały pędy badanych odmian czereśni. Po 30 dniach od inokulacji pędów izolatem referencyjnym LMG1247 i 420 a długość nekroz była największa u odmiany 'Rainier' i wyniosła odpowiednio 17,3 mm oraz 42,2 mm (Tab. 3). Diploidalne pędy odmian 'Merton Premier' i 'Regina' miały długość nekroz większą w porównaniu do testowanych pędów tetraploidalnych linii (Tab. 3, Fot. 2). Po zakończeniu doświadczenia z powstałych nekroz reizolowano izolaty *P. syringae*, co potwierdziło, że były one sprawcami powstałych nekroz.

Tab. 3. Długość nekrozy (mm) na pędach czereśni inokulowanych izolatami *Pseudomonas syringae* po 30 dniach od inokulacji

Genotyp czereśni	Długość nekrozy (mm) po 30 dniach inokulacji	
	Izolat LMG1247	Izolat 420a
Rainier*	17,3** a	42,2** a
Merton Premier 2x	14,4 b	15,3 c
Merton Premier C7-4x	2,0 d	1,5 e
Merton Premier D4-4x	1,5 d	7,8 d
Regina 2x	5,0 c	22,7 b
Regina C11-4x	3,5 d	2,5 e
Regina D4-4x	3,5 d	2,1 e
Regina E25-4x	3,0 d	2,2 e

* Odmiana wrażliwa na raka bakteryjnego drzew owocowych, ** Średnie w kolumnach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie wg testu Duncana przy p = 0,05

W warunkach sztucznej inokulacji zarodnikami grzyba *Podosphaera mors-uvae* średnie porażenie ocenianych genotypów agrestu zawierało się w przedziale od 0 do 5 w 6-stopniowej skali bonitacyjnej. Największe nasilenie objawów amerykańskiego mączniaka agrestu stwierdzono na tetraploidalnych roślinach odmiany 'Biały Triumf' A8/1-4x (5), nieco niższe (4) na trzech pozostałych tetraploidalnych liniach A7/2-4x, A15/1-4x, A23-4x oraz roślinach diploidalnych. Na pozostałych testowanych genotypach: AGR9 2x, AGR9 A51/1-4x, AGR9 B15/3-4x, AGR9 B20/1-4x, 'Captivator' 2x, 'Invicta' 2x 'Macurines' 2x nie stwierdzono objawów amerykańskiego mączniaka agrestu.

Wnioski

1. Rośliny odmiany czereśni 'Rainier' okazały się najbardziej wrażliwe na testowane izolaty *Pseudomonas syringae*.
2. Rośliny tetraploidalnych linii odmian 'Merton Premier' oraz 'Regina' były mniej wrażliwe na testowane izolaty *Pseudomonas syringae* w porównaniu do ich diploidalnych odpowiedników.
3. Największe nasilenie objawów amerykańskiego mączniaka agrestu stwierdzono na tetraploidalnych roślinach odmiany 'Biały Triumf' i ich diploidalnych odpowiednikach.
4. Nie stwierdzono objawów amerykańskiego mączniaka agrestu na roślinach tetraploidalnych linii klonu AGR9, ich diploidalnych odpowiednikach oraz odmianach 'Captivator', 'Invicta' i 'Macurines'.



Fot. 2. Długość nekroz pędów czereśni 'Regina' po 30 dniach od inokulacji izolatem *Pseudomonas syringae* 420a



Fot. 3. Objawy amerykańskiego mączniaka agrestu w postaci białego mączystego nalotu grzybn i zarodników konidialnych

