

ZADANIE 50

Analiza fenotypowa i molekularna wybranej populacji segregującej jabłoni dla wytworzenia genotypów o czerwonej barwie miąższu i zwiększonej odporności na zarazę ogniową

POSTĘP BIOLOGICZNY
Okres realizacji – 2022

KIEROWNIK ZADANIA 50

dr inż. Mariusz Lewandowski

e-mail: Mariusz.Lewandowski@inhort.pl

Wykonawcy: dr Sylwia Keller-Przybyłkiewicz, dr hab. Stanisław Pluta, dr hab. Agnieszka Masny, dr Anita Kuras, dr Marek Szymajda, dr Łukasz Seliga, dr Paweł Bielicki, Krzysztof Strojny, Jolanta Kubik, Ilona Skiba, Agnieszka Walencik, Krystyna Strączyńska, Renata Czarnecka, Bogusława Idczak, Agnes Zmarlickine Laszlovszky

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



CELE PROJEKTU

- ✓ **Ocena fenotypowa populacji siewek jabłoni pokolenia F₁ oraz przygotowanie materiału roślinnego do założenia doświadczenia polowego. (*temat badawczy 1*)**
- ✓ **Weryfikacja tożsamości genetycznej genotypów mieszańcowych uzyskanych, w wyniku krzyżowania odmian ‘Free Redstar’ i ‘Trinity’ oraz analiza segregacji zidentyfikowanych alleli polimorficznych segregujących w populacji mapującej – wstępna analiza uzyskanej mapy genetycznej. (*temat badawczy 2*)**

Tematy zostały w pełni zrealizowane, a cele osiągnięte.

MATERIAŁY I METODY

1. Materiał do badań – 696 siewek pokolenia F_1 , otrzymane ze skrzyżowania:

- ✓ forma mateczna – 1. 'TRINITY' – czerwona barwa miąższu
- ✓ forma ojcowska – 2. 'FREE REDSTAR' – biała barwa miąższu, donor cech odporności na parcha jabłoni, mączniaka jabłoni i zarazy ogniową



2. Szczepienie wierzchołków pędów przewodnikowych siewek na podkładce M.9 (produkcja tunelowa)



3. Sadzenie drzewek w polowej kwaterze hodowlanej w Sadzie Doświadczalnym w Dąbrowicach



MATERIAŁY I METODY

MATERIAŁ ROŚLINNY – (populacja mapująca ‘Free Redstar’ x ‘Trinity’ – 192 rośliny)

IZOLACJA GENOMOWEGO DNA (Aldrich&Culis)

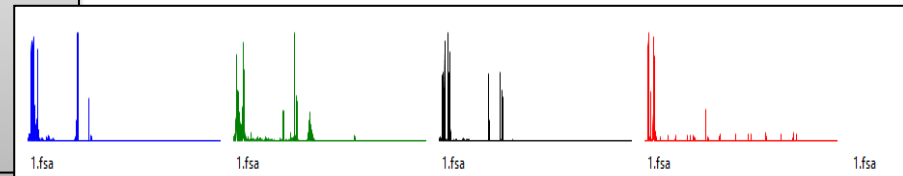
AMPLIFIKACJA FRAGMENTÓW DNA



Warunki reakcji PCR ‘Touch down’ :



96°C – 30"
65°C – 90" 4x (-1°C/cykl)
72°C – 60"
96°C – 30"
60°C – 60" 35x
72°C – 60"



Ocena statusu mieszańca – 5 SSR, analiza UPGMA, dendrogram (korelacja – Persona), PCA

Sporządzanie mapy genetycznej – 20 SSR, zlokalizowanych w chromosomach II, V i XVI genomu *Malus*

Analiza bioinformatyczna:

- **Odległości mapowe (cM) – funkcja *Kosambi*.**
- **Sprzężenia między allelami – *LOD* ($LOD \geq 3$)**
- **Prawdopodobieństwo znalezienia sprzężeń – *ML (Maximum Likelihood)***
- **Ocena zależności pomiędzy rzeczywistym a teoretycznym rozkładem genotypów w populacji segregującej – test *CHI-KWARAT: X²***
- **Częstość rekombinacji pomiędzy zidentyfikowanymi allelami – $REC \leq 50$**
- **Graficzny obraz mapy genetycznej – **Map Chart 2.0****

