

# Analiza różnicowania genetycznego marchwi z wykorzystaniem sekwencji mikrosatelitarnych



Anna Maksylewicz-Kaul<sup>1</sup>, Dariusz Grzebelus<sup>1</sup>, Thomas Nothnagel<sup>2</sup>, Rafał Barański<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katedra Genetyki, Hodowli i Nasiennictwa, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Al. 29 Listopada 54, 31-425 Kraków, Polska

<sup>2</sup> Institute for Breeding Research on Horticultural and Fruit Crops, Federal Research Centre for Cultivated Plants – Julius Kühn-Institut, Erwin-Baur-Str. 27, 06484 Quedlinburg, Niemcy

## Wstęp

Marchew jako ważne źródło związków prozdrowotnych jest jednym z głównych warzyw uprawianych na całym świecie. Jej szerokie rozprzestrzenienie się od centrów udomowienia przyczyniło się do wielu zmian w genomie, co doprowadziło do dużego różnicowania obiektów. Kolekcje zasobów genowych marchwi są doskonałym źródłem zmienności dla hodowli nowoczesnych i wartościowych odmian, dlatego ważna jest wiarygodna ocena zmienności przechowywanego materiału, optymalizacja liczby obiektów i eliminacja duplikatów.

Sekwencje mikrosatelitarne są wykorzystywane jako kodominujące, wysoko polimorficzne markery molekularne, które znalazły zastosowanie w analizie genetycznej materiałów hodowlanych i obiektów zebranych w bankach genów.

## Cel

Przeanalizowanie zmienności genetycznej kolekcji marchwi jadalnej o różnicowanym pochodzeniu z wykorzystaniem markerów mikrosatelitarnych (SSR).

## Materiał i metody

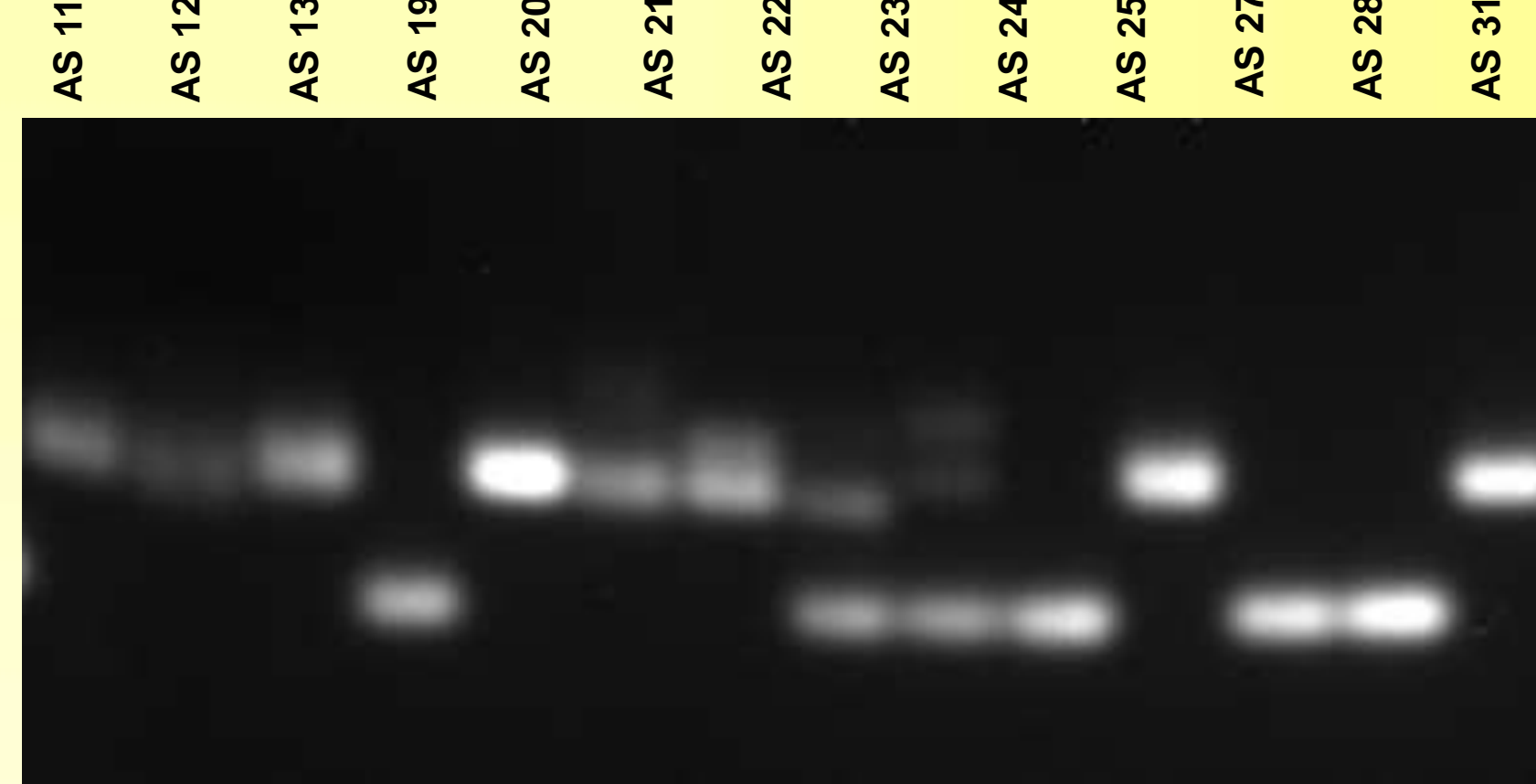
Materiał badawczy stanowiło 37 obiektów marchwi uprawnej (*Daucus carota* L. subsp. *sativus*) o różnicowanym pochodzeniu, uzyskany z kolekcji hodowlanych i banków genów. Po izolacji DNA ze zliofilizowanych liści przeprowadzono PCR ze specyficznymi starterami flankującymi sekwencje SSR. Produkty amplifikacji rozdzielano zarówno w 5% żelu agarozowym jak i denaturującym żelu poliakrylamidowym. Różnicowanie genetyczne zobrazowano przy użyciu analizy składowych głównych.