Temat 3. Wyniki

Wykonano pomiary parametrów morfologicznych i fizjologicznych tetraploidów C5/5-4x, C7/1-4x odmiany 'Merton Premier', B3/6-4x, H13-4x odmiany 'Tamara' oraz ich diploidalnych odpowiedników, które zostały posadzone w polu w roku 2023 w kwaterze hodowlanej (Fot. 4). Największy przyrost wysokości i średnicy pędu wykazywały rośliny diploidalne (Tab. 4). U tetraploidalnych roślin 'Merton Premier' długość aparatów szparkowych wynosiła od 32,7 μm (C5/5-4x) do 35,7 μm (C7/1-4x) i była większa w porównaniu do roślin diploidalnych – 21,9 μm, ich gęstość wynosiła od 109,8 (C5/5-4x) do 112,6 szt./mm² (C7/1-4x) i była mniejsza w porównaniu do diploidów – 138,8 szt./mm² (Tab. 4). U tetraploidalnych roślin 'Tamara' długość aparatów szparkowych wynosiła od 37,0 μm (B3/6-4x) do 38,1,1 μm (H13-4x) i była większa w porównaniu do roślin diploidalnych – 24,9 μm, ich gęstość wynosiła od 109,8 (B3/6-4x) do 112,6 szt./mm² (H13-4x) i była mniejsza w porównaniu do diploidów – 142,8 szt./mm² (Tab. 4). Tetraploidalne rośliny czereśni obu badanych odmian cechowały się wyższym indeksem zawartości chlorofilu.



Fot. 4. Rośliny czereśni 'Merton Premier' i 'Tamara' w kwaterze hodowlanej Sadu Doświadczalnego w Dąbrowicach

Tab. 4. Dynamika wzrostu, gęstość i długość aparatów szparkowych, indeks zawartości chlorofilu tetraploidalnych roślin czereśni 'Merton Premier' (MP), 'Tamara' i ich diploidalnych odpowiedników posadzonych w polu w 2023 roku w kwaterze hodowlanej

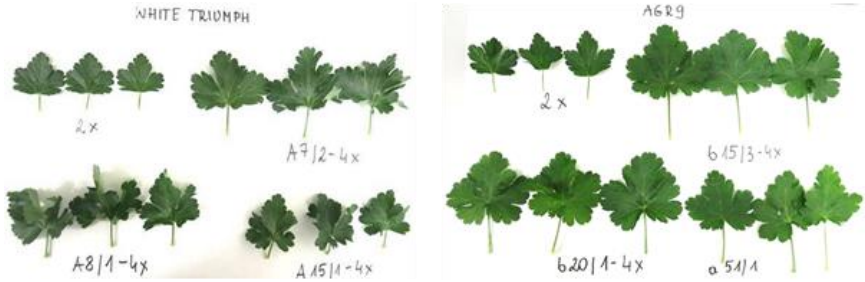
Tetraploid	Przyrost wysokość pędów (cm)	Przyrost średnicy pędu (mm)	Aparaty szparkowe		Indeks zawartości chlorofilu
			Gęstość (szt./1mm²)	Długość (µm)	
'Merton Premier'					
Kontrola 2x	135,0* a	22,2 a	138,8 a	21,9 b	15,4 b
MP C5/5-4x	85,0 b	14,8 b	109,8 b	32,7 a	19,5 a
MP C7/1-4x	80,0 b	13,7 b	112,6 b	35,7 a	19,1 a
'Tamara'					
Kontrola 2x	104,0 a	20,8 a	142,8 a	24,9 b	16,0 b
Tamara B3/6-4x	54,0 b	12,5 b	109,8 b	37,0 a	20,1 a
Tamara H13-4x	52,0 b	11,4 b	112,6 b	38,1 a	19,5 a

* Średnie w kolumnach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie wg testu Duncana przy p = 0,05, ± SD (odchylenie standardowe)

Liście tetraploidalnych roślin agrestu wykazywały inną morfologię niż ich diploidalne odpowiedniki w obu badanych genotypach (Tabela 5, Fot. 5). Błazski liściowe i długość ogonków liściowych roślin tetraploidalnych 'Biały Triumf' i AGR9 były istotnie większe niż u ich diploidalnych odpowiedników.

