

KAROLINA KAŻMIŃSKA
ALEKSANDRA KORZENIEWSKA
ANNA SEROCZYŃSKA
GRZEGORZ BARTOSZEWSKI
KATARZYNA NIEMIROWICZ-SZCZYTT

Katedra Genetyki Hodowli i Biotechnologii Roślin
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Zmienność wybranych cech ilościowych rekombinacyjnych linii wsobnych dyni olbrzymiej (*Cucurbita maxima* Duch.)

Variability of selected quantitative traits in recombinant inbred lines of winter squash (*Cucurbita maxima* Duch.)

Przeprowadzono ocenę fenotypową populacji dyni olbrzymiej pod względem cech ilościowych takich jak: średnia masa owocu, liczba owoców na roślinę oraz plon handlowy. W eksperymencie wykorzystano populację mapującą składającą się ze 112 rekombinacyjnych linii wsobnych (RIL) pokolenia F₆ dyni olbrzymiej uzyskanych z mieszańca dwóch linii wsobnych 802 × 801 o odmiennym pochodzeniu i skrajnie zróżnicowanych pod względem badanych cech. Doświadczenie połowe założono w układzie losowym w trzech powtórzeniach w 2013 i 2014 roku. Linie rodzicielskie wykazywały istotne statystycznie różnice w odniesieniu do wartości cech. Zakres zmienności cech w populacji mapującej przekraczał wartości cech dla linii rodzicielskich. Zakres zmienności dla średniej masy owocu wynosił od 0,6 kg do 9,0 kg, dla średniej liczby owoców na roślinie od 1,0 do 7,5 (2013) i od 1,0 do 11,5 (2014), dla plonu handlowego (kg/roślinę) 1,7–11,8 (2013) i 1,26–30,0 (2014). Odziedziczalność cech wynosiła 71% dla plonu handlowego, 70% dla średniej masy owoców i 82% dla średniej liczby owoców na roślinę.

słowa kluczowe: dynia olbrzymia, RIL, plon handlowy, ocena fenotypowa

The present study assessed the phenotypes of winter squash (*Cucurbita maxima* Duch.) population in terms of quantitative traits such as: average fruit weight, number of fruits per plant and marketable yield. Winter squash mapping population, developed by crossing two inbred lines of different origins and extremely diverse in terms of the studied traits, consisting of 112 recombinant inbred lines (RIL) F₆ was used. The field experiments were established in a random arrangement with three replications in the years 2013 and 2014. Parental lines showed statistically significant differences in relation to the value of all the studied traits. Range of variability of all studied traits in the mapping population exceeded the values of parental lines. In case of average fruit weight the range of variation was 0.6–9.0

kg, for the average number of fruits per plant 1.0–7.5 (2013) and 1.0–11.5 (2014). In case of marketable yield, the variation range was 1.7–11.8 kg/plant (2013) and 1.26–30.0 kg/plant (2014). Heritability of the traits was: 71% for marketable yield, 70% for the average fruit weight and 82% for the average number of fruits per plant.

Key words: winter squash, RIL, yield, phenotyping

WSTĘP

Dynia olbrzymia (*Cucurbita maxima* Duch.) jest gatunkiem dobrze przystosowanym do uprawy w polskich warunkach klimatycznych. Może wydawać wysoki plon i nie wymaga zabiegów chemicznej ochrony roślin. Owoce dyni posiadają dużą wartość odżywczą, właściwości dietetyczne oraz lecznicze. Główną zaletą dyni olbrzymiej jest wysoka zawartość związków karotenoidowych w miąższu owoców (Sztangret i in., 2004), co powoduje, że jest warzywem konkurencyjnym w stosunku do marchwi, szczególnie w produkcji ekologicznej. Ponadto gatunek ten cechuje znaczna zawartość cukrowców i suchej masy w owocach (Niewczas i in., 2014; Niewczas i Mitek, 2007), co sprawia, że dynia olbrzymia jest cennym surowcem dla przemysłu przetwórczego. Jednak pomimo wielu zalet dynia olbrzymia jest w Polsce gatunkiem uprawianym na niewielką skalę. Rosnące zainteresowanie dynią olbrzymią związane z wykorzystaniem owoców w przemyśle przetwórczym oraz jako pasza dla zwierząt, generuje potrzebę produkcji nowych wartościowych odmian tego gatunku.