## Wyniki

### 1. Analiza rozdziatu produktów PCR w żelu agarozowym i poliakrylamidowym

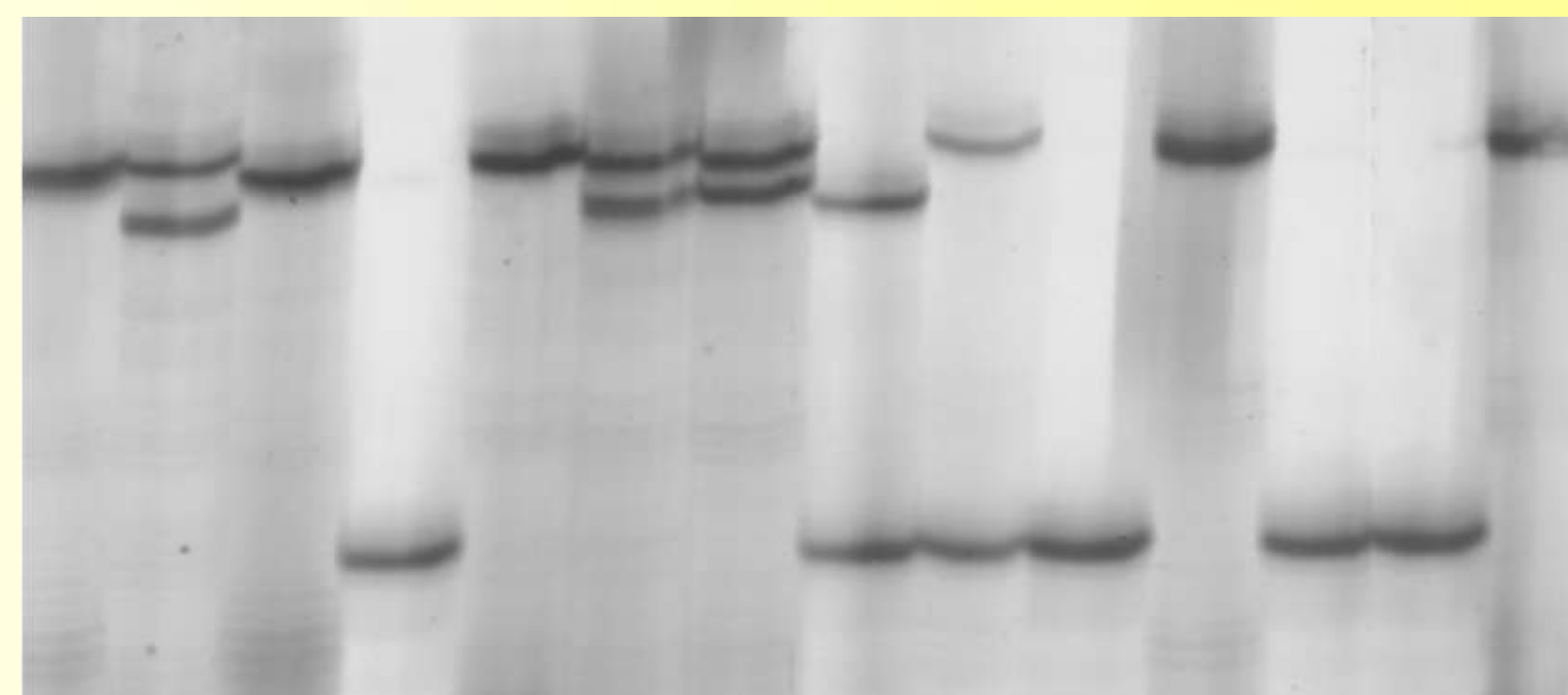
#### 5% żel agarozowy

- przebadano 9 par starterów
- 6 pozwoliło otrzymać 29 polimorficznych produktów
- długość produktów od 110 do 330 pz
- zidentyfikowano od 3 do 6 alleli w badanej populacji w zależności od użytego startera
- **zalety:** niski koszt, łatwa procedura
- **wady:** niska rozdzielczość