Tab. 5. Morfologia liści u tetraploidalnych i diploidalnych roślin odmiany 'Biały Triumf' i genotypu AGR9

Tetraploid	Długość liścia (mm)	Szerokość liścia (mm)	Długość ogonka liściowego (mm)
'Biały Triumf'			
Kontrola 2x	26.6* b ± 3.36	29.8 c ± 2.39	17.4 c ± 2.07
A7/2-4x	40.6 a ± 4.62	44.0 a ± 2.65	36.8 a ± 2.17
A8/1-4x	38.8 a ± 4.55	44.6 a ± 4.10	30.0 b ± 2.24
A15/1-4x	34.8 a ± 4.00	37.6 b ± 3.91	18.8 c ± 1.30
AGR9			
Kontrola 2x	28.4 ¹ c ± 3.65	33.2 c ± 3.19	19.2 b ± 3.77
A51/1-4x	43.6 b ± 4.61	46.4 b ± 3.05	40.0 a ± 6.12
B15/3-4x	55.8 a ± 5.12	56.4 a ± 5.73	42.6 a ± 4.93
B20/1-4x	52.8 a ± 3.11	54.4 a ± 6.65	37.2 a ± 6.38



Fot. 5. Morfologia liści u tetraploidalnych i diploidalnych roślin odmiany 'Biały Triumf' i genotypu AGR9

* Średnie w kolumnach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie wg testu Duncana przy p = 0,05, ± SD (odchylenie standardowe)

Temat 3. Wyniki cd

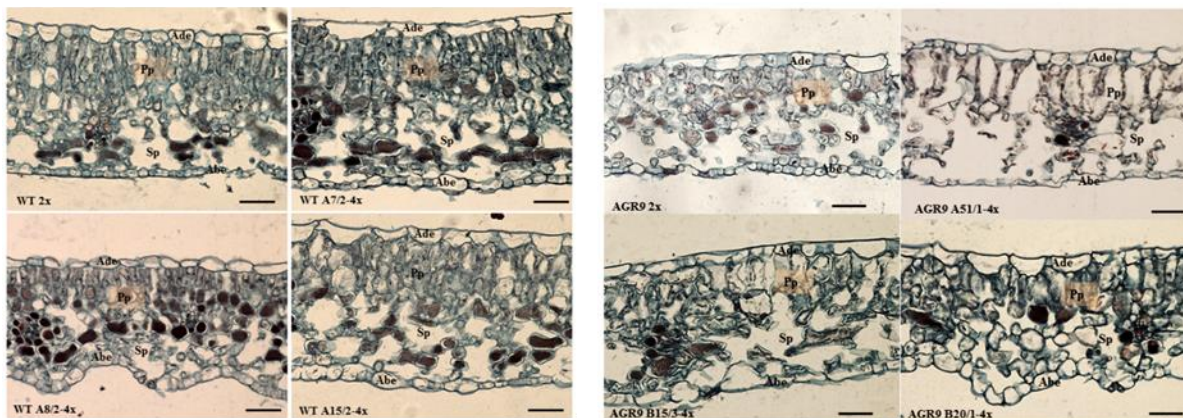
Wszystkie dziewięć ocenianych cech anatomicznych liści roślin tetraploidalnych było istotnie większych niż u ich diploidalnych odpowiedników (Tab. 6 i 7, Fot. 6 i 7). Wyjątkami były grubość górnej skórki u jednej tetraploidalnej linii 'Biały Triumf' A7/2-4, grubość łyka u genotypu jednej tetraploidalnej linii AGR9 A51/1-4x oraz liczba przestrzeni międzykomórkowych zarówno u odmiany 'Biały Triumf', jak i AGR9. W diploidalnych roślinach odmiany grubość skórki była podobna do jej grubości u tetraploidalnych roślin linii A51/2-4x i A8/1-4x i wynosiła 28,62 μm . W genotypie AGR9 grubość łyka była najmniejsza u tetraploidalnych roślin linii A51/1-4x i wynosiła 57,73 μm . Duża ilość przestrzeni międzykomórkowej była charakterystyczna dla form diploidalnych obu genotypów, podczas gdy umiarkowana ilość została zaobserwowana we wszystkich klonach tetraploidalnych.