Średnia masa owocu, liczba owoców na roślinę oraz plon to jedne z najważniejszych cech branych pod uwagę w hodowli i uprawie dyni olbrzymiej. Ze względu na ilościowy charakter cechy te podlegają silnej modyfikacji wywołanej przez warunki środowiska. Aby wykluczyć wpływ środowiska, hodowla nowych, bardziej plennych odmian dyni olbrzymiej wymaga selekcji i oceny fenotypowej materiałów wyjściowych w kilku sezonach. Wykorzystanie markerów molekularnych ściśle sprzężonych z *loci* tych cech znacząco skróciłoby proces hodowlany. Dla dyni olbrzymiej nie zidentyfikowano do tej pory *loci* cech ilościowych QTL (Quantitative Trait Loci, *loci* cechy ilościowej) związanych z plonem i masą owoców. Identyfikacja QTL wymaga oceny fenotypowej i genotypowej populacji uzyskanej w wyniku skrzyżowania linii rodzicielskich o skrajnych wartościach badanej cechy. Wybór typu, wyprowadzenie oraz ocena fenotypowa populacji w odpowiednio zaplanowanym doświadczeniu są kluczowymi etapami w identyfikowaniu QTL.

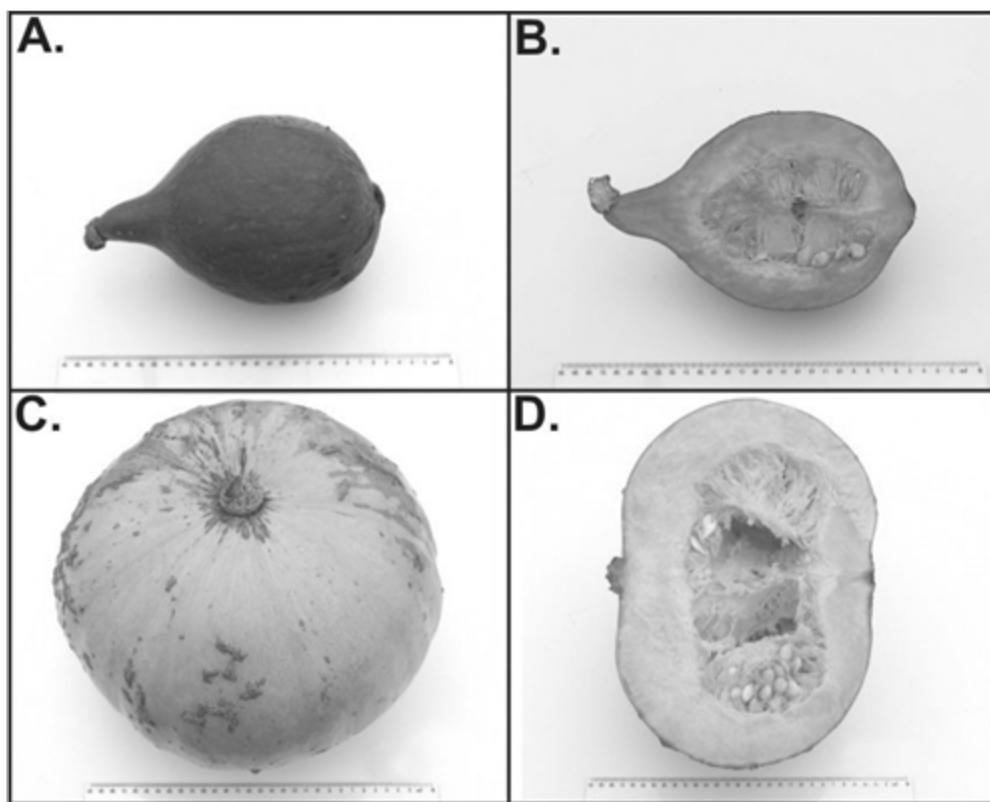
Rekombinacyjne linie wsobne (RIL) są liniami homozygotycznymi, mogą więc być testowane w wielu powtórzeniach oraz poddawane wpływom różnych czynników środowiskowych. Wysoka zmienność genetyczna w populacji RIL pozwala na wykrycie genetycznych interakcji pomiędzy poszczególnymi *loci*. Z tego względu linie RIL znalazły zastosowanie w analizach cech ilościowych prowadzących do identyfikacji QTL (Harel-Beja i in., 2010; Ashrafi i in., 2011; Ren i in., 2014).