#### Denaturujący żel poliakrylamidowy

- przebadano 13 par starterów
- 8 pozwoliło uzyskać 51 polimorficznych produktów
- zidentyfikowano od 3 do 10 alleli w badanej populacji w zależności od użytego startera
- **zalety:** wysoka rozdzielczość dochodząca do 2-3 pz
- **wady:** wysoki koszt, długa procedura, toksyczne związki



Przy rozdzieleniu w żelu poliakrylamidowym zidentyfikowano blisko 2 razy więcej alleli niż w żelu agarozowym.

	Agaroza	Poliakrylamid
Liczba ocenionych loci	8	8
Łączna liczba alleli	29	51
Średnia liczba alleli	3,6	6,4



Blanche 1/2 longue des vosges

Gelbe Rheinische

Nantejska polana

Pusa Kesar

Purple Haze F1

Syrian Purple

Nr	Źródło	Obiekt	Kraj
AS 01	Bejo	White Satin	NLD
AS 02	Bejo	Yellowstone	NLD
AS 07	Bejo	Deep Purple F1	NLD
AS 08	Bejo	Purple Haze F1	NLD
AS 11	INH(126)	Blanche 1/2 longue des vosges	FRA
AS 12	HRI(3931)	Persia No. 242	IRN
AS 13	HRI(3921)	Gelbe Rheinische	DEU
AS 15	HRI(11201)	Afghan Purple	USA
AS 19	HRI(11718)	Himuro Fuyugosi Gosun No.2	JAP
AS 20	KHINO POLAN	Nantejska Polana	POL
AS 21	Mikadokyowa	Hakata Kintoki	JAP
AS 22	HRI(6755)	Pusa Kesar	IND
AS 23	HRI(6754)	Panipat Special	IND
AS 24	JKI	Syrian Purple	SYR
AS 25	JKI	JKI-Selektion	TUR
AS 27	Mikadokyowa	China Yellow	CHI
AS 28	HRI(6752)	Shahpur Special	IND
AS 31	Mikadokyowa	Shima Ninjin	JAP
AS 32	Mikadokyowa	Hekinan Senko 5sun	JAP
AS 33	Spojnia Nochow	Amsterdam 3	POL
AS 35	HRI(8720)	White Belgian	GBR
AS 37	HRI(10146)	Gajar	PAK
AS 38	HRI(13403)	Mestnaya	RUS
AS 44	HRI(8390)	Western Red	AUS
AS 47	JKI	Yellow Belgian	NLD
AS 49	HRI(10197)	Gajar	IND
AS 50	HRI(13405)	Mestnaya	RUS
AS 53	HRI(4001)	Niiza Etton Gosun	JAP
AS 55	Sperling	Rotin	DEU
AS 62	HRI(4002)	Shinsuu Senkou Oonaga	JPN
AS 69	HRI(6519)	Purple Stem Selection	FRA
AS 76	USDA	Beta III	USA
AS 78	JKI	Vitaminaja	RUS
AS 87	HRI(10246)	Long Red	ETH
AS 91	HRI(7126)	Tropical	BRA
AS 92	HRI(6688)	Moskovskaja Zimnaja	SUN
AS 95	NGB(2399)	London Torve, Tagenshus III	DNK

### 2. Analiza różnicowania genetycznego

Analizę składowych głównych przeprowadzono dla 37 obiektów marchwi o różnicowanym pochodzeniu geograficznym.

Wśród analizowanych obiektów zaobserwowano podział na dwie grupy: azjatycką (Bliski i Środkowy Wschód), charakteryzującą się dużym różnicowaniem oraz grupę marchwi europejskich i wywodzących się z nich odmian japońskich.

W europejskiej puli genowej można wyróżnić frakcję odmian populacyjnych i mieszańcowych wykazującą duże podobieństwo do odmian japońskich oraz frakcję obiektów o różnicowanym pochodzeniu geograficznym, do której należy brazylijska `Tropical`, australijska `Western Red` i etiopska `Long Red`. Ich bliskie sąsiedztwo może świadczyć o europejskim pochodzeniu.

Analiza markerów SSR wykazała odrębność dwóch obiektów oznaczonych jako `Mestnaya` i dwóch obiektów `Gajar`.

