

SPRAWOZDANIE MERYTORYCZNE

z realizacji zadania na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej w 2014 roku

Tytuł zadania: **Określenie zróżnicowania genetycznego linii wsobnych kukurydzy za pomocą markerów molekularnych**

Celem tematu badawczego było określenie zróżnicowania genetycznego linii wsobnych kukurydzy za pomocą markerów molekularnych. W tym celu przeprowadzono ocenę fenotypową linii wsobnych kukurydzy oraz wykorzystano dwa typy markerów RAPD i SSR do oceny zróżnicowania genetycznego materiałów kukurydzy.

Materiał badawczy stanowiło 100 linii wsobnych kukurydzy, które wysiano w doświadczeniu polowym, bez powtórzeń. Linie wsobne, zostały wyprowadzone w polskich spółkach hodowlanych i charakteryzują się zróżnicowanym pochodzeniem. Nasiona wysiano na poletkach a następnie wykonano pomiary cech bonitacyjnych i morfologicznych. Oceny bonitacyjne i morfologiczne roślin wykonywano zgodnie z kolejnością pojawiania się cech w czasie wegetacji. W celu oceny zmienności fenotypowej linii kukurydzy przeprowadzono obserwacje 22 cech, z czego 11 to cechy morfologiczne ocenione w skali 9-cio stopniowej, a pozostałe 11 stanowią cechy użytkowe. Wartości obserwacji oraz pomiarów cech biometrycznych zostały poddane opracowaniom statystycznym, co pozwoliło na poznanie zakresu zmienności cech badanych u linii oraz na wstępne ich pogrupowanie z wykorzystaniem analizy skupień. Dla każdej z cech obliczono zakres zmienności, średnią arytmetyczną, odchylenie standardowe i współczynnik zmienności. Zastosowana analiza wielowymiarowa pozwoliła na obliczenie wartości odległości euklidesowych, które obrazują podobieństwo wielocechowe badanych linii. Pozwoliło to na utworzenie macierzy odległości pomiędzy badanymi liniami. Wykonano także aglomerację badanych linii, co pozwoliło na wykreślenie dendrogramów podobieństwa pomiędzy liniami. Aglomerację wykonano stosując metodę pojedynczych wiązań pomiędzy gałęziami drzewa.

Materiał badawczy do analiz molekularnych stanowiły siewki linii wsobne kukurydzy, pochodzące z kolekcji roboczych firm hodowlanych w dużym stopniu homozygotyczne wyprowadzone z materiałów wyjściowych o różnym pochodzeniu. Genomowe DNA do badań wyizolowane zostało przy użyciu zestawów kolumniekowych firmy Qiagen do izolacji DNA z tkanek roślinnych. Wyizolowane DNA genomowe posłużyło do analiz molekularnych mających na celu określenie dystansu genetycznego pomiędzy badanymi genotypami kukurydzy. Do analizy zróżnicowania genetycznego wykorzystano polimorfizm losowo powielonych fragmentów DNA, czyli markery RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) oraz amplifikowane sekwencje mikrosatelitarne, czyli markery molekularne SSR dostępne w bazie danych MaizeGDB (www.maizegdb.org). W pierwszym etapie badań przetestowano startery na wybranych 12 genotypach. Na podstawie uzyskanych wartości współczynnika PIC dla wybrano testowane startery do dalszych. Uzyskane produkty polimorficzne przekształcono na system binarny, a otrzymane macierze poddana zostały analizom statystycznym. Wykryty polimorfizm DNA pozwolił na obliczenie współczynników podobieństwa genetycznego pomiędzy badanymi liniami kukurydzy, a następnie wykreślenie dendrogramów obrazującego dystans genetyczny pomiędzy nimi. Dendrogramy podobieństwa genetycznego linii kukurydzy zostały wykonane z zastosowaniem metody UPGMA na podstawie podobieństwa genetycznego obliczonego według wzoru Nei (1978). Dodatkowo, aby lepiej zobrazować zróżnicowanie w badanym materiale wykonano analizę składowych głównych (PCA). Obliczenia wykonano w programie NTsys ver 2.2.

Na podstawie cech morfologicznych i użytkowych stwierdzono wyraźne zróżnicowanie badanych linii wsobnych kukurydzy. Zróżnicowanie linii było większe dla cech morfologicznych, o czym świadczą wartości współczynników zmienności oraz zakresy zmienności cech. Najniższą zmienność badane linie kukurydzy wykazują dla zawartości suchej masy oraz liczby dni od siewu do pylenia i znamionowania.

Zastosowane markery RAPD charakteryzowały się dużą specyficznością w określaniu polimorfizmu DNA badanych linii kukurydzy, a uzyskane wyniki, które pozwoliły na utworzenie postaci binarnej macierzy zero-jedynkowej, są wiarygodne i powtarzalne i pozwoliły na efektywne

genotypowanie badanego materiału. Wykazały duże zróżnicowanie genetyczne badanych linii kukurydzy, jednak genotypy zgromadzone w kolekcji Hodowli Roślin Smolice i Małopolskiej Hodowli Roślin charakteryzują się podobnym tłem genetycznym. Linie kukurydzy K510A i K493A były najbardziej oddalone genetycznie od pozostałych. Dendrogram podzielił badane genotypy na dwa główne klastry, jeden zawierał dwa genotypy, drugi dzielił się na 2 kolejne podgrupy, natomiast analiza składowych głównych pozwoliła na wyróżnienie 2 zróżnicowanych grup linii kukurydzy.

Użyte startery SSR pozwoliły na amplifikację od dwóch do siedmiu produktów amplifikacji. Wielkości produktów amplifikacji mieściły się w przedziale 65 – 300 pz. Markery te pozwoliły także na efektywne genotypowanie badanych linii kukurydzy i wykazały duże zróżnicowanie genetyczne badanego materiału. Najbardziej oddalone genetycznie od pozostałych, według tych analizy, okazały się linie kukurydzy SM43 i SM51. Wykreślony dendrogram podzielił badane linie na dwie główne gałęzie, jeden zawierał dwa genotypy, drugi dzielił się na 3 kolejne podgrupy. Najliczniejsze skupisko zawierało 69 genotypów (linii) pochodzących ze zarówno Smolice, jak i Kobierzyc. Analiza składowych głównych pozwoliła na wyróżnienie 3 grup skupiających linie pochodzące z jednej firmy hodowlanej.

Prof. dr hab. Henryk Bujak