Tab. 6. Anatomia liści u tetraploidalnych i kontrolnych roślin agrestu 'Biały Triumf' i AGR9

Tetraploid	Grubość górnej skórki (μm)	Grubość dolnej skórki (μm)	Grubość miękiszu palisadowego (μm)	Grubość miękiszu gąbczastego (μm)	Amount of intercellular spaces
'Biały Triumf'					
Kontrola 2x	28.62* b $\pm$ 2.85	18.70 b $\pm$ 2.17	61.71 d $\pm$ 6.89	147.07 c $\pm$ 15.84	+++**
A7/2-4x	28.72 b $\pm$ 2.84	21.76 a $\pm$ 2.97	82.06 b $\pm$ 9.36	170.52 a $\pm$ 19.04	++
A8/1-4x	28.01 b $\pm$ 2.61	20.26 a $\pm$ 2.82	75.31 c $\pm$ 9.39	164.30 a $\pm$ 17.61	++
A15/1-4x	30.68 a $\pm$ 3.81	21.06 a $\pm$ 2.97	89.56 a $\pm$ 9.84	157.54 b $\pm$ 12.96	++
AGR9					
Kontrola 2x	23.03* c $\pm$ 2.93	16.84 d $\pm$ 2.19	39.60 c $\pm$ 5.04	109.37 b $\pm$ 13.98	+++
A51/1-4x	26.27 b $\pm$ 4.28	19.74 c $\pm$ 3.71	57.03 a $\pm$ 6.69	130.89 a $\pm$ 15.23	++
B15/3-4x	28.85 a $\pm$ 4.96	23.99 b $\pm$ 3.76	54.85 a $\pm$ 7.16	125.00 a $\pm$ 11.41	++
B20/1-4x	24.81 b $\pm$ 2.93	29.85 a $\pm$ 3.96	50.57 b $\pm$ 6.19	128.86 a $\pm$ 20.35	++

* Średnie w kolumnach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie wg testu Duncana przy $p = 0,05$, $\pm$ SD (odchylenie standardowe)

** Skala trzystopniowa: + mała ilość przestrzeni międzykomórkowych, ++ umiarkowana ilość przestrzeni międzykomórkowych, +++ duża ilość przestrzeni międzykomórkowych)



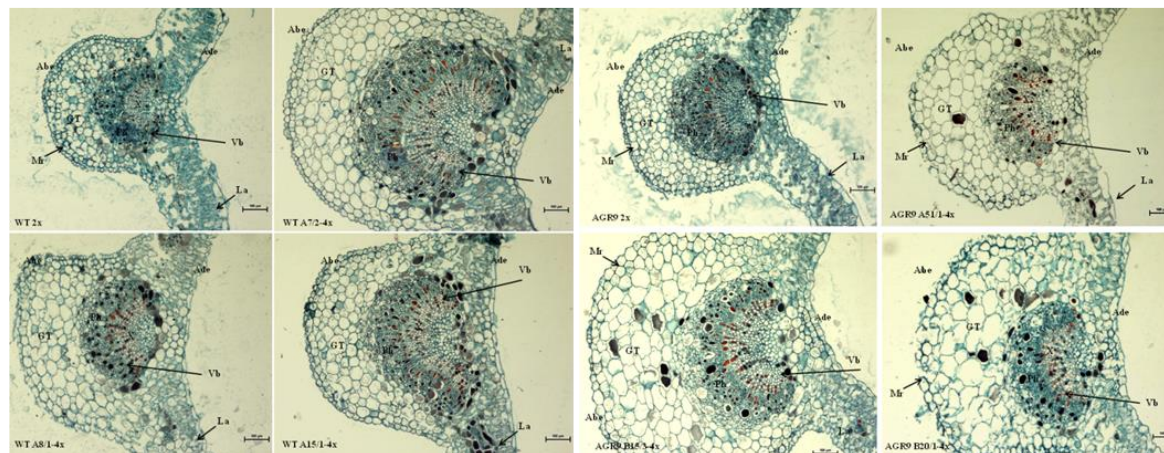
Fot. 6. Budowa anatomiczna liścia u tetraploidalnych i kontrolnych roślin agrestu odmiany 'Biały Triumf' (po lewej) oraz genotypu AGR9 (po prawej). Abe – skórka górna; Ade – skórka dolna; Pp – miękisz palisadowy; Sp – miękisz gąbczasty. Podziałka odpowiada 50 μm

