

ZADANIE 48

Analiza genetyczna wybranych genotypów brzoskwini (*Prunus persica* L.) z wykorzystaniem czynnika układu krzyżowań i markerów molekularnych

POSTĘP BIOLOGICZNY
Okres realizacji – 2021

KIEROWNIK ZADANIA 48

dr inż. Marek Szymajda

e-mail: Marek.Szymajda@inhort.pl

Wykonawcy:

dr Anita Kuras, dr hab. Agnieszka Masny, dr hab. Stanisław Pluta, dr Sylwia Keller-Przybyłkiewicz, dr Mariusz Lewandowski, dr Łukasz Seliga, mgr Jolanta Kubik, mgr Agnieszka Walencik, mgr Bogusława Idczak, mgr Agnes Zmarlickine Laszlovszky, mgr Renata Czarnecka, Grażyna Lewandowska, Piotr Skręta, Krystyna Strączyńska, Tadeusz Filipczak, Julia Supeł, Igor Stankiewicz, Katarzyna Skrzeczkowska, Helena Kapera, Grażyna Charusta, Aleksandra Supeł

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



CELE PROJEKTU

W 2021 r. realizowano trzy tematy badawcze, których celem było:

- ✓ **Ocena wzrostu siewek 20 rodzin mieszańcowych brzoskwini pokolenia F_1 (*temat badawczy 1*)**
- ✓ **Ocena zróżnicowania genetycznego form rodzicielskich brzoskwini oraz przygotowanie biblioteki polimorficznych amplikonów do weryfikacji ich potomstwa (*temat badawczy 2*)**
- ✓ **Ocena polimorfizmu DNA roślin pokolenia F_1 należących do 20 rodzin mieszańcowych i eliminacja roślin pochodzących z nieplanowanego krzyżowania (*temat badawczy 3*)**

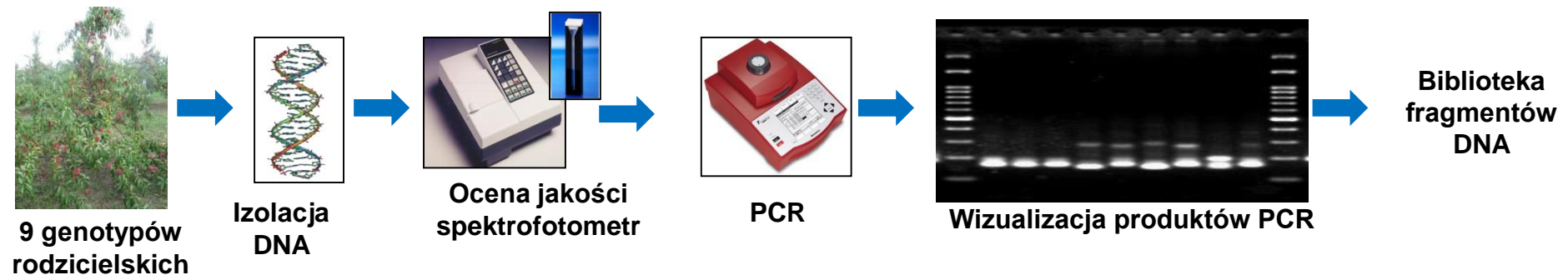
**Tematy zrealizowano zgodnie z harmonogramem,
a cele osiągnięto**

MATERIAŁY I METODY

1. Ocena wzrostu siewek 20 rodzin mieszańcowych brzoskwini pokolenia F₁

- ✓ 4 genotypy mateczne ('Elberta', 'Madison', 'Nr 3884' i 'Fioletowomiąższowa' – miąższ koloru bordowego)
- ✓ 5 genotypów ojcowskich ('Royal Glory', 'Harrow Diamond', 'Harblaze', 'KD1/2/19' i 'T5')

2. Ocena zróżnicowania genetycznego form rodzicielskich brzoskwini oraz przygotowanie biblioteki polimorficznych ampikonów do weryfikacji ich potomstwa



3. Ocena polimorfizmu DNA roślin pokolenia F₁ należących do 20 rodzin mieszańcowych i eliminacja roślin pochodzących z nieplanowanego krzyżowania



WYNIKI

Temat badawczy 1

- ✓ Średnio dla form matecznych największą siłę wzrostu, wyrażoną średnicą pnia pędu przewodnikowego, posiadały siewki uzyskane z genotypu Fioletowomiąszowa. Przeciętnie dla 5 rodzin, w których genotyp ten był formą mateczną, średnica pnia siewek wynosiła 26,7 mm.
- ✓ Najmniejszą średnicę pnia miały siewki uzyskane z odmian matecznych 'Madison' (24,4 mm) i 'Elberta' (25,2 mm).
- ✓ Najsilniej rosły siewki uzyskane ze skrzyżowania genotypów: Fioletowomiąszowa × KD1/2/19 – 27,9 mm oraz Nr 3884 × T5 – 27,9 mm.
- ✓ Najślabszy wzrost wykazały siewki z rodziny mieszańców 'Elberta' × 'Harblaze' – 22,6 mm.



