

MICHAŁ NOWAK¹**PIOTR T. BEDNAREK**²**JUSTYNA LEŚNIEWSKA-NOWAK**¹**MAGDALENA SOZONIUK**¹**KAROLINA DUDZIAK**¹**MAGDALENA KAWĘCKA**¹**KAROLINA RÓŻANIECKA**¹¹ Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin² Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — Państwowy Instytut Badawczy, Radzików, Zakład Biochemii i Fizjologii Roślin

Kierownik Tematu: dr Michał Nowak Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin, Uniwersytet

Przyrodniczy w Lublinie ul. Akademicka 15, 20-950 Lublin, tel. 81 4456901,

e-mail: michal.nowak@up.lublin.pl

Prace zostały wykonane w ramach badań podstawowych na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej na podstawie decyzji Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi nr HOR.hn.802.9.2018, Zadanie 82.

Identyfikacja regionów genomu oraz markerów DNA związanych z heterozją w heksaploidalnym pszenżycie ozimym

Identification of genome regions and DNA markers associated with heterosis in hexaploid winter triticales

Słowa kluczowe: DArT, heterozja, markery DNA, pszenżyto, zróżnicowanie genetyczne

1. FENOTYPOWANIE LINII WSOBNYCH ORAZ LINII DH PSZENŻYTA

Celem tematu badawczego w roku 2018 była ocena plonu analizowanych genotypów pszenżyta w warunkach doświadczenia polowego. Analizowane genotypy pszenżyta wysiane zostały jesienią w roku 2017 na poletka doświadczalne o równej powierzchni, wynoszącej 2 m² przy gęstości zasiewu wynoszącej 350 ziarniaków/m² w celu analizy plonu uzyskanego z jednostki powierzchni dla każdego genotypu. Każdy obiekt wysiano w dwóch oddalonych od siebie lokalizacjach. W trakcie sezonu wegetacyjnego rośliny poddawano zabiegom stosowanym typowo w doświadczeniach poletkowych. W fazie dojrzałości pełnej rośliny zebrano mechanicznie i określona została masa ziarniaków uzyskanych z każdego poletka, która następnie przeliczona została na plon z 1 m².

WYNIKI

Dla badanych genotypów ozimego pszenżyta heksaploidalnego średni plon z jednostki powierzchni (1 m^2) w roku 2018 wyniósł $0,57 \text{ kg/m}^2$. Najniższy średni plon uzyskano dla rodu LD_122/08 ($0,18 \text{ kg/m}^2$) natomiast najwyższy dla rodu DC_07063/01 ($1,4 \text{ kg/m}^2$).

WNIOSKI

- Średni plon pszenżyta uzyskany w badaniach wyniósł $5,7 \text{ Mg/ha}$ i był wyższy niż średni plon uzyskiwany dla tego zboża w warunkach uprawy w Polsce.
- Wynik plonowania uzyskany w drugim roku badań był niższy od uzyskanego w poprzednim sezonie wegetacyjnym, co sugeruje znaczny wpływ warunków środowiska na cechę. Potwierdza to konieczność uwzględnienia tego czynnika w szacowaniu efektu heterozji u pszenżyta.
- Analizowane formy pszenżyta charakteryzowały się bardzo dużym stopniem zróżnicowania pod względem plonowania (od $1,8$ do 14 Mg/ha), co potwierdza wykorzystanie jako materiał badawczy w projekcie form zróżnicowanych, charakteryzujących się zarówno niskim, jak i wysokim potencjałem plonowania.

2. GENOTYPOWANIE POPULACJI MAPUJĄCYCH RIL

Celem tematu badawczego było uzyskanie preparatów DNA z przeznaczeniem do analiz techniką DArT dla jednej populacji mapującej RIL składających się ze 170 osobników, a następnie ich wysyłka do firmy Diversity Array Technology Ltd. i analiza otrzymanych wyników.

