



**GENETYKA APLIKACYJNA
ROŚLIN**
wyzwania XXI wieku
22-24.09.2021 Warszawa

OCENA ZRÓŻNICOWANIA GENETYCZNEGO BORÓWKI CZERNICY (*VACCINIUM MYRTILLUS* L.) W CELU SELEKCJI GENOTYPÓW DO WYTWARZANIA AUTOTETRAPLOIDÓW

WSTĘP I CEL PRACY

Celem pracy była ocena zróżnicowania genetycznego taksonów borówki czernicy (*Vaccinium myrtillus*). Na podstawie uzyskanych danych taksony najbardziej zróżnicowane genetycznie wytypowano do procesu poliploidyzacji umożliwiającego uzyskanie autotetraploidów przypuszczalnie zdolnych do krzyżowania z borówką wysoką (*Vaccinium corymbosum*).

W celu wprowadzenia nowych cech do odmian borówki wysokiej (naturalnego tetraploida) z borówki czernicy (naturalnego diploida) konieczne jest podwojenie liczby chromosomów u gatunku dzikiego, tak by pokonać barierę krzyżowalności spowodowaną blokiem triploidalnym. W naturze borówka czernica rozmnaża się głównie wegetatywnie i jest rośliną częściowo samozgodną, a samozapylenie prowadzi do depresji wsobnej. Zmienność genetyczna tego gatunku w danym rejonie może być niska, dlatego konieczne jest wykonanie oceny zróżnicowania genetycznego taksonów pochodzących z różnych siedlisk.

MATERIAŁY I METODY

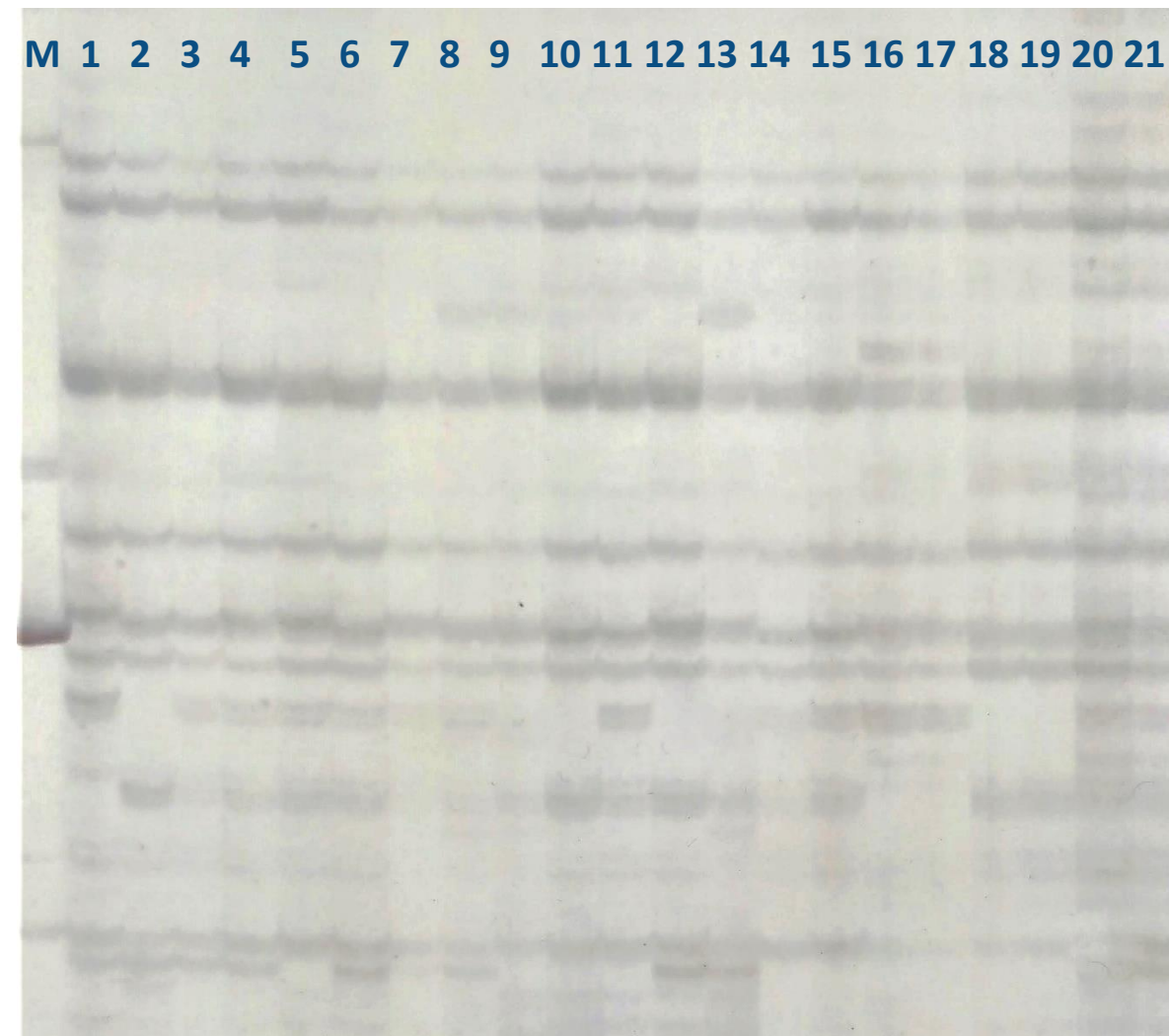
Do badań wykorzystano 21 taksonów borówki czernicy zgromadzonych w kolekcji Zakładu Hodowli Roślin Ogrodniczych, IO-PIB, pozyskanych z różnych siedlisk w Polsce (Nadleśnictwo Skierniewice: Bolimowski Park Krajobrazowego i kompleksu leśnego Zwierzyniec) oraz Norwegii.

