

Zadanie 71 Analiza genetyczna i molekularna wybranych genotypów jabłoni (*Malus domestica*) dla skrócenia okresu juvenilnego i poprawy jakości owoców

W roku 2014 badania prowadzono w ramach 3 tematów badawczych:

Temat badawczy 1

Ocena możliwości skrzyżowania w układzie czynnikowym 11 genotypów jabłoni w oparciu o wykonanie 28 kombinacji zapyleń dla uzyskania mieszańców pokolenia F₁

Celem badań była ocena możliwości skrzyżowania wybranych genotypów jabłoni dla uzyskania populacji siewek (pokolenia F₁), o krótkim okresie juvenilnym i wysokiej jakości owoców. Przedmiotem badań były rośliny 11 genotypów jabłoni, które skrzyżowano w układzie czynnikowym (4♀ x 7♂). Genotypami maticznymi były: 'Alwa', 'Golden Delicious', 'Free Redstar', 'Gold Milenium' (odmiany o krótkim okresie juvenilnym), a genotypami ojcowskimi były: 'Glogierówka', 'Kronselka', 'Kosztela', 'McIntosh', 'Oliwka Żółta', 'Malinowa Oberlandzka', 'Koksa Pomarańczowa' (odmiany "stare", dzisiaj już nie uprawiane w Polsce, ale znane ze specyficznego, unikalnego smaku owoców). Odmiany 'Free Redstar' i 'Gold Milenium' są ponadto donorami cech odporności na parcha jabłoni i małej podatności na mączniaka jabłoni, a odmiana 'Free Redstar' jest także donorem małej podatności na zarazę ogniową. Wykonano 28 kombinacji krzyżowań, zapylono 3.765 kwiatów, uzyskano 790 owoców, z których wydobyto 5.074 nasion. Uzyskane nasiona poddano stratyfikacji. Łącznie wyprodukowano 4.563 siewki, czyli 89,9 % w stosunku do liczby wysianych nasion. Tak dobry wynik udało się uzyskać dzięki sprzyjającym warunkom pogodowym wiosną w trakcie wykonywania programu krzyżowań (brak przymrozków wiosennych).

Temat badawczy 2

Ocena stopnia polimorfizmu DNA 11 form rodzicielskich jabłoni i utworzenie biblioteki polimorficznych fragmentów DNA, mogących różnicować mieszańce wytworzone w 28 kombinacjach krzyżowań

Celem badań było utworzenie biblioteki amplikonów polimorficznych dla form rodzicielskich jabłoni użytych w programie krzyżowań oraz wytypowanie w oparciu o tę bibliotekę populacji mapującej do sporządzania szkieletu mapy genetycznej jabłoni. Materiał do badań stanowiły rośliny 14 odmian jabłoni: 'Alwa', 'Golden Delicious', 'Free Redstar', 'Gold Milenium', 'Glogierówka', 'Kronselka', 'Kosztela', 'McIntosh', 'Oliwka Żółta', 'Malinowa Oberlandzka', 'Koksa Pomarańczowa' i 'Sunrise' (stanowiące formy rodzicielskie w programie krzyżowań) oraz 'Red Delicious' i 'Macoun' (dostępni przodkowie form rodzicielskich z programu krzyżowań). Polimorfizm DNA oceniano w testach SSR, umożliwiającym analizę regionów mikrosatelitarnych w genomach roślinnych. Łącznie na matrycach DNA wydzielonego z badanych genotypów rodzicielskich jabłoni (metoda wg Aldrich i Cullis) przeprowadzono 1.344 reakcje amplifikacji. W reakcjach z 15 z 16 wytypowanych starterów mikrosatelitarnych uzyskano polimorficzne amplikony o długości od 100 do 320 pz, różnicujące wszystkie analizowane genotypy. Zgromadzona biblioteka produktów polimorficznych posłużyła do określenia pokrewieństwa badanych form rodzicielskich. Stopień pokrewieństwa badanych genotypów określono w przedziale od 27 do 68%. Wyróżniono trzy klastery pokrewieństwa genetycznego. W pierwszym znalazły się odmiany: 'Alwa', 'McIntosh', 'Macoun' i 'Sunrise', w drugim odmiany 'Malinowa Oberlandzka', 'Koksa Pomarańczowa', jak również 'Free Redstar' i 'Red Delicious'. W trzecim klastrze zgrupowano odmiany 'Gold Milenium', 'Golden Delicious' oraz 'Kosztela'. Odległe genetycznie okazały się odmiany 'Glogierówka', 'Oliwka Żółta' i 'Kronselska', nie wykazujące pokrewieństwa z żadną z wymienionych poprzednio odmian. Profile genetyczne wygenerowano w reakcjach z 10 starterami, a każda z analizowanych odmian była scharakteryzowana na podstawie 19-25 polimorficznych fragmentów DNA, w pełni odróżniających jej DNA od materiału genetycznego pozostałych badanych genotypów.

Temat badawczy 3

Analiza genotypowa mieszańców z 2 wybranych populacji hodowlanych jabłoni uzyskanych z programu krzyżowań wykonanego w roku 2013, w których formy rodzicielskie różnią się skrajnie długością fazy juvenilnej

Celem badań było określenie statusu mieszańców z zaplanowanych zapyleń (eliminacja form 'outcross') dla genotypów z wybranych populacji jabłoni. Materiał roślinny stanowiło 200 siewek jabłoni, należących do dwóch populacji hodowlanych 'Free Redstar' x 'Oliwka Żółta' oraz 'Free Redstar' x 'Sunrise', uzyskanych w wyniku krzyżowania w roku 2013 genotypów rodzicielskich, zróżnicowanych pod względem długości fazy juvenilnej. Ocenę statusu genetycznego mieszańców przeprowadzono poprzez porównanie ich wzorów prążkowych, uzyskanych w reakcji z 10 starterami SSR, ze wzorami form rodzicielskich i ocenę mendlowskiego rozkładu zidentyfikowanych w populacjach alleli. Analizę pokrewieństwa genotypów potomnych i form rodzicielskich przeprowadzono przy użyciu programu XLSTAT 2007. W wyniku przeprowadzonych analiz SSR-PCR, w badanych populacjach mapujących zidentyfikowano 5 genotypów pochodzących z niekontrolowanych zapyleń (2 genotypy w rodzinie siewek 'Free Redstar' x 'Oliwka Żółta' i 3 genotypy w rodzinie siewek 'Free Redstar' x 'Sunrise').