Celem prezentowanej pracy była ocena fenotypowa populacji dyni olbrzymiej składającej się ze 112 linii RIL pod względem cech ilościowych jak: średnia masa owocu, liczba owoców na roślinę oraz plon handlowy. Praca stanowi kontynuację zadania

badawczego „Identyfikacja *loci* cech ilościowych związanych z zawartością związków karotenoidowych i suchej masy w owocach dyni olbrzymiej” nr PBZ-MNiSW-2/3/2006/34 realizowanego w ramach projektu „Nowe metody genetyki molekularnej i genomiki służące doskonaleniu odmian roślin uprawnych” i umożliwi skonstruowanie mapy genetycznej oraz identyfikację QTL u dyni olbrzymiej.

MATERIAŁY I METODY

W eksperymencie wykorzystano populację mapującą składającą się ze 112 rekombinacyjnych linii wsobnych (RIL) pokolenia F₆ dyni olbrzymiej powstałych w wyniku samozapylenia mieszańca 802 × 801. Formami rodzicielskimi były dwie linie wsobne o odmiennym pochodzeniu, skrajnie zróżnicowane pod względem badanych cech w tym cech związanych z owocami (rys. 1).



Rys. 1. Owoce linii rodzicielskich populacji mapującej. A i B owoce linii 802 (linia mateczna). C i D linia 801 (linia ojcowska)

Fig. 1. Fig. 1. Fruits of the parental lines of mapping population. A and B line 802 (maternal line) C and D line 801 (paternal line)

Doświadczenia polowe założono w układzie losowym, w trzech powtórzeniach (6 roślin w powtórzeniu) na polu doświadczalnym Katedry Genetyki Hodowli i Biotechnologii Roślin SGGW 'Wolica' w latach 2013 i 2014. Średnie miesięczne wartości temperatury i opadów przedstawiono w tabeli 1. Nasiona badanych linii wysiewano do gruntu 15 maja, w rozstawie: 1 m w rzędzie i 1,6 m pomiędzy rzędami. Zbiór owoców przeprowadzono w pierwszej dekadzie września. Do oceny plonowania wybierano owoce wyrośnięte, fizjologicznie dojrzałe i zdrowe. Określono liczbę owoców na roślinie, średnią masę owoców oraz średni plon handlowy. Uzyskane wyniki opracowano statystycznie przy użyciu programu STATISTICA 10 (Statsoft Inc., USA). Jednoczynnikową analizę wariancji wykonano przy pomocy programu ANOVA. Szczegółowego porównania średnich dokonano za pomocą testu Tukeya przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$. Odziedziczalność w szerokim sensie obliczono według Singh i Ceccarelli (1995).

Tabela 1

Średnie miesięczne wartości temperatury powietrza (°C) oraz wartości opadów (mm) w porównaniu do średniej wieloletniej; Stacja Ursynów-SGGW
Average monthly air temperature (°C) and the rainfall (mm) compared to the long-term average; Station Ursynów-SGGW

| Miesiąc Month | Temperatura (°C) Temperature (°C) | | | Opady (mm) Rainfall (mm) | | |
|----------------------|--------------------------------------|------|--|-----------------------------|-------|--|
| | 2013 | 2014 | średnia wieloletnia 1971–2010 long-term average 1971–2010 | 2013 | 2014 | średnia wieloletnia 1971–2010 long-term average 1971–2010 |
| Maj — May | 15,6 | 14,4 | 14,1 | 120,0 | 80,6 | 76,2 |
| Czerwiec — June | 18,7 | 16,3 | 17,3 | 86,4 | 63,8 | 71,8 |
| Lipiec — July | 20,8 | 21,1 | 21,0 | 0,8 | 100,1 | 88,4 |
| Sierpień — August | 19,2 | 18,3 | 19,2 | 99,0 | 70,8 | 83,8 |
| Wrzesień — September | 12,2 | 15,0 | 13,5 | 96,6 | 7,0 | 60,2 |