Analizę polimorfizmu wybranych taksonów wykonano przy użyciu techniki AFLP-PCR z wykorzystaniem enzymów restrykcyjnych *Pst*I i *Mse*I (Vos i wsp. 1995) oraz 10 par starterów różnicujących (Money i wsp. 1995, Bachem i wsp. 1996) (Tab. 1). Podczas analiz otrzymanych profili DNA oceniano liczbę produktów AFLP (wyraźne i powtarzalne produkty oceniano jako obecne (1) lub nieobecne (0) na żelach) oraz ich wielkość. Na podstawie otrzymanych danych z wykorzystaniem metody UPGMA przygotowano dendrogram obrazujący zróżnicowanie genetyczne badanych taksonów.



WYNIKI

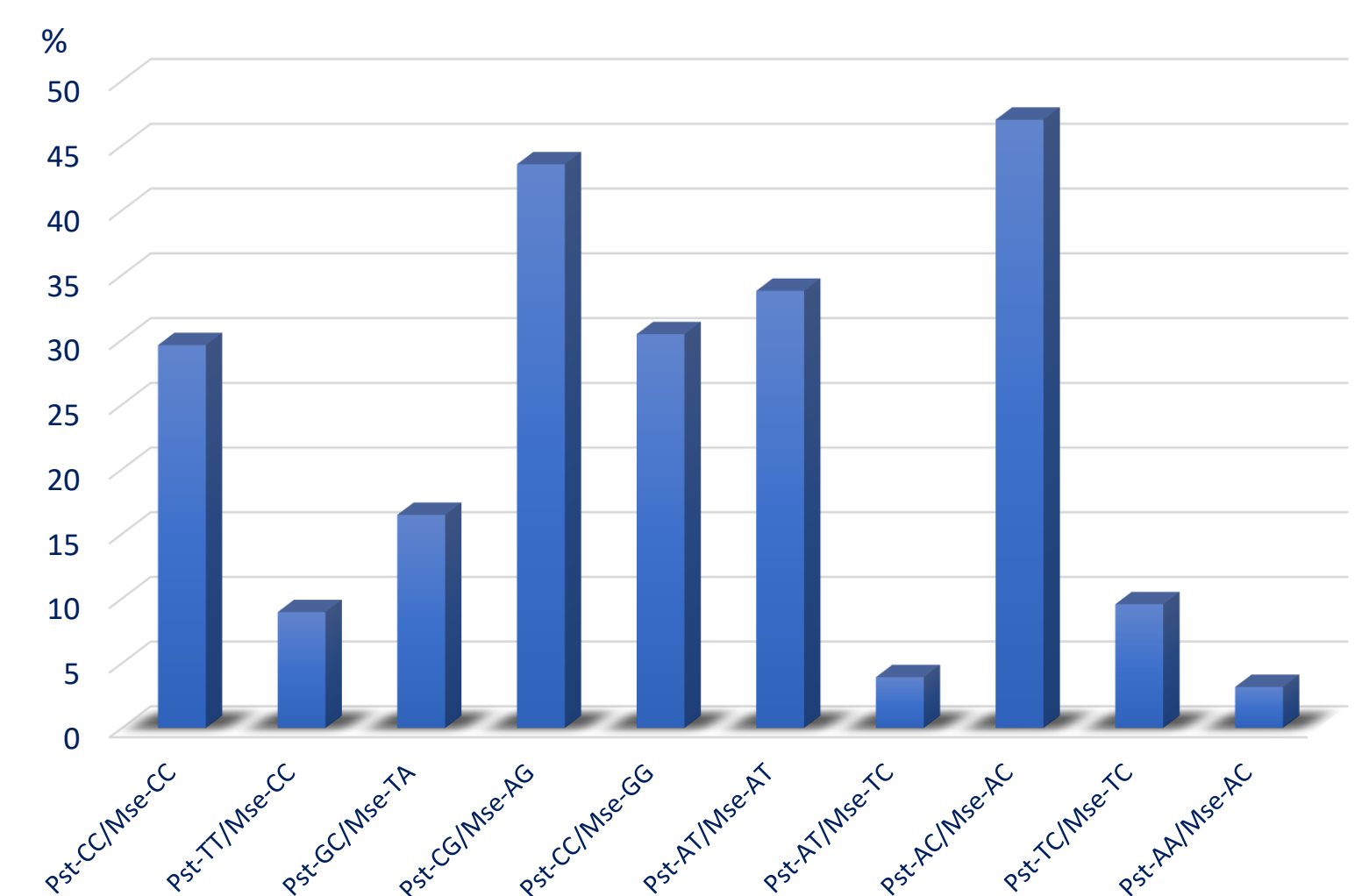
Spośród wybranych do analiz starterów AFLP wszystkie generowały produkty polimorficzne u badanych taksonów borówki czernicy (Tab. 1, Rys. 1). Całkowita liczba produktów amplifikacji wynosiła 924, z czego 204 (22.1%) było polimorficzne. Średnio na jedną parę starterów przypadły 92.4 amplifikowane odcinki DNA, zaś na jeden takson – 44 amplikony. Liczba fragmentów generowanych przez jedną parę starterów wahała się od 62 do 148. Rozmiary uzyskanych prążków wynosiły od 50 do 900 par zasad. Średnio na parę starterów przypadło 20.4 fragmentu polimorficznego, a na pojedynczy takson – 9.7. Startery AFLP inicjowały amplifikację od 3 do 50 produktów polimorficznych. Średnio startery AFLP generowały od 3.16% do 46.99% produktów polimorficznych (Rys. 2).