Materiał roślinny w zadaniu stanowiła populacja mapująca rekombinowanych linii wsobnych (RIL) pszenżyta pokolenia S_6 . DNA z przeznaczeniem do analiz techniką DArT izolowano ze świeżych liści badanych roślin. Do izolacji DNA wykorzystano komercyjny zestaw odczynników oparty na oczyszczaniu kwasu nukleinowego na złożu w kolumnkach. Wyizolowane preparaty DNA poddane zostały ocenie jakościowej i ilościowej za pomocą spektrofotometru NanoDrop 2000, jak również analizie integralności przy użyciu elektroforezy w $1,5\%$ żelu agarozowym. W kolejnym etapie wszystkie preparaty DNA doprowadzono do jednakowego stężenia $100 \text{ ng/}\mu\text{l}$ i przesłano do firmy Diversity Array Technology Ltd. (Canberra) w celu wykonania genotypowania w oparciu o markery DArT.

WYNIKI

W wyniku realizacji zadania dokonano przekształcenia surowego zestawu danych otrzymanych z Diversity Arrays Technology do postaci usystematyzowanego pliku wsadowego, umożliwiającego wykonanie procedury mapowania z wykorzystaniem dedykowanego oprogramowania. W wyniku przeprowadzonych analiz uzyskano 22 018 markerów silicoDArT specyficznych dla poszczególnych genotypów populacji S_6 pszenżyta. W obrębie tych markerów zidentyfikowano 6 228 markerów SNP.

Średnia wartość PIC dla wszystkich analizowanych prób wynosiła 0,402, natomiast wartość współczynnika heterozygotyczności wyniosła 0,112.

WNIOSKI

- Poziom polimorfizmu uzyskany w badaniach własnych jest wystarczający dla pewnej i wiarygodnej oceny zróżnicowania genetycznego analizowanych form pszenżyta ozimego.
- Współczynnik heterozygotyczności uzyskany w wyniku genotypowania techniką DArT dla populacji rekombinowanych linii wsobnych cechuje się relatywnie niską wartością w porównaniu z populacją materiałów hodowlanych, co było obserwacją oczekiwaną.

3. KRZYŻOWANIE WYBRANYCH GENOTYPÓW, OCENA MIESZAŃCÓW F₁ I OSZACOWANIE EFEKTU HETEROZJI.

Celem tematu badawczego w roku 2018 była ocena plonowania mieszańców F₁ uzyskanych w roku 2017 na drodze krzyżowania ze sobą genotypów charakteryzujących się największym zróżnicowaniem genetycznym, oszacowanym na podstawie analizy markerów DNA zlokalizowanych na poszczególnych chromosomach pszenżyta oraz oszacowanie efektu heterozji.

Badane mieszańce oraz odpowiednie formy rodzicielskie wysiano na poletka doświadczalne o powierzchni 1 m² przy gęstości wysiewu 350 ziarniaków/m². Doświadczenie polowe założono w gospodarstwie doświadczalnym Felin Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. Efekt heterozji został oszacowany na podstawie oceny plonu z jednostki powierzchni, która została wykonana w warunkach doświadczenia polowego. Plon mieszańców F₁ oceniano zarówno w porównaniu ze średnią wartością dla obu form rodzicielskich (mid-parent, MPH), jak również względem formy rodzicielskiej o lepszych parametrach (best-parent, BPH). Wartości współczynników MPH oraz BPH wyrażono w formie procentowej wykorzystując następujące formuły:

$$MPH = \frac{F1 - MP}{MP} \times 100\%$$

$$BPH = \frac{F1 - BP}{BP} \times 100\%$$

gdzie:

MPH — efekt heterozji mid-parent,

MP — średni plon obu form rodzicielskich,

BPH — efekt heterozji best-parent,

BP — plon form rodzicielskich o wyższym plonowaniu.

WYNIKI

Wartości współczynnika MPH dla badanych form wahały się w zakresie od -28% do +129% przy zastosowaniu do projektowania formuły krzyżowania markerów o różnej lokalizacji chromosomowej. Dla efektu BPH wartości te wyniosły odpowiednio -38% i +111%. Dodatkowo uzyskane wyniki porównano z wynikiem uzyskanym przy wykorzystaniu do szacowania dystansu genetycznego ogólnej puli markerowej, niezależnie od lokalizacji chromosomowej i wykazano, że wybór form w oparciu o ogólną pulę markerów nie pozwolił w przeprowadzonym doświadczeniu na uzyskanie efektu heterozji.

