

ZADANIE 41

BADANIA NAD GENETYCZNYM UWARUNKOWANIEM WYBRANYCH CECH UŻYTKOWYCH TRUSKAWKI (POWTARZANIE OWOCOWANIA, WIELKOŚĆ I JAKOŚĆ PŁONU, ZDROWOTNOŚĆ ROŚLIN) W OPARCIU O ANALIZĘ BIOMETRYCZNĄ I MOLEKULARNĄ

POSTĘP BIOLOGICZNY
Okres realizacji: 2021

KIEROWNIK ZADANIA 41

dr hab. Agnieszka Masny, prof. IO
e-mail: Agnieszka.Masny@inhort.pl

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

Wykonawcy: dr hab. Stanisław Pluta, dr Sylwia Keller-Przybyłkiewicz, dr Anita Kuras, dr Mariusz Lewandowski, dr Sylwester Masny, dr Łukasz Seliga, dr Marek Szymajda, mgr Jarosław Kołodziejcki, mgr Agnieszka Walencik, mgr Renata Czarnecka, mgr Bogusława Idczak, mgr Jolanta Kubik, mgr Agnes Zmarlickine-Laszlovszky, mgr Hubert Głos, Krzysztof Pęzik, Marzena Śnieguła, Katarzyna Skrzeczkowska, Igor Stankiewicz, Krystyna Strączyńska, Ilona Skiba, Maria Kalisiak, Arkadiusz Wieczorek



CELE PROJEKTU

1. Ocena zróżnicowania genetycznego potencjalnych 15 form rodzicielskich truskawki odznaczających się wydłużoną porą dojrzewania owoców i/lub zwiększoną zawartością witaminy C w owocach.
2. Wykonanie 28 kombinacji zapyleń w obrębie badanych genotypów dla uzyskania wiedzy czy krzyżując te genotypy w układzie diallelicznym (IV metoda Griffinga) możliwe jest uzyskanie potomstwa o zdolności roślin do powtarzania owocowania (termin kwitnienia i dojrzewania owoców), dobrej wielkości i jakości plonu (wielkość, atrakcyjność i jędrność owoców, zawartość ekstraktu, związków fenolowych i kwasu askorbinowego) oraz odporności/małej podatności roślin na choroby liści i zgniliznę korony truskawki.

Cele zostały osiągnięte.

MATERIAŁY I METODY

TEMAT BADAWCZY 1. Ocena stopnia polimorfizmu DNA 15 potencjalnych form rodzicielskich użytych w programie krzyżowań

- materiał: rośliny 15 odmian truskawki: 'Selva', 'Monterey', 'Portola', 'Albion', 'Harmony', 'San Andreas', 'Vima Rina', 'Alba', 'Cory', 'Florence', 'Destiny', 'Malwina', 'Grandarosa', 'Panvik', 'Hokent'.
- izolacja DNA z liści (metoda Doyle i Doyle, 1990)
- reakcje amplifikacji (20 par starterów SSR)
- analiza bioinformatyczna wygenerowanych amplikonów pod kątem oceny stopnia ich powinowactwa genetycznego
- utworzenie biblioteki polimorficznych amplikonów, które umożliwią weryfikację mieszańców z planowanych krzyżowań,
- opracowanie dendrogramu obrazującego pokrewieństwo genotypów (metoda wg Jaccarda/UPGMA).