Rys. 1. Przykładowy elektroforegram uzyskany w wyniku amplifikacji DNA przy zastosowaniu starterów Pst-CC/Mse-GG. M - marker wielkości DNA; 1-21 - numery taksonów.

Tab. 1. Charakterystyka starterów AFLP użytych do oceny zróżnicowania genetycznego taksonów borówki czernicy.

Lp.	pary starterów AFLP	sekwencja starterów [5' → 3']	liczba produktów amplifikacji		wielkość produktów amplifikacji [pz]
			monomorficzne	polimorficzne	
1	Pst-CC/Mse-CC	GACTGCGTACATGCAGCC/GATGAGTCTGAGTAACC	69	29	100 – 700
2	Pst-TT/Mse-CC	GACTGCGTACATGCAGTT/GATGAGTCTGAGTAACC	61	6	200 – 600
3	Pst-GC/Mse-TA	GACTGCGTACATGCAGGC/GATGAGTCTGAGTAATA	71	14	50 – 500
4	Pst-CG/Mse-AG	GACTGCGTACATGCAGCG/GATGAGTCTGAGTAAG	35	27	100 – 800
5	Pst-CC/Mse-GG	GACTGCGTACATGCAGCC/GATGAGTCTGAGTAAGG	48	21	200 – 900
6	Pst-AT/Mse-AT	GACTGCGTACATGCAGAT/GATGAGTCTGAGTAAAT	98	50	150 – 700
7	Pst-AT/Mse-TC	GACTGCGTACATGCAGAT/GATGAGTCTGAGTAATC	98	4	50 – 800
8	Pst-AC/Mse-AC	GACTGCGTACATGCAGAC/GATGAGTCTGAGTAAAC	44	39	100 – 750
9	Pst-TC/Mse-TC	GACTGCGTACATGCAGTC/GATGAGTCTGAGTAATC	104	11	150 – 800
10	Pst-AA/Mse-AC	GACTGCGTACATGCAGAA/GATGAGTCTGAGTAAAC	92	3	150 – 800



Rys. 2. Procent polimorficznych produktów AFLP generowanych przez wybrane do oceny zróżnicowania genetycznego taksonów borówki czernicy startery AFLP.

