

JERZY NAWRACAŁA
MICHAŁ KSIĄŻKIEWICZ
DANUTA KURASIAK-POPOWSKA
JANETTA NIEMANN
SANDRA RYCHEL
AGNIESZKA TOMKOWIAK
DOROTA WEIGT
BOGDAN WOLKO

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Katedra Genetyki i Hodowli Roślin

Kierownik Tematu: dr hab. Jerzy Nawracała Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Katedra Genetyki i Hodowli Roślin, ul. Dojazd 11, 60-632 Poznań, tel. 61 8487720, e-mail: jnawrac@up.poznan.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.802.16.2018, Zadanie 105.

Identyfikacja układów allelicznych genów fotoneutralności i wczesności oraz opracowanie metodyki otrzymywania roślin homozygotycznych u soi

**Identification of alleles arrangement of photoneutrality and earliness genes
and development of methodology of obtaining homozygous soybean plant**

Słowa kluczowe: fotoneutralność, geny wczesności, homozygotyczność, metoda pojedynczych nasion, soja

WSTĘP

Niedostosowanie większości genotypów soi do szerokości geograficznej Polski wynika z faktu, że soja jest gatunkiem dnia krótkiego. Dlatego też, genotypy soi przeniesione w warunki dnia długiego wydłużają okres wegetacji i nie dojrzewają lub dojrzewają zbyt późno w warunkach Polski. Długość okresu wegetacji zależy od wielu genów (*E1-E10*) i QTL kontrolujących czas kwitnienia i dojrzewania u soi, wpływających jednocześnie na reakcję fotoperiodyczną roślin. Drugą istotną cechą jest typ kończenia wzrostu pędu, rzutujący również na długość okresu kwitnienia roślin. W warunkach Polski do uprawy korzystny jest semizdeterminowany typ wzrostu warunkowany przez dominujący allel genu *Dt2*. Znajomość układu alleli genów wczesności i determinacji pędu w materiałach wyjściowych pozwoli na lepsze dobranie

genotypów do programów hodowli w warunkach Polski. W związku ze wzrostem zainteresowania uprawą soi w Polsce bardzo ważne jest szybkie wyhodowanie nowych odmian. Jedną z szans na przyspieszenie hodowli jest zastosowanie metody pojedynczych nasion (SSD — single seed descend).

CELE ZADANIA

W ramach zadania 105 w 2018 r. realizowano trzy cele: 1) uzyskanie metodyki genotypowania soi markerami molekularnymi gwarantującej powtarzalność i odtwarzalność pomiarów w zakresie wariantów allelicznych pięciu genów wczesności kwitnienia i dwóch genów zdeterminowania wzrostu u soi przy użyciu linii referencyjnych oraz wybranych materiałów kolekcyjnych o różnym fenotypie, 2) przeprowadzenie obserwacji fenotypowych (terminu kwitnienia i dojrzewania) 150 genotypów referencyjnych i kolekcyjnych soi w warunkach polowych oraz 3) przeprowadzenie doświadczenia szklarniowego w celu otrzymania 2 pokoleń soi w jednym roku.

W pierwszym temacie badawczym materiałem do badań było 20 genotypów soi wybranych z materiałów kolekcyjnych KG i HR, w tym genotypów referencyjnych o znanym układzie alleli genów wczesności sprowadzonych z Soybean Germplasm Collection (USA), z kolekcji Japanese Soybean Core Collection (Japonia) i z kolekcji Plant Gene Resources of Canada (Kanada).

WYNIKI

Wstępną optymalizację procedur diagnostycznych przeprowadzono na kilku liniach dla wszystkich opublikowanych markerów (36) w celu rozeznania możliwości wykorzystania ich do genotypowania materiałów hodowlanych (wybrania 20 markerów do analiz). Wykazano, że tradycyjnymi metodami można określić polimorfizm dla 33 markerów. Na podstawie przeprowadzonej optymalizacji wybrano 20 markerów, dla których wykonano analizę genotypów referencyjnych (stosując trzy powtórzenia biologiczne i 2 powtórzenia techniczne w celu weryfikacji powtarzalności uzyskiwanych wyników). Analizy genotypów referencyjnych wykazały, że np. genotyp nr 1 (Fiskeby V) ma następujący układ alleli (genotyp): *dt1-b*, *dt2*, *e2*, *e4-SORE-1*, *E7*, *e9-toyo*, *e10*. Natomiast genotyp nr 13 — odmiana Harosoy należąca do II grupy wczesności (bardzo późna) ma układ alleli: *Dt1*, *Dt2*, *E2-ln*, *E3*, *E4*, *E9* i *e10*. Uzyskano wysoką powtarzalność wyników i wydajność amplifikacji PCR dla wszystkich analizowanych 20 markerów. W przypadku markerów flankujących polimorfizm krótkich powtórzeń sekwencji (SSR) zaobserwowano występowanie kilku alleli (marker nr 7 dla genu *Dt2* i marker nr 27 dla genu *E7*). Wielkość produktu tych alleli jest zgodna z wielkościami podawanymi w danych literaturowych.