Temat 3. Wyniki cd

Tab. 7. Porównanie anatomii nerwu głównego u tetraploidalnych i kontrolnych roślin agrestu 'Biały Triumf' i AGR9

Tetraploid	Średnica nerwu głównego (μm)	Grubość floemu (μm)	Grubość ksylemu (μm)	Powierzchnia komórek nerwu głównego (μm^2)
'White Triumph'				
Kontrola 2x	563.45* d $\pm$ 30.25	75.15 c $\pm$ 5.69	68.60 d $\pm$ 10.73	765.7 b $\pm$ 120.12
A7/2-4x	933.04 a $\pm$ 54.51	90.03 a $\pm$ 8.29	114.36 a $\pm$ 9.10	2371.5 a $\pm$ 245.52
A8/1-4x	870.58 b $\pm$ 45.08	83.51 b $\pm$ 6.09	87.46 b $\pm$ 7.28	2219.1 a $\pm$ 213.14
A15/1-4x	724.20 c $\pm$ 49.47	82.45 b $\pm$ 5.73	80.70 c $\pm$ 6.76	2295.5 a $\pm$ 215.18
AGR9				
Kontrola 2x	596.22* c $\pm$ 65.96	74.18 c $\pm$ 6.25	81.58 b $\pm$ 10.55	1011.8 b $\pm$ 230.08
A51/1-4x	818.57 b $\pm$ 51.43	57.73 d $\pm$ 6.53	87.33 b $\pm$ 10.83	3182.5 a $\pm$ 329.84
B15/3-4x	990.94 a $\pm$ 79.42	86.74 b $\pm$ 8.99	107.52 a $\pm$ 11.59	3324.7 a $\pm$ 318.45
B20/1-4x	849.50 b $\pm$ 56.60	100.70 a $\pm$ 7.58	107.35 a $\pm$ 12.03	3432.4 a $\pm$

* Średnie w kolumnach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie wg testu Duncana przy $p = 0,05$, $\pm$ SD (odchylenie standardowe)



Fot. 7. Przekroje poprzeczne nerwu głównego u roślin tetraploidalnych i kontrolnych agrestu odmiany 'Biały Triumf' (po lewej) oraz genotypu AGR9 (po prawej). Abe – skórka górna; Ade – skórka dolna; GT – tkanka podstawowa; La – blaszka liściowa; Mr – nerw główny; Ph – łyko; Vb – wiązka przewodząca; X – drewno

Wnioski

1. Tetraploidalne rośliny czereśni 'Merton Premier' i 'Tamara' rosnące drugi rok w polu miały mniejszą dynamikę wzrostu niż ich diploidalne odpowiedniki.
2. Blaszki liściowe i długość ogonków liściowych roślin tetraploidalnych 'Biały Triumf' i AGR9 były większe w porównaniu do ich diploidalnych odpowiedników.
3. Grubość dolnej skórki, grubość miększu palisadowego i gąbczastego, średnica nerwu głównego, grubość ksylemu oraz powierzchnia komórek nerwu głównego liścia była większa u roślin tetraploidalnych 'Biały Triumf' i AGR9 w porównaniu do ich diploidalnych odpowiedników.

