

Streszczenie

Analiza zmienności i identyfikacja QTL dla wybranych cech owoców dyni olbrzymiej (*Cucurbita maxima* Duchesne)

Dynia olbrzymia (*Cucurbita maxima* Duchesne) jest jednym z trzech gatunków dyni uprawianych na świecie. Owoce dyni olbrzymiej są wykorzystywane głównie do bezpośredniego spożycia oraz w przemyśle przetwórczym do produkcji przecierów i mrożonek. W ostatnich latach w Polsce obserwuje się wzrost zainteresowania uprawą dyni olbrzymiej, co przyczynia się do zwiększonego zapotrzebowania na nowe odmiany tego gatunku. Plon owoców i cechy związane z owocami, takie jak: wielkość owoców, liczba owoców na roślinie, grubość miąższu, barwa i grubość skórki czy też smak i zawartość składników odżywczych w miąższu owoców są głównymi cechami branymi pod uwagę w trakcie hodowli nowych odmian *C. maxima*. Jednocześnie w obrębie tego gatunku występuje duże zróżnicowanie cech morfologicznych owoców. Pomimo dużego zróżnicowania zmienność genetyczna występująca w dyni olbrzymiej nie została dobrze scharakteryzowana, a podłoże genetyczne ważnych dla hodowli cech nie zostało wystarczająco dobrze poznane. Dobry punkt wyjścia do identyfikacji i klonowania genów odpowiedzialnych za cechy użytkowe roślin stanowi mapowanie genetyczne. Konstrukcja zagęszczonych map molekularnych i poznanie genów kształtujących daną cechę mogą być wykorzystane do rozwoju narzędzi na potrzeby hodowli dyni olbrzymiej ułatwiających selekcję i przyspieszających uzyskiwanie nowych odmian dyni olbrzymiej. Cele tej pracy były następujące: (1) zbadanie zmienności genetycznej kolekcji odmian i linii dyni olbrzymiej, (2) skonstruowanie wysoce zagęszczonej mapy genetycznej i (3) identyfikacja loci cech ilościowych dla wybranych cech użytkowych dyni olbrzymiej.

W pierwszym etapie pracy zidentyfikowano 23 wysoce polimorficzne markery SSR i wykorzystując je, wykonano analizę zmienności genetycznej kolekcji składającej się z 85 odmian i linii dyni olbrzymiej, reprezentujących grupy odmian wydzielonych w oparciu o cechy owoców. Na podstawie oceny dystansu genetycznego, wykorzystując metodykę Neighbor-Joining (NJ), skonstruowano dendrogram, który podzielił badane obiekty na dwie spokrewnione genetycznie grupy. Do pierwszej grupy zaliczono obiekty należące do grup odmian Buttercup/Kabocha, Hubbard i Banana, natomiast w obrębie drugiej grupy wydzielono podgrupy, z których w pierwszej znalazły się odmiany lokalne pochodzące z Europy Wschodniej, zaś w drugiej odmiany należące do grupy odmian Mammoth oraz linie i odmiany o dużych owocach. Odmiany australijskie były najbardziej oddalone genetycznie od pozostałych obiektów i znalazły się poza dwoma grupami głównymi. Podział ten nie był do końca zgodny z podziałem odmian dyni olbrzymiej na grupy wydzielone w oparciu o morfologię owoców. Wyselekcjonowane markery SSR mogą być wykorzystywane na potrzeby charakterystyki molekularnej dyni olbrzymiej w kolekcjach banków genów (np. definiowanie core collection), a także mogą być przydatnym narzędziem w identyfikacji taksonomicznej oraz w hodowli (np. badanie dystansu genetycznego i czystości gatunkowej oraz odmianowej).

W drugim etapie badań skonstruowano wysoce zagęszczoną mapę genetyczną dyni olbrzymiej dla populacji rekombinacyjnych linii wsobnych RIL F_6 802×801 otrzymanej ze skrzyżowania linii wsobnych dyni olbrzymiej różniących się cechami owoców, takimi jak wielkość, kształt czy też zawartość karotenoidów i cukrów w miąższu. Do konstrukcji mapy wykorzystano łącznie 1824 markery, w tym 36 SSR i 1788 DArTseq. Uzyskana mapa składała się z 20 grup sprzężeń, a jej całkowita długość wynosiła 2208,4 cM przy średniej odległości pomiędzy markerami wynoszącej 1,21 cM.