WYNIKI

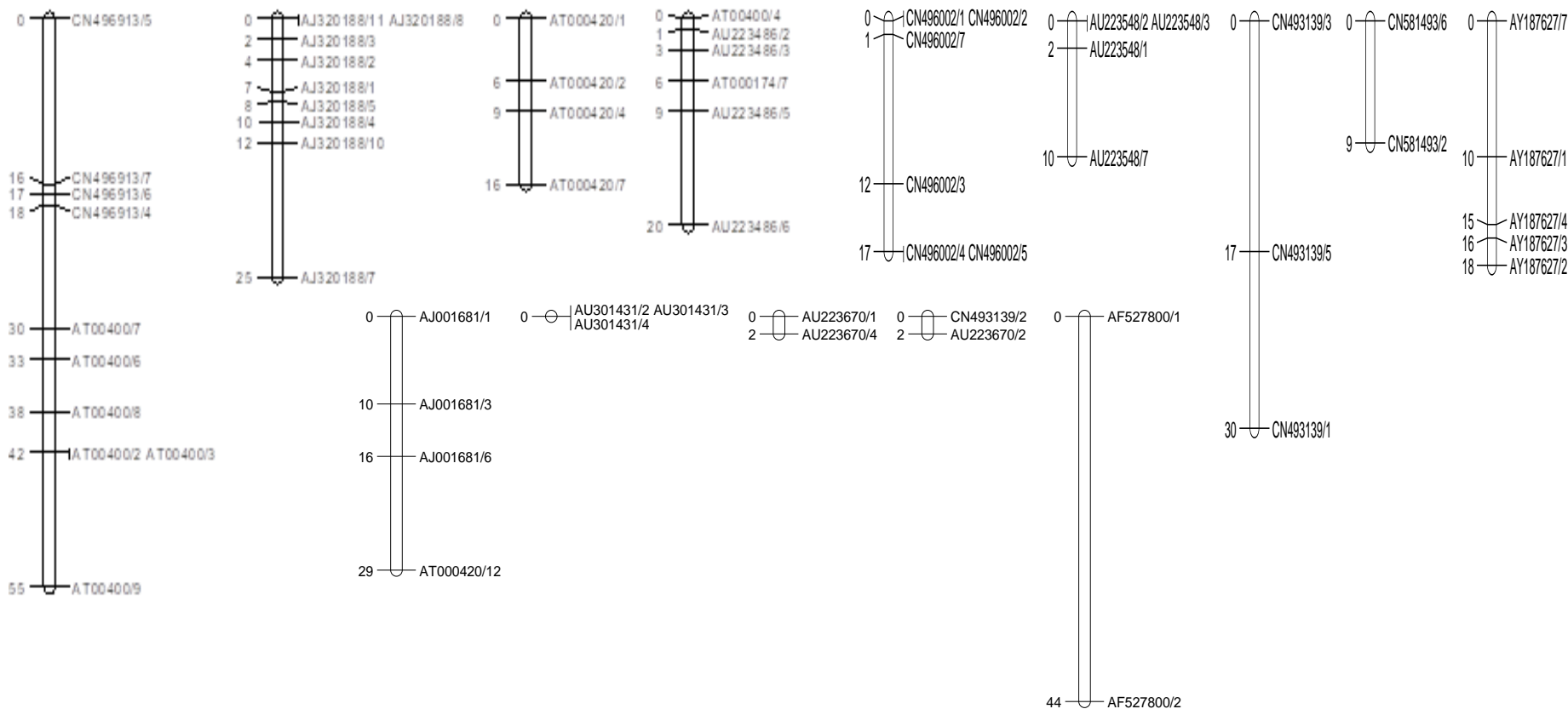
- ✓ Dla każdej z 696 siewek wykonano ocenę siły wzrostu wyrażoną średnicą (w mm) i wysokością pędu przewodnikowego (w cm) po zakończeniu wegetacji roślin (24-26.10.2022 r.)

Średnia dla 696 siewek	Wysokość pędu przewodnikowego (cm)	Średnica pędu przewodnikowego (mm)
	196,4	8,82

- ✓ W życiowym cyklu rozwojowym drzewiastych roślin sadowniczych rozmnażanych z nasion, takich jak jabłoni, występuje okres juwenilny (młodociany). Obejmuje on początkową fazę życia, w czasie którego rośliny te nie są zdolne do zakwitania i wydawania owoców.
- ✓ Najbardziej efektywnym sposobem przełamania fazy juwenilnej siewek jabłoni jest silne promowanie ich wzrostu, tak aby po wysiewie nasion mogły one uzyskać jak największą wysokość pędu przewodnikowego, tj. co najmniej 2 m w ciągu jednego roku uprawy.
- ✓ Wiadomo jest, że im wyższe uzyska się siewki, z których pobiera się zrazy do szczepienia (powyżej 150 cm), tym otrzymane w wyniku zimowego szczepienia drzewka jabłoni wcześniej i intensywniej zakwitną i zaowocują.