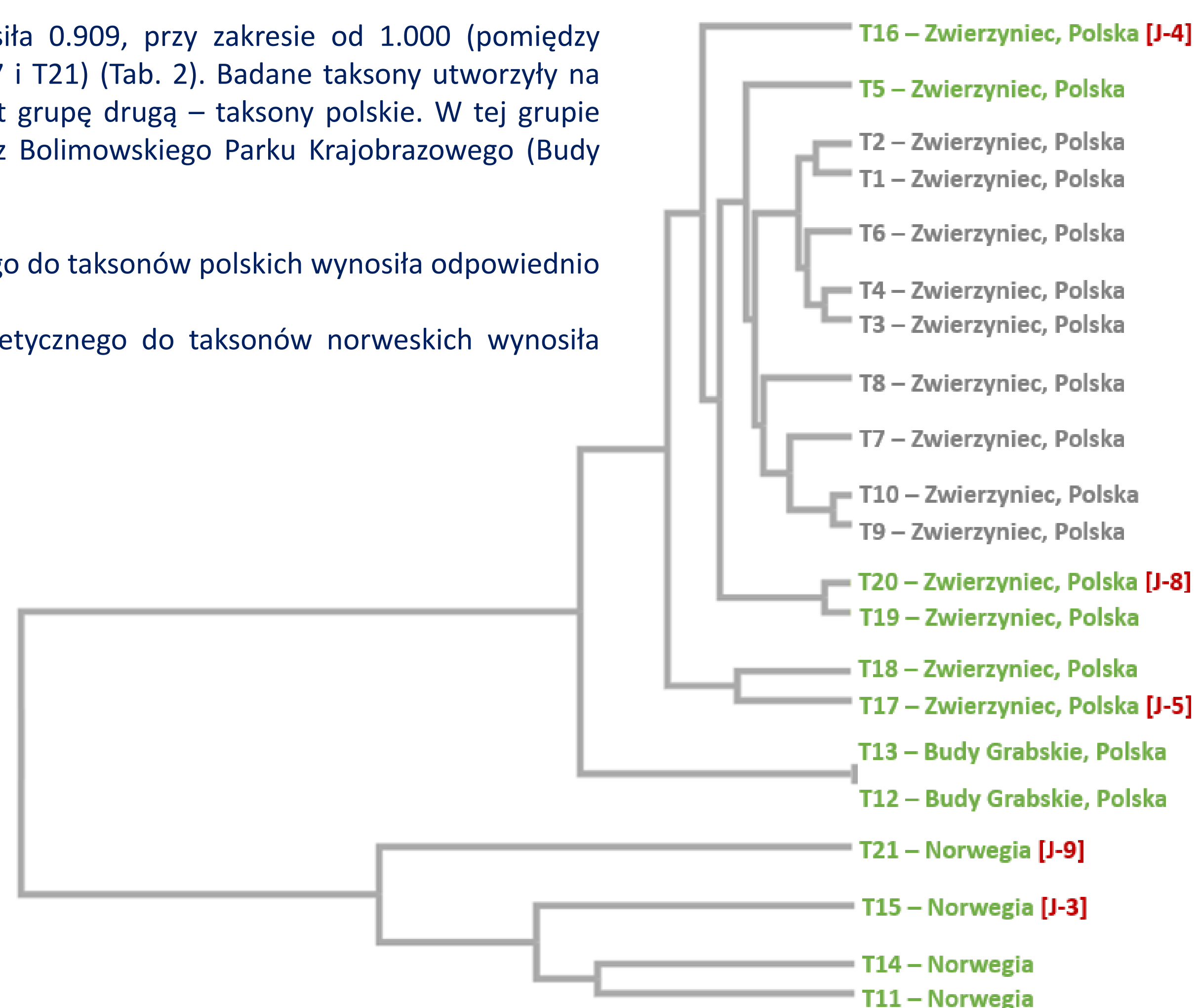
Średnia wartość indeksów podobieństwa genetycznego badanych taksonów była wysoka i wynosiła 0.909, przy zakresie od 1.000 (pomiędzy taksonami T12 i T13) oraz 0.992 (taksony T19 i T20 oraz T9 i T10) do 0.758 (pomiędzy taksonami T17 i T21) (Tab. 2). Badane taksony utworzyły na dendrogramie dwie grupy (Rys. 3). Grupę pierwszą tworzą taksony pochodzące z Norwegii, natomiast grupę drugą – taksony polskie. W tej grupie wyodrębniono dwie klasy: pierwsza obejmuje nieróżniące się genetycznie dwa taksony pochodzące z Bolimowskiego Parku Krajobrazowego (Budy Grabskie) oraz druga obejmuje taksony pochodzących z kompleksu leśnego Zwierzyniec (Skierniewice).

