

## SPRAWOZDANIE MERYTORYCZNE

z realizacji zadania nr 34 na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej w 2015 roku

### Temat 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 zastosowano dwa typy markerów molekularnych RAPD i SSR.

Materiał badawczy stanowiło 100 linii wsobnych kukurydzy, które wysiano w doświadczeniu polowym. Linie wsobne, zostały wyprowadzone w polskich spółkach hodowlanych z materiałów wyjściowych o różnym pochodzeniu. Nasiona wysiano na poletkach, a następnie na roślinach wykonano obserwacje i pomiary cech morfologicznych oraz użytkowych. Oceny bonitacyjne i morfologiczne roślin wykonywano zgodnie z kolejnością pojawiania się cech w czasie wegetacji. W celu oceny zmienności fenotypowej badanych linii kukurydzy przeprowadzono obserwacje 22 cech, z czego 11 to cechy morfologiczne ocenione w skali 9-cio stopniowej, a 11 stanowią cechy użytkowe. Wartości obserwacji oraz pomiarów cech biometrycznych zostały poddane opracowaniom statystycznym, co pozwoliło na poznanie zakresu zmienności cech u badanych linii oraz na wstępne ich pogrupowanie pod względem podobieństwa morfologicznego wykorzystując w tym celu analizę 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, a następnie wykreślono dendrogramy podobieństwa pomiędzy nimi. Aglomerację linii wykonano stosując metodę pojedynczych wiązań pomiędzy gałęziami drzewa. Materiał badawczy do analiz molekularnych stanowiły siewki analizowanych linii wsobnych kukurydzy, które były w dużym stopniu homozygotyczne. Genomowe DNA 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](http://www.maizegdb.org)). W pierwszym etapie badań przetestowano startery na wybranych genotypach. Na podstawie uzyskanych wartości współczynnika PIC wybrano testowane startery do dalszych analiz. Uzyskane produkty polimorficzne przekształcono na system binarny, a otrzymane macierze poddane zostały analizom statystycznym. Wykryty polimorfizm DNA pozwolił na obliczenie współczynników podobieństwa genetycznego pomiędzy badanymi liniami kukurydzy, a następnie wykreślenie dendrogramów obrazujących 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, alby lepiej zobrazować zróżnicowanie w badanym materiale wykonano analizę składowych głównych (PCA). Obliczenia wykonano w programie R wykorzystując pakiet ADEgenet oraz Pegaz.

Na podstawie cech morfologicznych i użytkowych stwierdzono wyraźne zróżnicowanie badanych linii wsobnych kukurydzy. Zmienność linii jest większe dla cech morfologicznych, o czym świadczą wysokie 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.

Wybrano markery RAPD, które charakteryzowały się specyficznością i wiarygodnością w określaniu polimorfizmu DNA badanych linii kukurydzy, co pozwoliło na efektywne genotypowanie badanego materiału i wykazanie dużego zróżnicowania genetycznego badanych linii kukurydzy. Najbardziej oddalone genetycznie od pozostałych analizowanych linii kukurydzy były KB6 i KB33 (dystans 0,98), a najbardziej podobne KB19 i KB 20 (dystans 0,362). Dendrogram podzielił badane linie na dwa główne klastry, jeden zawierał cztery genotypy, drugi dzielił się na 2 kolejne podgrupy.

Markery SSR także umożliwiły efektywne genotypowanie badanego materiału i wykazały jego duże zróżnicowanie. Jednak linie zgromadzone w kolekcji Hodowli Roślin Smolice i Małopolskiej Hodowli Roślin w Kobierzycach charakteryzują się podobnym tłem genetycznym. Linie KB 10 i KB 2) były najbardziej oddalone genetycznie od pozostałych analizowanych (dystansu genetycznego 0,644). Dendrogram podzielił badane genotypy na dwie główne gałęzie, z których jedna zawierała jeden genotyp, druga dzieliła się na 3 kolejne podgrupy. Najliczniejsze skupisko zawierało 92 genotypów pochodzących ze Smolice i Kobierzyc. Analiza składowych głównych nie pozwoliła na wyróżnienie grup zawierających genotypy pochodzące z jednej firmy hodowlanej.

Prof. dr hab. Henryk Bujak