WNIOSKI

- Współczynniki MPH i BPH uzyskane dla mieszańców F_1 analizowanych w ramach projektu były znacznie wyższe, niż prezentowane w publikacjach. Najbardziej prawdopodobną przyczyną tej różnicy jest wykonanie doświadczenia w pojedynczym roku na poletkach o relatywnie niewielkiej powierzchni.
- Analiza oparta na markerach lokalizujących się na konkretnych chromosomach pszenżyta pozwala na dużo bardziej precyzyjną predykcję wystąpienia zjawiska heterozji w pokoleniu F_1 w porównaniu z ogólną pulą markerową.

4. ANALIZY TAKSONOMICZNE W OPARCIU O PULĘ MARKEROWE I WYBÓR GENOTYPÓW DO KRZYŻOWAŃ.

Celem tematu badawczego było zaplanowanie drugiej serii krzyżowań z wykorzystaniem drugiego zestawu niezależnie otrzymanych form mieszańcowych.

Dane odnośnie efektu heterozji uzyskane w wyniku realizacji zadania 3 zostały zestawione z danymi analizy hierarchicznej. Analizę tą wykonano w oparciu o markery DNA lokalizujące się na poszczególnych chromosomach pszenżyta. Na podstawie markerów DNA, analizowanych oddzielnie dla każdego z 21 chromosomów, oceniono podobieństwo genetyczne analizowanych form pszenżyta. W oparciu o analizę porównawczą wytypowano te grupy markerów, których wykorzystanie umożliwiło uzyskanie mieszańców o najwyższym plonie. Równolegle zgrupowano markery lokalizujące się na tych chromosomach, które dały najgorsze wyniki. W ramach realizacji ponownie przeprowadzona analizę statystyczną i na jej podstawie wytypowano nowe formuły krzyżowań.

WYNIKI

Uzyskane wartości współczynnika maksymalnego dystansu genetycznego stanowiły podstawę do wyboru komponentów rodzicielskich do krzyżowań. Wybrano po jednej parze genotypów skrajnych, które charakteryzowały się największym zróżnicowaniem genetycznym w obrębie poszczególnych chromosomów i przeznaczono je na formy rodzicielskie do krzyżowania (tab. 1).

Formuły krzyżowań zaplanowanych celem uzyskania drugiego zestawu mieszańców F₁ do oszacowania efektu heterozji

Lp.	Chromosom	Kombinacja krzyżówkowa
1	1A	DC 07064-16 × BOH_2207-3
2	1B	DL 678/12 × DANKO_12
3	1R	cD 175/08 × DS_4211/11
4	2A	L-203 × DL_643/09
5	2B	B-210 × DANKO_11
6	2R	DL 593/07 × DD_333/09
7	3A	B-262 × L-205
8	3B	MAH 34985-5 × DS 4043/13
9	3R	DT_270/11 × BOH_1439-5
10	4A	MAHD 35081-7 × DL_402/11
11	4B	BOH_1439-8 × MAHD 35188-16
12	4R	MAH 34964-2 × CT 08006/12
13	5A	DL 26/13 × BOH_2039-2
14	5B	DC_07063/03 × DS_4211/11
15	5R	CT 08006/12 × L-207
16	6A	BOH_1684-2 × LAD 21/11
17	6B	DC_08220-4 × DANKO_8
18	6R	B-263 × CT 10104-74
19	7A	BOH_2039-2 × CT 08221/08
20	7B	B-47 × DL_593/11
21	7R	DC 07004-4 × DD 293/11

WNIOSKI

— Powtórzenie analizy potwierdziło, że lokalizacja chromosomowa markerów DArTseq wpływa na uzyskiwane wartości współczynników dystansu genetycznego pszenżyta.