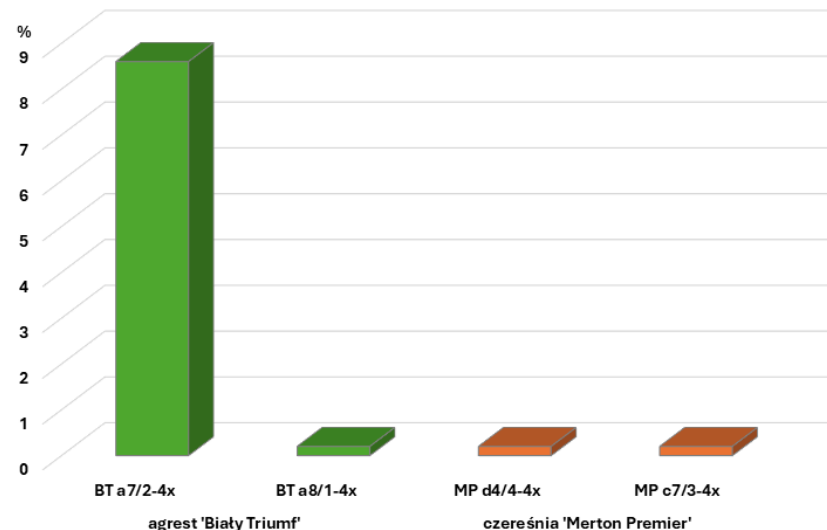
Temat 4. Wyniki

Zadanie 1. Ocena zmian genetycznych uzyskanych tetraploidów w odniesieniu do genotypów wyjściowych – analiza AFLP

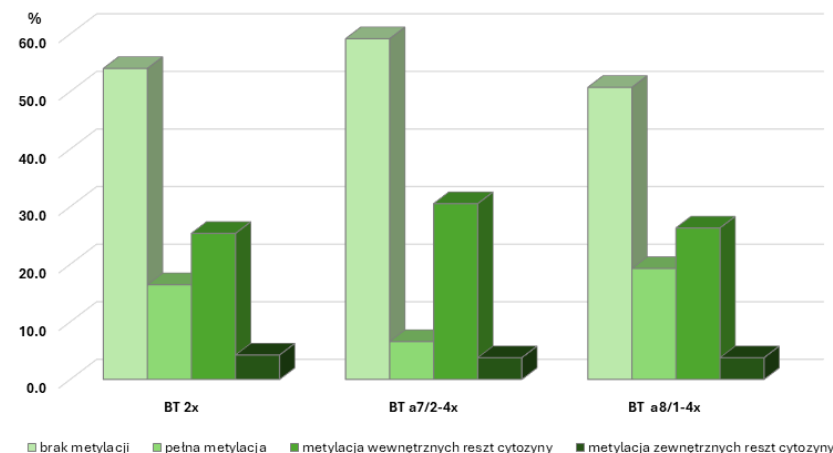
- ✓ spośród wybranych 10 par starterów AFLP siedem generowało produkty amplifikacji u badanych genotypów agrestu i czereśni;
- ✓ całkowita liczba produktów amplifikacji uzyskanych dla agrestu linii BT a7/2-4x wynosiła 450, z czego 39 było produktami polimorficznymi (8,66%), a dla linii BT a8/1-4x – 416, z czego tylko 1 produkt był polimorficzny (0,22%) (Rys. 1);
- ✓ całkowita liczba produktów amplifikacji dla czereśni, zarówno linii MP d4/4-4x, jak i linii MP c7/3-4x wynosiła 505, z czego jedynie 1 produkt PCR był polimorficzny (0,2%).

