

## **Zadanie 72 Ocena potencjału genetycznego wybranych genotypów borówki wysokiej (*Vaccinium corymbosum* L.) w oparciu o czynnikowy układ krzyżowań.**

W roku 2014 w ramach tego Zadania realizowano 4 tematy badawcze:

### ***Temat badawczy 1***

#### Ocena możliwości krzyżowania 12 genotypów borówki wysokiej po przeprowadzeniu planowanego programu zapyleń

Celem tego tematu badawczego była ocena możliwości skrzyżowania badanych genotypów borówki wysokiej w układzie czynnikowym i uzyskanie populacji siewek pokolenia  $F_1$ , charakteryzujących się zmiennością genetyczną i fenotypową. Materiałem badawczym było 12 genotypów (odmian) borówki wysokiej, które pochodzą z 3 rejonów geograficznych, tj. z USA, z Nowej Zelandii i z Polski. Charakteryzują się one wieloma wartościowymi cechami użytkowymi i dużą zmiennością genetyczną i fenotypową. Wiosną 2014 roku wykonano program krzyżowań w układzie czynnikowym (7x5). W sumie wykonano 35 kombinacji krzyżowań (rodzin mieszańców). Do programu krzyżowań wybrano 7 form męskich ('Aurora', 'Bluecrop', 'Brigitta Blue', 'Chandler', 'Draper', 'Duke' i 'Northland') i 5 żeńskich ('Earliblue', 'Pliszka', 'Polaris', 'Toro' i 'Weymouth'). Przy wyborze form rodzicielskich do krzyżowań brano pod uwagę ich cechy fenotypowe oraz opisy pomologiczne i pokrewieństwo genetyczne DNA (temat 2). W programie krzyżowań w sumie zapylono 2.715 kwiatów i uzyskano 1.365 owoców (średnio 50,3% zawiązanych owoców). Wynika z tego, że użyte w programie krzyżowań formy rodzicielskie krzyżują się i dobrze zawiązują owoce. Z owoców z zapyleń uzyskano łącznie 6.964 nasion dla wszystkich ocenianych rodzin mieszańcowych. Średnia liczba uzyskanych nasion z 1 owocu wynosiła 5,4 szt. i wahała się od 2,7 do 9,3 szt. i uzależniona była od kombinacji krzyżowań oraz procentu zawiązanych i liczby uzyskanych owoców z zapyleń. Wskazuje to na to, że odmiany męskie różnią się pod względem możliwości uzyskania owoców przy zapyleniu pyłkiem tych samych form żeńskich. Uzyskane nasiona podzielono na dwie, podobne części i przeznaczono do badań w ramach Tematu badawczego 3.

### ***Temat badawczy 2***

#### Ocena stopnia polimorfizmu DNA 12 form rodzicielskich użytych w programie krzyżowań

Celem badań była ocena zróżnicowania genetycznego analizowanych form rodzicielskich borówki wysokiej oraz utworzenie biblioteki polimorficznych fragmentów DNA, mogących różnicować mieszańce uzyskane w wyniku przeprowadzonych krzyżowań. Badania prowadzono na roślinach 36 genotypów należących do 12 odmian analizowanych w temacie 1, a pochodzących z różnych gospodarstw ogrodniczych. Polimorfizm DNA oceniano na podstawie wyników testów SSR (Simple Sequence Repeat), umożliwiających analizę fragmentów satelitarnych w genomach. Z roślin wszystkich genotypów wyekstrahowano DNA (metoda Doyle i Doyle). Amplifikację prowadzono termocyklerze firmy MJ Research, w obecności 45 starterów SSR, RAPD i AFLP (15 starterów/ zestawów starterów dla każdej z metod), wytypowanych z baz danych dostępnych dla rodzaju *Vaccinium*. Produkty amplifikacji ze starterami SSR i AFLP rozdzielano przy użyciu bioanalyzera Agilent 2100, a ze starterami RAPD w 1,5% żelu agarozowym. Łącznie przeprowadzono 9.000 reakcji amplifikacji. Użycie do analiz 45 starterów, umożliwiło amplifikację 469 fragmentów DNA (15 starterów SSR/102 amplikony, 15 starterów RAPD/132 amplikony i 15 starterów AFLP/235 amplikonów). Polimorficzne amplikony uzyskano z 9 starterami SSR (61 amplikonów/120-560 pz), 14 starterami RAPD (68 amplikonów/200-790 pz) oraz 7 starterami AFLP (169 amplikonów/100-930 pz). Zastosowane techniki umożliwiły uzyskanie bogatej biblioteki fragmentów polimorficznych, użytecznej w dalszych pracach nad zróżnicowaniem i oceną pokrewieństwa odmian borówki. Wyniki analizy genomu borówki wysokiej, dotyczące oceny homogenności roślin w obrębie analizowanych odmian, potwierdziły brak homogeniczności w obrębie puli testowanych roślin odmiany 'Draper'. Stosując metodę Jaccard'a do analizy wyników uzyskanych metodami SSR, RAPD i AFLP zaobserwowano zgrupowanie genotypów w klasach, w których odmiany wywodziły się od genotypu 'Earliblue', 'Brigitta' lub 'Bluecrop'. Najbardziej oddalonym genetycznie genotypem borówki wysokiej była odmiana 'Northland' ('Berkeley' x 19 H).