WYNIKI I DYSKUSJA

Linie rodzicielskie wykazywały istotne statystycznie różnice w odniesieniu do wartości badanych cech ilościowych: średnia masa owocu, liczba owoców na roślinę oraz plon handlowy. Zakres zmienności cech w populacji mapującej przekraczał wartości dla linii rodzicielskich, co może wskazywać na wystąpienie zjawiska transgresji. W przypadku średniej masy owoców zakres zmienności wynosił od 0,6 kg do 9,0 kg w obydwu latach badań, a średnia ogólna cechy kształtowała się na poziomie 2,64 kg (2013) i 2,99 kg (2014) (tab. 2, rys. 2). Dla średniej liczby owoców na roślinie zakres zmienności wynosił od 1,0 do 7,5 (2013) i 1,0 do 11,5 (2014), przy średniej ogólnej wynoszącej 2,3 (2013) i 3,48 (2014) (tab. 2, rys. 2). W przypadku plonu handlowego (kg/roślinę) zakres zmienności wynosił 1,7–11,8 (2013) i 1,26–30,0 (2014) przy średniej ogólnej 5,14 (2013) i 8,96 (2014) (tab. 2, rys. 2). Istotnie najwyższym plonem handlowym charakteryzowały się linie 1568 (2013) i 1534 (2014), natomiast najniższym linie 1521 i 1517 (2013) oraz 1587 (2014). Znaczne różnice w wartości cech pomiędzy poszczególnymi latami mogą wynikać z istotnych różnic średnich temperatur oraz różnic w ilości opadów. W roku 2013 wysoka

ilość opadów w maju spowodowała zasklepienie gleby i utrudnione kiełkowanie nasion a długotrwała susza panująca w lipcu zahamowała wzrost roślin i ich kwitnienie, odbijając się negatywnie na wysokości plonu (tab. 1). Natomiast rok 2014 odznaczał się bardzo dobrymi warunkami atmosferycznymi dla wzrostu i plonowania dyni zarówno pod względem temperatur, jak i ilości opadów (tab. 1).