MATERIAŁY I METODY

TEMAT BADAWCZY 2. Ocena możliwości skrzyżowania 8 genotypów truskawki w oparciu o wykonanie zaplanowanych kombinacji zapyleń w układzie diallelicznym, IV metoda Griffinga

- materiał : doniczkowe rośliny truskawki ‘Florence’, ‘Destiny’, ‘Cory’, ‘Hokent’, ‘Selva’, ‘Albion’, ‘San Andreas’, ‘Harmony’
- wykonanie programu krzyżowań w układzie diallelicznym według IV metody Griffinga (łącznie 28 kombinacji)

Genotyp mateczny	Genotyp ojcowski							
	Florence	Destiny	Cory	Hokent	Selva	Albion	San Andreas	Harmony
Florence		x	x	x	x	x	x	x
Destiny			x	x	x	x	x	x
Cory				x	x	x	x	x
Hokent					x	x	x	x
Selva						x	x	x
Albion							x	x
San Andreas								x
Harmony								

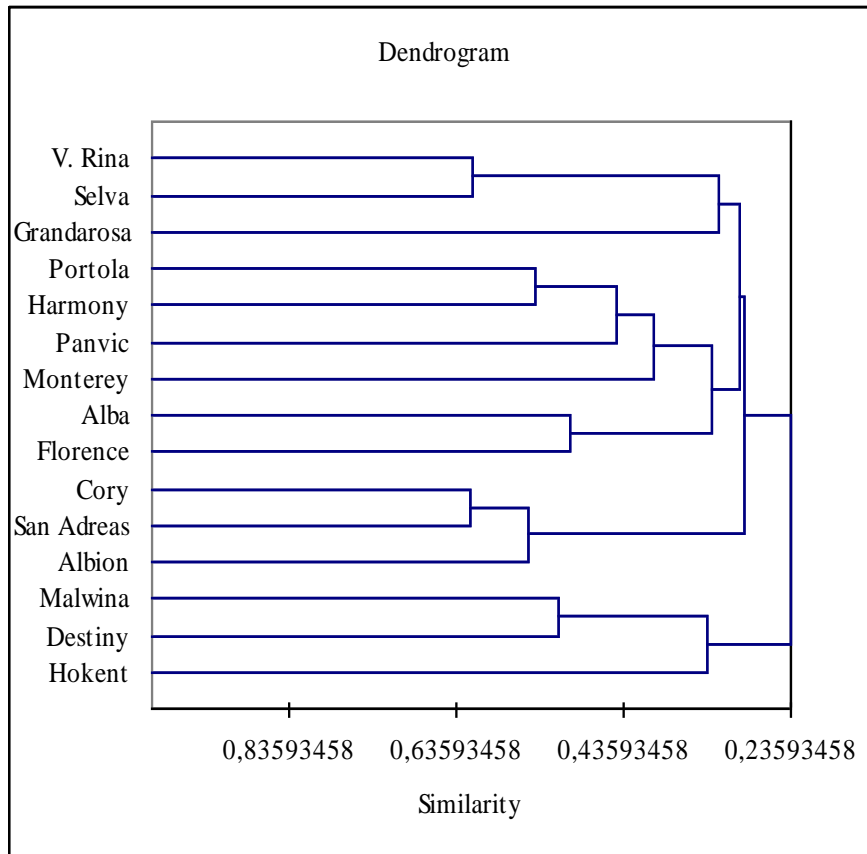
- zbiór owoców (ważenie i liczenie), ekstrakcja i wysiew nasion
- produkcja siewek mieszańcowych oraz sadzonek odmian rodzicielskich
- przygotowanie pola pod założenie doświadczenia (zwalczanie chwastów trwałych, odkażanie, nawożenie, uprawa)

TEMAT BADAWCZY 1. Ocena stopnia polimorfizmu DNA 15 potencjalnych form rodzicielskich użytych w programie krzyżowań