Wnioski

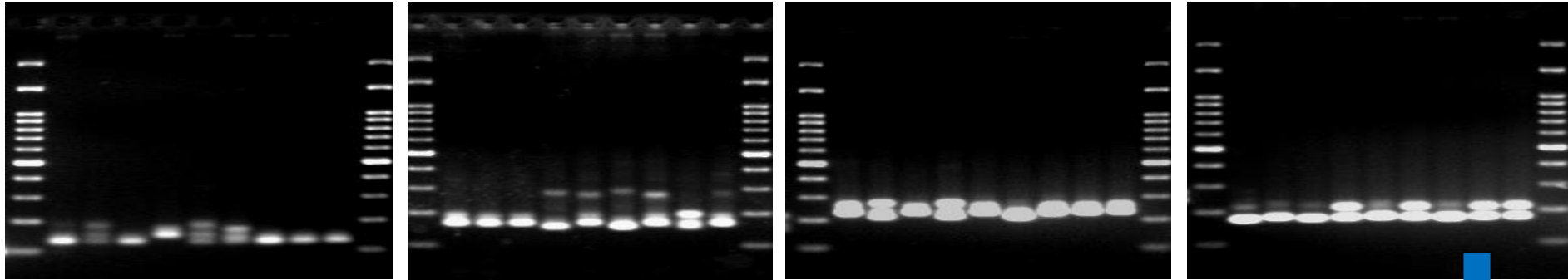
1. Siła wzrostu siewek brzoskwini uzależniona jest od krzyżowanych form rodzicielskich.
2. Spośród ocenionych 20 rodzin mieszańcowych najsilniejszy wzrost wykazują siewki, których formą mateczną jest genotyp Fioletowomiąszowa.

WYNIKI

Temat badawczy 2

- Analizowano 9 genotypów rodzicielskich - 4 formy mateczne oraz 5 ojcowskich różniących się pod względem cech fenotypowych owoców (żółto-, biało- i bordowomiąższowe, okrągłe i płaskie, z omszoną skórką i nektaryny oraz o miąższu miękkim i twardym - twardki), wywodzących się z różnych rejonów geograficznych świata. Łącznie przeprowadzono 1080 reakcji amplifikacji z 20 oligonukleotydami, uzyskano 97 amplikonów, z których 7 było monomorficznych.
- Długość polimorficznych amplikonów charakteryzujących testowane geotypy rodzicielskie brzoskwini wahała się od 50 do 1070 pz.
- Genotypy B-114 (fioletowomiąższowa), B-T5, 'Royal Glory', 'Madison', 'Harrow Diamont', B-3884, 'Elberta', KD1/2/19 i 'Harblaze' scharakteryzowano na podstawie odpowiednio 35, 36, 32, 30, 38, 35, 41, 35 i 36 polimorficznych fragmentów DNA.
- Utworzono bibliotekę polimorficznych amplikonów w reakcji z 20 parami oligonukleotydów. Uzyskane dane posłużyły do wytypowania 6 starterów dla każdej z dwudziestu rodzin siewek do potwierdzenia tożsamości mieszańców uzyskanych w podzadaniu 1.

WYNIKI TEMAT BADAWCZY 2 c.d.



Przykładowe elektroforegramy produktów amplifikacji metodą SSR na matrycach DNA z genotypów rodzicielskich brzoskwini

STARTER	B-114	B-T5	Royal Glory	Madison	Harrow Diamont	B-3884	Elberta	KD1/2/19	Harblaze
BPPCT006	90,140,190	90,130,190	50,90,190	90,140,190	90,140,190	90,140,190	90,140	90,140	90,190
BPPCT009	160,180,220,280	160,190,220,280	160,180,220,280	160,210	160,190,210,230	180,190,230	180,220	180,210	180,210
BPPCT014	210	210	210,240	200	200	200	240	240	200

Fragment biblioteki ampikonów SSR, uzyskanych w reakcji z 20 oligonukleotydami, dla genotypów rodzicielskich brzoskwini

Wnioski

1. Uzyskane ampikony umożliwiają pełne rozróżnienie analizowanych form rodzicielskich brzoskwini.
2. Utworzona biblioteka polimorficznych ampikonów umożliwia weryfikację mieszańców z planowanych krzyżowań.