W trzecim etapie pracy podjęto próbę mapowania i identyfikacji loci cech ilościowych (QTL) związanych z barwą zawiązków i zawartością karotenoidów w miąższu owoców w populacji RIL F₆ 802×801. Oceniono wizualnie barwę zawiązków owoców i wykonano analizy zawartości karotenoidów w miąższu owoców metodą HPLC. Identyfikowano α-karoten, β-karoten, luteinę, zeaksantynę, wiolaksantynę i anteraksantynę. Ponadto określono barwę miąższu z wykorzystaniem metody kolorymetrycznej. Locus *ov* związany z barwą zawiązków owoców zmapowano na dolnym ramieniu chromosomu 14 w pozycji 163 cM. Zidentyfikowano łącznie 13 QTL związanych z zawartością karotenoidów i barwą miąższu, które lokowały się w tych samych regionach genomu na chromosomach 2, 4 i 14. W rejonie występowania QTL na chromosomie 4 stwierdzono obecność genu *Psy*, który koduje syntazę fitoenu będącą głównym enzymem szlaku biosyntezy karotenoidów. Wydaje się, że gen ten może być genem kandydackim zawartości karotenoidów w miąższu owoców. Jednakże w rejonach genomowych odpowiadających QTL zidentyfikowanych na chromosomach 2 i 4 stwierdzono również występowanie genów kodujących czynniki transkrypcyjne, które mogą być zaangażowane w regulację biosyntezy karotenoidów i ich akumulację w owocach dyni olbrzymiej. Jednocześnie analizy mikroskopowe wykazały znaczne różnice w liczbie i wielkości plastydów w komórkach miąższu linii rodzicielskich, co może sugerować, że zawartość karotenoidów w owocach dyni olbrzymiej jest regulowana przez geny kodujące białka zaangażowane w biogenezę plastydów.

W ostatnim etapie badań wykonano ocenę cech plonotwórczych w populacji RIL F₆ 802×801 i podjęto próbę identyfikacji QTL odpowiedzialnych za te cechy. W dwóch doświadczeniach polowych oceniano dziewięć cech: wczesność, masa owoców, liczba owoców na roślinie, plon owoców z rośliny, średnica owocu, długość owocu, grubość miąższu oraz zawartość suchej masy i sacharozy w miąższu owoców. Linie rodzicielskie populacji RIL wykazywały istotne różnice pod względem wartości wszystkich badanych cech, z wyjątkiem wczesności. Wskazano występowanie licznych korelacji pomiędzy badanymi cechami. Zidentyfikowano łącznie 26 QTL dla ośmiu badanych cech: masy owocu, liczby owoców, plonu, długości owocu, średnicy owocu, grubości miąższu oraz zawartości sacharozy i suchej masy w miąższu owoców. Zidentyfikowane QTL znajdowały się w 10 różnych lokalizacjach na 8 chromosomach dyni olbrzymiej (1, 2, 4, 9, 10, 13, 14 i 17). QTL o największych efektach fenotypowych zlokalizowano na dolnym ramieniu chromosomu 4. Były to główne QTL dla średnicy i masy owoców. W tym samym rejonie zidentyfikowano również główne QTL dla plonu owoców, grubości miąższu, zawartości suchej masy i sacharozy w miąższu owoców. Kolokalizacja QTL związanych z cechami owoców dyni olbrzymiej na końcu chromosomu 4 sugeruje, że ten rejon genomu dyni olbrzymiej mógł znajdować się pod presją selekcyjną w czasie procesów różnicowania i/lub udomawiania tego gatunku. Potrzebne są dalsze prace mające na celu zagęszczenie mapy genetycznej, a szczególnie rejonu dolnego ramienia chromosomu 4, które pozwolą na identyfikację genów kandydackich i klonowanie genów kontrolujących cechy owoców dyni olbrzymiej.

Słowa kluczowe: cechy plonotwórcze, *Cucurbita maxima*, karotenoidy, mapowanie QTL, zmienność genetyczna