### **Temat badawczy 3**

#### Optymalizacja pozbiorczego traktowania nasion dla uzyskania dobrego kiełkowania i wzrostu siewek

Celem tematu badawczego była ocena dwóch metod pozbiorczego traktowania nasion borówki wysokiej dla określenia siły, równomierności i liczby wykiełkowanych nasion dla każdej rodziny mieszańców. Materiałem badawczym były nasiona uzyskane z owoców z zapyleń (35 kombinacji krzyżowań), (temat nr 1). W sumie 6964 nasiona podzielono na dwie podobne części. Dla pierwszej metody traktowania (bez stratyfikacji) przeznaczono 3.479 nasion, które zostały bezpośrednio wysiane do doniczek z odpowiednim podłożem. W drugiej metodzie (ze stratyfikacją) wykorzystano 3.485 nasion i po ich wysianiu w to samo podłoże poddano je stratyfikacji w inkubatorze MIR-554 typ „SANYO”, w temperaturze 4°C przez 4 tygodnie. Określono procent skiełkowanych nasion oraz liczbę uzyskanych siewek dla poszczególnych rodzin mieszańców oraz dla obu metod rozbiorczego traktowania nasion (I metoda – bez stratyfikacji) i (II metoda – stratyfikacja). W sumie dla wszystkich rodzin mieszańców i obu metod traktowania nasion uzyskano 3.625 siewek, co stanowi średnio 54,1% ogółu nasion przygotowanych i traktowanych do kiełkowania. Liczba siewek borówki wysokiej uzyskana bez stratyfikacji (I metoda) wynosiła 2166 szt. (64,7% z ogólnej liczby nasion) i była wyższa w porównaniu do nasion poddanych stratyfikacji (II metoda) - 1.459 siewek (43,5%). Średnia liczba uzyskanych siewek była wyższa (43-82 szt.) dla I metody, w porównaniu do II metody (23-66 szt.) i uzależniona była ona od form rodzicielskich użytych w poszczególnych kombinacjach krzyżowań. Podobne wyniki stwierdzono dla procentu siewek uzyskanych z nasion bezpośrednio wysianych (I metoda) i poddanych procesowi stratyfikacji w niskich temperaturach (II metoda).

### **Temat badawczy 4**

#### Wstępna ocena cech fenotypowych siewek w warunkach szklarniowych i polowych.

Celem tych badań było określenie potencjału genetycznego form rodzicielskich, użytych w programie krzyżowań, na podstawie ogólnej i specyficznej zdolności kombinacyjnej (GCA i SCA) i określenie ich przydatności do tworzenia nowej zmienności genetycznej. Materiałem roślinnym były siewki borówki wysokiej (2100 szt.) należące do 35 rodzin mieszańców, wyprodukowane w kontrolowanych warunkach szklarniowych, opisanych wcześniej (Temat badawczy 3). Wszystkie siewki poddano ocenie siły wzrostu po 1, 2 i 3 miesiącach, licząc od momentu ich indywidualnego pikowania do doniczek. Zastosowano dwie metody: 1. Ocena bonitacyjna, w skali 1-9, w której 1 oznacza siewki najslabiej rosnące, 5 – średnio-silnie rosnące, a 9 – siewki najsilniej rosnące; 2. Pomiar wysokości (cm) – siewki mierzono od powierzchni ziemi w doniczce do jej wierzchołka. Pomiar i obserwacje wykonano oddzielnie dla obu pozbiorczych metod traktowania nasion, tj. I metoda (bez stratyfikacji), II metoda (stratyfikacja). Nie stwierdzono dużego zróżnicowania siły wzrostu ocenianych siewek w obrębie poszczególnych rodzin mieszańców, jak również dla obu metod traktowania nasion. Ze względu na młody wiek siewek i małe zróżnicowanie wyników oceny siewek pod względem siły wzrostu niemożliwe było oszacowanie efektów ogólnej i specyficznej zdolności kombinacyjnej (GCA i SCA) dla tej cechy. Uzyskane siewki posłużyły do założenia metodycznego doświadczenia na polu w Sadzie Pomologicznym w Skierniewicach.