- Łącznie przeprowadzono 1800 reakcji amplifikacji.
- Uzyskano 150 ampliconów, z których 92% było polimorficznych.
- Długość polimorficznych ampliconów charakteryzujących testowane genotypy rodzicielskie truskawki wahała się od 115 do 450 pz.
- Testowane odmiany truskawki scharakteryzowano na podstawie 36-48 polimorficznych fragmentów DNA.
- Pokrewieństwo badanych genotypów truskawki, określone w oparciu o dane wygenerowane metodą SSR, kształtowało się na poziomie 10-62%.
- Najwyższe wskaźniki pokrewieństwa genetycznego obserwowano dla genotypów 'Cory'-'San Andreas' i 'V. Rina'-'Selva' (ok. 62%) oraz 'Monterey'-'Albion' (58%), 'Portola'-'Harmony' (54%), 'Panvic'-'Harmony' (50%).
- Najniższy wskaźnik pokrewieństwa genetycznego odnotowano dla genotypów 'Destiny'-'San Andreas' (10%), 'Destiny'- 'Monterey' (13%), 'Destiny'-'Selva' (14%), 'Destiny'-'V. Rina' (15%), i 'Destiny'-'Cory' (16%).

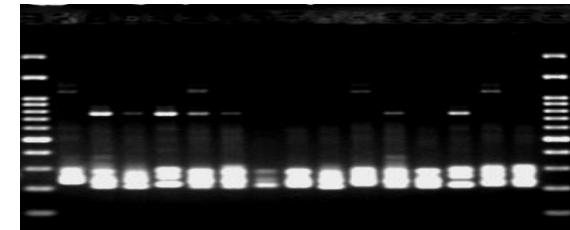
TEMAT BADAWCZY 1 (cd.)

Na dendrogramie wyróżniono cztery skupienia. W klastrach występowały głównie odmiany o wspólnym rodowodzie lub i kraju pochodzenia, choć znalazły się w nich także odmiany o nieznanym pochodzeniu.

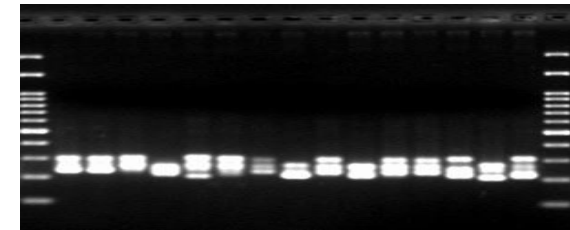


Przykładowe elektroforegramy produktów amplifikacji metodą SSR na matrycach DNA z analizowanych roślin truskawki z parą starterów: a) FvH4176; b) ARSFL010; c) ARSFL022; d) FrH4177

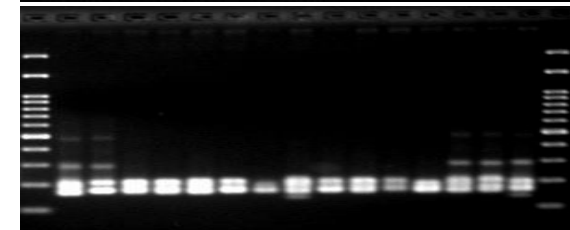
a)



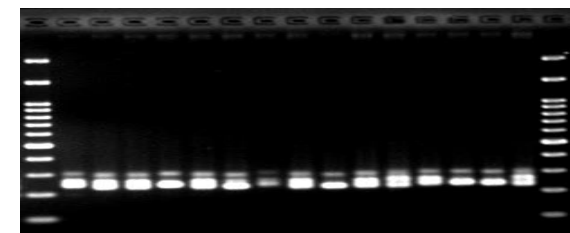
b)



c)



d)



TEMAT BADAWCZY 2. Ocena możliwości skrzyżowania 8 genotypów truskawki w oparciu o wykonanie zaplanowanych kombinacji zapyleń w układzie diallelicznym, IV metoda Griffinga