Zadanie 2. Ocena stopnia metylacji uzyskanych tetraploidów w odniesieniu do genotypów wyjściowych – analiza MSAP

- ✓ z testowanych 8 par starterów wszystkie pozwalały na amplifikację DNA i w sumie amplifikowały 213 produktów PCR dla agrestu (BT 2x, BT a7/2-4x i BT a8/1-4x);
- ✓ u genotypu diploidalnego agrestu 'Biały Triumf' 46% DNA ulegało metylacji, podczas gdy jeden z tetraploidów (BT a8/1-4x) charakteryzował się znacząco wyższym (49,3%), a drugi (BT a7/2-4x) znacząco niższym poziomem metylacji (40,8%) (Rys. 2);
- ✓ tetraploidy linii BT a7/2-4x charakteryzowały się 10% mniejszym stopniem pełnej metylacji DNA, ale zdecydowanie większym stopniem metylacji wewnętrznych reszt cytozyny w sekwencjach 5'-CmCGG-3' (ponad 30% metylacji);
- ✓ tetraploidy linii BT a8/1-4x charakteryzowały się wyższym poziomem pełnej metylacji (ponad 19%) w porównaniu do diploida, także poziom metylacji wewnętrznych reszt cytozyny był nieznacznie wyższy niż u diploida;
- ✓ poziom metylacji zewnętrznych reszt cytozyny w sekwencjach 5'-mCCGG-3' u tetraploidów agrestu był na tym samym poziomie (3,8%) i był niższy niż u diploida o 0,4% (Rys. 2);
- ✓ analiza MSAP wykazała różnice w poziomie metylacji pomiędzy badanymi genotypami ale nie wykazała różnic pomiędzy roślinami tego samego genotypu znajdującymi się na różnych etapach wzrostu.



Rys. 1. Średni stopień polimorfizmu u tetraploidalnych linii agrestu oraz czereśni



Rys. 2. Ocena rodzaju metylacji DNA badanych tetraploidalnych linii agrestu

Wnioski:

1. Wykazano zmiany genetyczne tetraploidów w odniesieniu do genotypów wyjściowych na poziomie 8,6% dla linii BT a7/2-4x oraz 0,2% dla pozostałych linii agrestu i czereśni.
2. Linie tetraploidalne agrestu różniły się poziomem i rodzajem metylacji w porównaniu do diploida. Linia BT a7/2-4x charakteryzowała się niższym poziomem metylacji DNA (o 5,2%), natomiast linia BT a8/1-4x charakteryzowała się wyższym poziomem metylacji DNA w porównaniu do diploidalnego odpowiednika (o 3,3%).

Prezentacja wyników

Konferencje krajowe

Aleksandra Trzewik, Małgorzata Podwyszyńska, Marek Szymajda „Ocena fenotypowa tetraploidalnych roślin czereśni (*Prunus avium* L.)”, Poster, Konferencja Naukowa "Wyzwania współczesnego ogrodnictwa", 4-6 czerwca 2025, Lublin.

Aleksandra Trzewik, Monika Działkowska, Łukasz Seliga „Ocena fenotypowa tetraploidalnych roślin agrestu (*Ribes glossularia* L.)”, Poster, LX Zjazd Polskiego Towarzystwa Botanicznego "Natura zmian..... z botaniką w przyszłość", 30.06.-04.07.2025, Katowice.

Publikacje naukowe

Aleksandra Trzewik, Małgorzata Podwyszyńska, Mirosława Cieślińska „*In vitro* tetraploid induction of the gooseberry (*Ribes glossularia* L.)” 2025, Scientia Horticulturae 352,114431 (140 pkt MNiSW, IF 4,2)

Aleksandra Trzewik, Agnieszka Marasek-Ciołakowska, Monika Działkowska „Comparative study of induced tetraploid and diploid gooseberry (*Ribes grossularia* L.): growth, stomatal, and leaf anatomical traits” złożone do druku w czasopiśmie Agronomy 19.11.2025r. 100 pkt MNiSW, IF 3,4