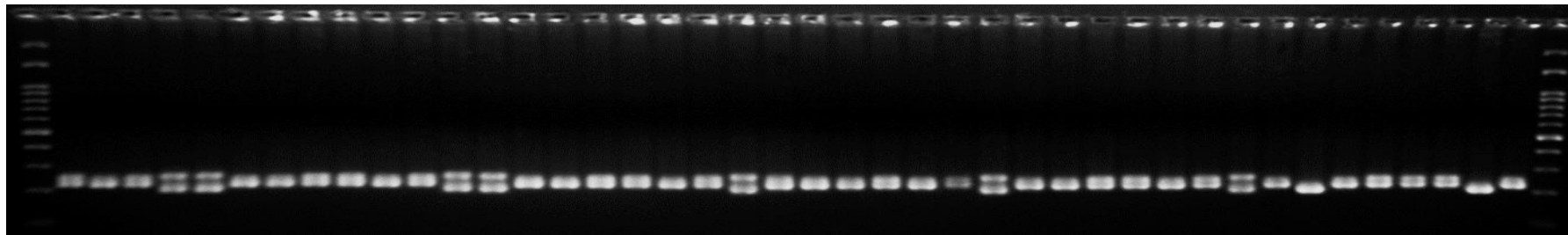
WYNIKI

Temat badawczy 3

- Na matrycach DNA wyekstrahowanych z 800 roślin należących do 20 rodzin uzyskanych w wyniku krzyżowań czterech form matecznych: Elberta, Madison, B-3884 i B-114 z pięcioma ojcowskimi: 'Royal Glory', 'Harblaze', 'Harrow Diamond', KD1/2/19, B-T5, przeprowadzono analizę polimorfizmu DNA metodą SSR.
- Łącznie przeprowadzono 15120 reakcji amplifikacji z 6 parami oligonukleotydów, uzyskano 482 amplikony, z których 8 było monomorficznych.
- Długość polimorficznych amplikonów charakteryzujących testowane geotypy rodzicielskie brzoskwini wynosiła od 50 do 1070 pz.
- Określono procentowy udział amplikonów pochodzących od formy matecznej, który wynosił od 58% do 80% .
- Potwierdzono status mieszańca dla 799 z 800 testowanych genotypów.
- Najwyższy procentowy udział formy matecznej obserwowano na matrycach DNA z mieszańców nr: 161-200 ('Elberta' × B-T5), 321-360 ('Madison' × KD 1/2/19), 361-400 ('Madison' × B-T5), 401-440 (B-3884 × 'Royal Glory'), 441-480 (B-3884 × 'Harblaze'), 601-640 (B-114 × 'Royal Glory') i 681-720 (B-114 × 'Harrow Diamond'), który wynosił odpowiednio 80%, 75% i 71%, 73%, 77%, 71% i 74%, najniższy zaś dla mieszańców nr 1-40 o rodowodzie 'Elberta' × 'Royal Glory', 41-80 ('Elberta' × 'Harblaze'), 201-240 ('Madison' × 'Royal Glory'), 241-280 ('Madison' × 'Harblaze'), 521-560 (B-3884 × KD 1/2/19), 561-600 (B-3884 × B-T5) oraz 721-760 (B-114 × KD 1/2/19) i wynosił on odpowiednio 60%, 59%, 58%, 60%, 61%, 60% oraz 60%.
- Nie potwierdzono tożsamości mieszańca dla genotypu nr 8 pochodzącego z kombinacji krzyżowań k. 18 (B-114 × 'Harrow Diamond').

WYNIKI

Temat badawczy 3



Przykładowy elektroforogram produktów amplifikacji, mieszańce z krzyżowania k1 ('Elberta' × 'Royal Glory')

MIESZAŃCE (NR)	1-40	41-80	81-120	121-160	161-200	201-240	241-280
Liczba amplikonów mieszańców	31	20	33	30	23	24	20
Produkty mono M/O	1	3	2	2	8	5	5
Produkty polimorf. M	18	10	20	19	12	11	9
Produkty polimorf. O	12	7	11	9	3	8	6
Pokrewieństwo M:	60%	59%	64,5%	68%	80%	58%	60%
Pokrewieństwo O:	40%	41%	35,5%	32%	20%	42%	40%

Fragment tabeli przedstawiający średnią ocenę pokrewieństwa genetycznego mieszańców względem form rodzicielskich (M/O) i potwierdzenie statusu mieszańca w oparciu o analizę profili segregacyjnych.

Wnioski

1. Rośliny pokolenia F₁ należące do 20 rodzin mieszańcowych o potwierdzonym statusie genetycznym stanowią 799 z 800 testowanych genotypów brzoskwini.