- Łącznie zapylono 1470 kwiatów i uzyskano 870 owoców (1316 kwiatów i 796 owoców w programie krzyżowań wykonanym wczesną wiosną oraz 154 kwiaty i 74 owoce w programie uzupełniającym wykonanym wczesną jesienią).
- Liczba zapylonych kwiatów w poszczególnych kombinacjach krzyżowań była zróżnicowana i wynosiła od 34 ('Cory' × 'Selva') do 80 ('Selva' × 'San Andreas').
- Liczba uzyskanych w wyniku zapyleń owoców wynosiła od 15 ('Cory' × 'Albion') do 43 ('Hokent' × 'Selva').
- Średnia efektywność krzyżowania, wyrażona jako procent uzyskanych owoców w stosunku do zapylonych kwiatów, wynosiła 61%.
- Najlepszą efektywnością krzyżowania, wynoszącą powyżej 90%, odznaczała się kombinacja krzyżowań odmian 'Destiny' × 'Cory' (91,4%).
- Najniższą efektywność krzyżowania wykazano w przypadku kombinacji krzyżowań 'Cory' × 'Albion' (30,6%).



Owoce rozwijające się z zapylonych kwiatów



Wyekstrahowane nasiona

TEMAT BADAWCZY 2. (cd.)

- Najwięcej siewek uzyskano w kombinacjach krzyżowań: 'Cory' × 'Hokent' (190 szt.), 'Florence' × 'Harmony', 'Destiny' × 'Cory', 'Destiny' × 'Harmony', 'Cory' × 'Albion', 'Cory' × 'Harmony', 'Hokent' × 'Harmony', 'Albion' × 'Harmony' (po 160 szt.).
- W przypadku siedmiu kombinacji krzyżowań ('Florence' × 'Hokent', 'Destiny' × 'Hokent', 'Destiny' × 'Selva', 'Hokent' × 'Albion', 'Selva' × 'San Andreas', 'Selva' × 'Harmony', 'Albion' × 'San Andreas') otrzymano mniejszą, niż wymagana liczbę siewek (odpowiednio 74; 80; 59; 51; 57; 63 i 49 szt.). Dlatego też dla tych kombinacji wykonano krzyżowania uzupełniające i doprodukowano brakującą liczbę siewek.
- W przypadku wszystkich kombinacji krzyżowań finalnie uzyskano liczbę siewek, wystarczającą do założenia w 2022 roku doświadczenia porównawczego w polu oraz doświadczenia fitopatologicznego (pod kątem badania tolerancji genotypów na porażenie przez *Phytophthora cactorum*) w warunkach kontrolowanych.

Uzyskane siewki będą wykorzystane do założenia doświadczeń w celu przeprowadzenia dalszych badań dla określenia genetycznego uwarunkowania wybranych cech użytkowych truskawki (termin kwitnienia i dojrzewania owoców, wielkość i jakość plonu - wielkość, atrakcyjność i jędrność owoców, zawartość ekstraktu, związków fenolowych i kwasu askorbinowego, podatność roślin na choroby liści i zgniliznę korony truskawki) oraz potencjału genetycznego (ogólna i specyficzna zdolność kombinacyjna) badanych odmian rodzicielskich i ich przydatności, jako donorów wymienionych cech, do poszerzania zmienności genetycznej.

WNIOSKI

- 1. Analizowane odmiany truskawki scharakteryzowano na podstawie 36-48 polimorficznych fragmentów DNA, w pełni odróżniających jej DNA od materiału genetycznego pozostałych badanych genotypów.**
- 2. Pokrewieństwo genetyczne badanych form rodzicielskich kształtowało się na poziomie 10-62%**
- 3. Możliwe jest uzyskanie żywotnych nasion, a następnie licznego potomstwa w wyniku krzyżowań w układzie diallelicznym (IV metoda Griffinga) odmian truskawki 'Florence', 'Destiny', 'Cory', 'Hokent', 'Selva', 'Albion', 'San Andreas', 'Harmony', oddalonych od siebie genetycznie i odznaczających się zróżnicowanym terminem dojrzewania owoców, pożądaną wielkością i jakością owoców oraz małą podatnością na choroby liści i systemu korzeniowego pod warunkiem zapewnienia optymalnych warunków środowiskowych w czasie zapylenia i zapłodnienia kwiatów oraz rozwoju zawiązków owoców, a także w fazie kiełkowania nasion.**