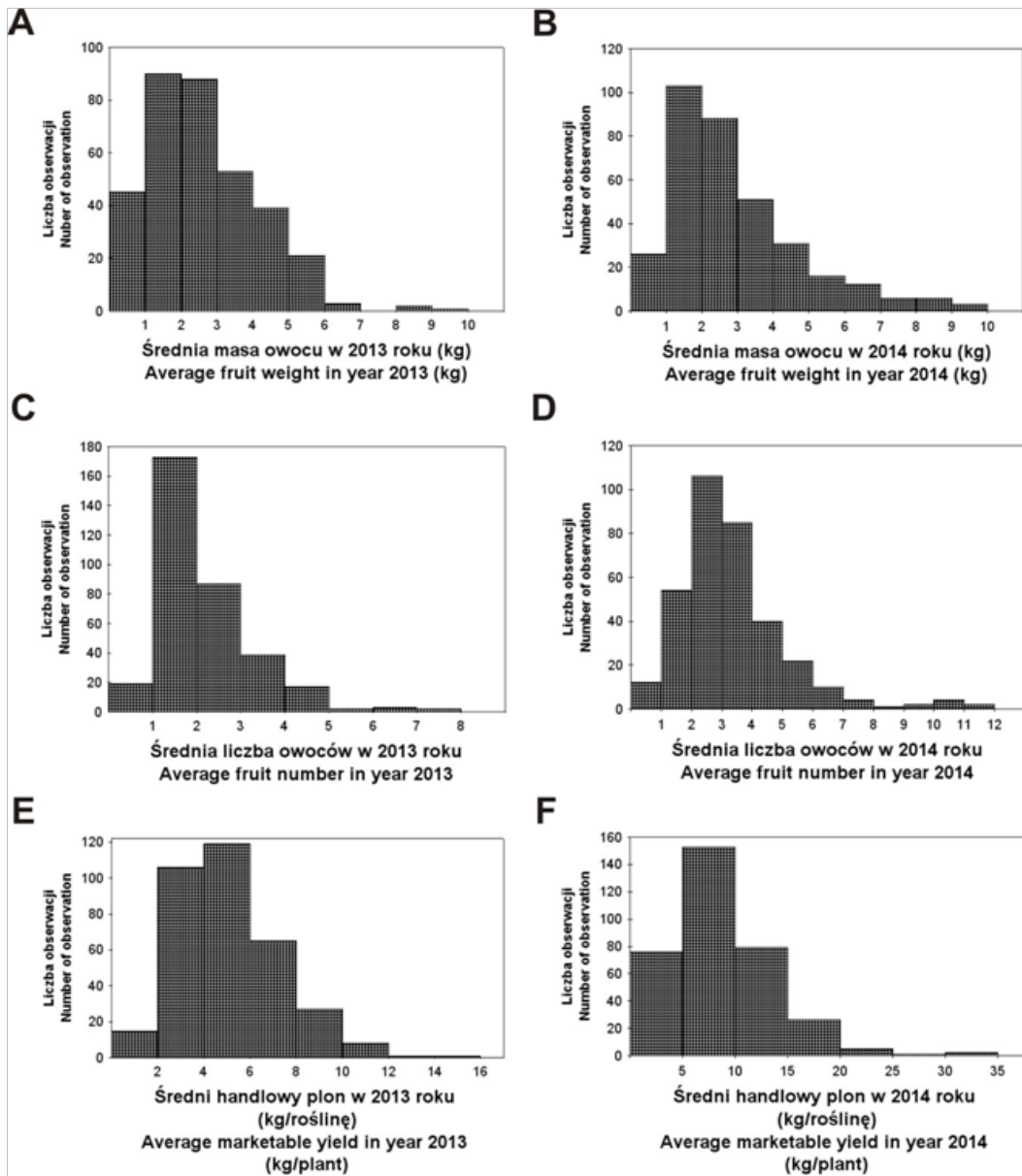
Tabela 2

Średnie wartości badanych cech (\pm odchylenie standardowe) dla linii rodzicielskich oraz zakres ich zmienności w populacji mapującej 802 \times 801, w latach 2013 i 2014
Average values of studied traits (\pm standard deviation) for parental lines and the range of their variation in mapping population 802 \times 801, in years 2013 and 2014

| Cecha Trait | Wartość cechy dla linii rodzicielskich Value of trait for parental lines: | | | | Zakres zmienności w populacji mapującej (112 linii RIL F ₆) Range of variation in mapping population (112 RIL F ₆ lines) | | Średnia wartość cechy Average value of trait | |
|--|--|---------------|---|----------------|--|-----------|---|----------------|
| | linia mateczna (802) maternal line (802) | | linia ojcowska (801) paternal line (801) | | 2013 | 2014 | 2013 | 2014 |
| | 2013 | 2014 | 2013 | 2014 | | | | |
| Średnia masa owocu (kg) Average fruit weight (kg) | 1,1 \pm 0,4 | 1,6 \pm 0,3 | 4,9 \pm 2,4 | 8,4 \pm 2,8 | 0,6-9,0 | 0,6-9,0 | 2,64 \pm 1,5 | 2,99 \pm 1,8 |
| Średnia liczba owoców Average fruit number | 3,7 \pm 0,2 | 4,3 \pm 0,8 | 1,6 \pm 0,3 | 2,2 \pm 0,0 | 1,0-7,5 | 1,0-11,5 | 2,3 \pm 1,1 | 3,48 \pm 1,8 |
| Średni plon (kg/roślinę) Average yield (kg/plant) | 4,3 \pm 0,1 | 6,7 \pm 1,5 | 7,7 \pm 1,2 | 18,2 \pm 0,8 | 1,7-11,8 | 1,26-30,0 | 5,14 \pm 2,3 | 8,96 \pm 4,8 |

Niewielkie odchylenia od rozkładu normalnego (rys. 2) mogą być spowodowane utratą niektórych linii w trakcie kolejnych samozapyeń w procesie otrzymywania linii RIL. Ze względu na sterylność niektórych linii bądź bardzo późny termin kwitnienia nie było możliwe ich samozapylenie i uzyskanie nasion.

Odziedziczalność cech wynosiła 71% dla plonu handlowego, 70% dla średniej masy owoców i 82% dla średniej liczby owoców na roślinie. Uzyskane wyniki wskazują na wysoki udział zmienności genetycznej w całkowitej zmienności wszystkich badanych cech. Znaczny wpływ zmienności środowiskowej (18–30%) w przypadku badanych cech wskazuje jednak na potrzebę bardziej precyzyjnego oznaczenia współczynnika odziedziczalności. Zalapa i in. (2006) badając odziedziczalność w szerokim sensie cech u melona otrzymali porównywalne wyniki dla liczby owoców na roślinie (80%) natomiast dla średniej masy owocu otrzymali znacznie wyższą odziedziczalność wynoszącą 89%. Różnice w uzyskanych wynikach mogą być spowodowane specyfiką gatunku i co za tym idzie różną liczbą genów warunkujących badaną cechę lub też mogą wynikać z wykorzystania różnego typu populacji.