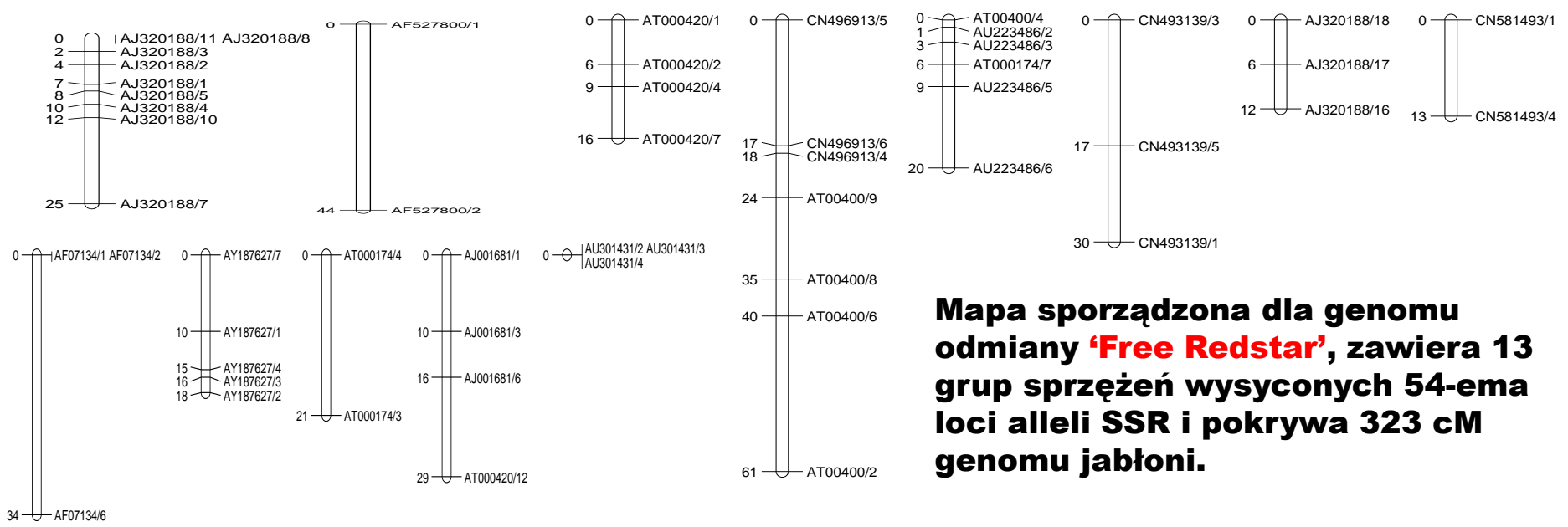
WYNIKI

Sporządzanie zintegrowanej mapy genetycznej 'FR' x 'T'

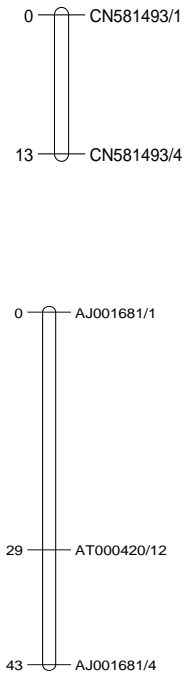


Zintegrowana mapa 'FR' x 'T' zawiera 14 grup sprzężeń, pokrywających 277 cM genomu jabłoni.

Łącznie zidentyfikowano loci 62 alleli markerów SSR.



Mapa sporządzona dla genomu odmiany 'Trinity' zawiera 15 grup sprzężeń, na których zidentyfikowano 62 loci badanych markerów SSR.



WNIOSKI

- ✓ **Silny wzrost siewek można uzyskać uprawiając je w pojemnikach, np. w cylindrach foliowych ustawionych pod osłonami, w nieogrzewanych wysokich tunelach foliowych. Zaletą produkcji siewek jabłoni w pojemnikach jest znaczne skrócenie ich okresu juwenilnego. W takich warunkach, w ciągu jednego roku uprawy, pędy przewodnikowe siewek uzyskują wysokość nawet ponad 2 m. Po naszczepleniu wierzchołków takich pędów na podkładkę karłowatą uzyskuje się drzewka, które w dużym procencie zakwitną i zaowocują już w następnym roku po posadzeniu w polu.**
- ✓ **Sporządzona wstępna mapa genetyczna dla odmian ‘Free Redstar’ produkującej owoce o białym miąższu i ‘Trinity’, wytwarzającej owoce o czerwonym miąższu, wzbogacona w kolejnych latach nowymi *loci* markerów SSR, posłuży do identyfikacji regionów genomów obu odmian regulujących cechę barwy owoców jabłoni.**