

NATALIA MILER

ANITA WOŹNY

Pracownia Roślin Ozdobnych i Warzywnych, Wydział Rolnictwa i Biotechnologii, Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy w Bydgoszczy
nmiler@utp.edu.pl

Wykorzystanie systemu markerów genetycznych SCoT w charakterystyce zmienności genetycznej chryzantem

The application of SCoT markers in evaluation of genetic variation in chrysanthemum

System markerów genetycznych nazwany SCoT (start codon targeted) został stworzony i opublikowany przez Collarda i Mackilla w 2009 i jest stosunkowo od niedawna wykorzystywany w oznaczaniu zmienności genetycznej. Opiera się na starterach skonstruowanych wokół kodonu startu translacji ATG, a jego autorzy oraz coraz liczniejsze publikacje dowodzą szeregu jego zalet, wśród których wymienia się prostotę przeprowadzenia analizy, wysoki polimorfizm oraz powtarzalność uzyskanych wyników. Celem niniejszych badań było sprawdzenie przydatności systemu markerów SCoT do analizy zmienności blisko spokrewnionych odmian chryzantem. Do badań wybrano dwie grupy odmian chryzantemy wielkokwiatowej (*Chrysanthemum* × *grandiflorum* /Ramat./Kitam.) pochodzących od jednej odmiany wyjściowej ‘Alchemist’: pięć odmian będących jej mutantami (‘Alchemist Burgundy’, ‘A. Stralet’, ‘A. Golden Beet’, ‘A. Tubular’ oraz ‘A. Foxy’) oraz pięć odmian będących jej potomstwem, uzyskanych w wyniku krzyżowania z tą samą odmianą ojcowską (‘Bydgoszczanka’, ‘Brda’, ‘Kujawianka’, ‘Łuczniczka’, ‘Polka’). Genomowe DNA izolowano z młodych liści roślin rosnących w warunkach szklarniowych, wykorzystano zestaw do izolacji DNA Mini AX Plant (A&A Biotechnology). Reakcję PCR przeprowadzono z wykorzystaniem 10 starterów SCoT wybranych na podstawie literatury. Amplifikację DNA prowadzono w 25 µl mieszaniny reakcyjnej zawierającej: 20 ng matrycy DNA, 12,5 µl PCR Mix (zawartość: polimeraza *Taq* RUN, MgSO₄ i zestaw dNTPs; A&A Biotechnology), 1 µM danego startera oraz odpowiednią objętość sterylnej wody. Warunki reakcji: wstępna denaturacja -94°C przez 4 min; 35 cykli -94°C przez 1 min, 50°C przez 1 min, 72°C przez 2 min; końcowe wydłużanie — od 72°C przez 10 min.

Reakcję powtórzono dwukrotnie. Produkty amplifikacji rozdzielano w żelu agarozowym 1,5% (w/v) wybarwionym bromkiem etydyny. Prążki wizualizowano w świetle UV i archiwizowano w postaci fotografii. Obliczono współczynniki zmienności i skonstruowano dendrogram z wykorzystaniem metody UPGMA. Markery wygenerowane z użyciem starterów SCoT okazały się powtarzalne. W zależności od sekwencji startera, uzyskano od 3 do 14 *loci*, a poziom polimorfizmu produktów PCR wahał się od 55%–100%. Wyższe współczynniki zmienności uzyskano w grupie chryzantem pochodzących z krzyżowania niż w grupie mutantów odmiany wyjściowej, ale w przypadku każdego badanego genotypu współczynnik zmienności w stosunku do wspólnej odmiany wyjściowej ‘Alchemist’ był wyższy od zera. Markery genetyczne uzyskane z wykorzystaniem markerów SCoT mogą być z powodzeniem wykorzystywane w badaniu zmienności nawet blisko spokrewnionych odmian chryzantemy wielkokwiatowej.