Rys. 2. Rozkład wartości dla średniej masy owocu (A i B), średniej liczby owoców na roślinie (C i D) oraz plonu handlowego (E i F) w populacji mapującej 802 × 801, w latach 2013 i 2014. Obserwacje reprezentują wartości średnie dla linii RIL (dla trzech powtórzeń)

Fig. 2. Distribution of values for average fruit weight (A and B), average fruit number per plant (C and D) and marketable yield (E and F) in mapping population 802 × 801, in years 2013 and 2014. Observations represent average value for RIL lines (for three replications)

Praca stanowi pierwszą ocenę fenotypową populacji mapującej dyni olbrzymiej pod względem cech związanych z plonem. Jak do tej pory nie zidentyfikowano QTL związanych z plonem dla tego gatunku. Prace nad oceną fenotypową populacji dyni olbrzymiej będą poszerzone o takie cechy jak: zawartość suchej masy, związków karotenoidowych oraz cukrowców w miąższu owoców, grubość miąższu, procentowy udział gniazda nasiennego oraz masa 1000 nasion. Szczegółowa ocena fenotypowa populacji mapującej pozwoli na identyfikację genów i QTL zaangażowanych w genetyczną kontrolę wielu cech na mapie genetycznej i umożliwi tworzenie nowych wartościowych odmian dyni olbrzymiej.

WNIOSKI

1. Populacja RIL charakteryzowała się wysoką zmiennością pod względem średniej masy owoców, liczby owoców na roślinę oraz plonu handlowego owoców. Umożliwi to precyzyjną lokalizację QTL na mapie genetycznej dyni olbrzymiej.
2. Wartość współczynnika odziedziczalności w szerokim sensie była wysoka, co wskazuje na duży udział zmienności genetycznej w zmienności fenotypowej badanych cech.
3. Zakres zmienności badanych cech w populacji przekraczał wartości cech dla linii rodzicielskich, co może wskazywać na wystąpienie zjawiska transgresji.

LITERATURA

- Ashrafi H., Kinkade M. P., Merk H. L., Foolad M. R. 2011. Identification of novel quantitative trait loci for increased lycopene content and other fruit quality traits in a tomato recombinant inbred line population. *Mol. Breed.* 30: 549 — 567.
- Harel-Beja H., Tzuri G., Portnoy V., Lotan-Pompan M., Lev S., Cohen S., Dai N., Yeselson L., Libhaber S. E. 2010. A genetic map of melon highly enriched with fruit quality QTLs and EST markers, including sugar and carotenoid metabolism genes. *Theor. Appl. Genet.* 121: 511 — 533.
- Niewczas J., Mitek M., Korzeniewska A., Niemirowicz-Szczytt K. 2014. Characteristics of selected quality traits of novel cultivars of pumpkin (*Cucurbita maxima* Duch.). *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 64: 101 — 107.
- Niewczas J., Mitek M. 2007. The storage influence on selected chemical composition parameters of new varieties of the winter squash (*Cucurbita maxima*). *Żywn.- Nauk. Technol. Ja.* 5 (54) Suppl.: 155 — 164.
- Ren Y., McGregor C., Zhang Y., Gong G., Zhang H., Guo S., Sun H., Cai W., Zhang J., Xu Y. 2014. An integrated genetic map based on four mapping populations and quantitative trait loci associated with economically important traits in watermelon (*Citrullus lanatus*). *BMC Plant Biol.* 14:33.
- Sigh M., Ceccarelli S. 1995. Estimation of heritability using variety trials data from incomplete blocks. *Theor. Appl. Genet.* 90: 142 — 145.
- Sztangret J., Korzeniewska A., Horbowicz M., Niemirowicz-Szczytt K. 2004. Comparison of fruit yields and carotenoids content in new winter squash hybrids (*Cucurbita maxima* Duch.). *Veget. Crop Res. Bull.* 61: 51 — 60.
- Zalapa J. E., Staub J. E., McCreight D. 2006. Generation means analysis of plant architectural traits and fruit yield in melon. *Plant Breed.* 125: 482 — 487.