Do dalszych prac w kierunku poliploidyzacji wytypowano taksony:

- ✓ pochodzące z Norwegii – taksony T15 oraz T21 (średnia wartość indeksów zróżnicowania genetycznego do taksonów polskich wynosiła odpowiednio 0.195 oraz 0.233);
- ✓ pochodzące z Polski – taksony T16, T17 oraz T20 (średnia wartość indeksów zróżnicowania genetycznego do taksonów norweskich wynosiła odpowiednio – 0.197, 0.204, 0.197).

Tab. 2. Matryca indeksów podobieństwa taksonów borówki czernicy określonych na podstawie polimorfizmu markerów AFLP.

	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T13	T14	T15	T16	T17	T18	T19	T20	T21	
T2	0.988																					
T3	0.978	0.986																				
T4	0.984	0.988	0.990																			
T5	0.974	0.970	0.972	0.978																		
T6	0.986	0.982	0.980	0.990	0.976																	
T7	0.972	0.976	0.978	0.984	0.978	0.978																
T8	0.974	0.970	0.969	0.978	0.961	0.984	0.978															
T9	0.964	0.968	0.970	0.976	0.970	0.974	0.980	0.970														
T10	0.972	0.972	0.970	0.976	0.974	0.982	0.984	0.978	0.992													
T11	0.817	0.819	0.821	0.819	0.828	0.818	0.816	0.812	0.822	0.819												
T12	0.933	0.937	0.939	0.937	0.931	0.943	0.937	0.943	0.933	0.941	0.818											
T13	0.933	0.937	0.939	0.937	0.931	0.943	0.937	0.943	0.933	0.941	0.818	1.000										
T14	0.832	0.835	0.840	0.835	0.837	0.830	0.832	0.828	0.835	0.832	0.938	0.817	0.817									
T15	0.805	0.807	0.806	0.811	0.809	0.806	0.808	0.814	0.807	0.804	0.910	0.796	0.796	0.937								
T16	0.964	0.964	0.958	0.960	0.958	0.962	0.964	0.959	0.960	0.968	0.816	0.929	0.929	0.831	0.804							
T17	0.950	0.946	0.959	0.949	0.948	0.951	0.942	0.940	0.938	0.942	0.805	0.919	0.919	0.821	0.800	0.938						
T18	0.966	0.966	0.964	0.962	0.957	0.968	0.955	0.957	0.951	0.959	0.809	0.920	0.920	0.824	0.810	0.951	0.971					
T19	0.972	0.972	0.970	0.976	0.966	0.974	0.964	0.963	0.957	0.961	0.817	0.930	0.930	0.832	0.808	0.964	0.957	0.970				
T20	0.976	0.972	0.966	0.972	0.963	0.974	0.961	0.963	0.957	0.961	0.817	0.930	0.930	0.826	0.802	0.964	0.953	0.967	0.992			
T21	0.768	0.770	0.769	0.770	0.772	0.769	0.770	0.767	0.770	0.767	0.903	0.765	0.765	0.881	0.876	0.763	0.758	0.760	0.768	0.768		



Rys. 3. Dendrogram taksonów borówki czernicy w oparciu o polimorfizm identyfikowany metodą AFLP. Kolorem zielonym zaznaczono taksony o największym zróżnicowaniu, kolorem czerwonym – taksony, dla których uzyskano rośliny poliploidalne (wyniki na posterze Podwyszyńska i wsp.)

PODSUMOWANIE

- Średnia wartość zróżnicowania genetycznego pomiędzy badanymi taksonami borówki czernicy wynosiła 0.091. Największe zróżnicowanie genetyczne wykazywały taksony pochodzące z Norwegii (0.183). Wykazano także zróżnicowanie genetyczne taksonów polskich pochodzących z różnych siedlisk (0.067).
- Do dalszych badań nad poliploidyzacją taksonów borówki czernicy wytypowano 2 taksony pochodzące z Norwegii oraz 3 taksony pochodzące z Polski (→ poster Podwyszyńska i wsp.)