WNIOSKI

- Polimorfizm 33 z 36 markerów jest możliwy do odczytania przy użyciu typowych procedur diagnostycznych stosowanych w laboratoriach (PCR, elektroforeza, trawienie restrykcyjne).
- Analizę 26 markerów można przeprowadzić przy użyciu standardowego żelu agarozowego, zaś 7 wymaga agarozy wysokiej rozdzielczości.
- Walidacja 20 markerów w puli 20 linii referencyjnych molekularnych potwierdziła ich przydatność do oceny podłoża molekularnego wczesności kwitnienia i zdeterminowania wzrostu w zróżnicowanym materiale genetycznym pochodzącym z europejskich, azjatyckich i amerykańskich kolekcji soi.

W drugim temacie badawczym materiałem do badań były genotypy referencyjne o znanym układzie alleli genów wczesności badane w temacie 1 oraz linie własne i odmiany wczesne wybrane z kolekcji KGiHR. Razem w doświadczeniu oceniano 150 genotypów soi.

Doświadczenie założono 20.04.2018 na polu doświadczalnym KG i HR w RGD Dłóż. W doświadczeniu jedno-powtórzeniowym wysiewano od 20 do 50 nasion w zależności od liczby nasion otrzymanych z banków genów. Nasiona wysiewano na poletkach o wielkości 2 m² w rozstawie 50 cm. Przeprowadzono obserwacje faz fenologicznych oraz opracowano biometryczne cechy morfologiczne i komponentów plonu.

WNIOSKI

- Oceniane w doświadczeniu 150 genotypów soi różniło się znacznie pod względem przebiegu kwitnienia, długości okresu wegetacji oraz analizowanych cech morfologicznych i komponentów plonu.
- Długość okresu wegetacji genotypów referencyjnych była zróżnicowana (118–178 dni), co świadczy o ich prawidłowym wyborze i umożliwi powiązanie układów allelicznych genów wczesności z ich wpływem na dojrzewanie roślin soi w warunkach klimatycznych Polski.
- Zmienność cech morfologicznych i komponentów plonu genotypów referencyjnych odzwierciedlała zmienność badanych cech w całym doświadczeniu, a średnie wartości cech genotypów referencyjnych były takie same jak średnie wartości cech całego doświadczenia.

Trzeci temat badawczy dotyczący otrzymania 2 pokoleń soi w jednym roku metodą pojedynczych nasion był realizowany w szklarni KG i HR oraz szklarni w Szelejewie (Danko Hodowla Roślin Sp. z o. o.). Materiałem do doświadczenia były 2 pokolenia mieszańcowe soi (F₃ i F₄) z 2 kombinacji krzyżowania międzyodmianowego (Szelejewo) i 2 kombinacji krzyżowania międzygatunkowego *G. max* x *G. soja* (KG i HR). Założono łącznie 4 doświadczenia w 2 (Szelejewo) i 3 (KG i HR) powtórzeniach. W doświad-

czeniu badano wpływ obsady roślin na 1 m² na zawiązanie strąków i nasion. Zastosowano obsady: 156, 363 i 630 roślin/m².

WYNIKI

Doświadczenie w terminie wiosennym, z pokoleniem F₃, założono w KG i HR i w Szelejewie w podobnym czasie 5 i 11 kwietnia. W Szelejewie rośliny zebrano 11 lipca, tj. po 98 dniach od siewu, natomiast w KG i HR dojrzewanie roślin było w obrębie palet bardzo zróżnicowane. W konsekwencji tego zbierano z roślin dojrzałe strąki od 11 do 18 lipca, tj. po 91–98 dniach od siewu. Zebrane z roślin pokolenia F₃ nasiona wysiano w KG i HR 3 sierpnia, a w Szelejewie 22 sierpnia. Pomimo wcześniejszego o 19 dni siewu, rośliny soi w szklarni KG i HR, pochodzące z krzyżowania międzygatunkowego, zbierano w okresie 4–20 grudnia, podczas gdy w Szelejewie rośliny zebrano 19 listopada, tj. po 89 dniach od siewu.

WNIOSKI

- Średnia liczba strąków i nasion z rośliny była najwyższa przy najmniejszej obsadzie roślin i malała wraz ze wzrostem obsady. Największa obsada roślin 630/m² zapewniała otrzymanie z rośliny średnio 3,15–5,6 nasion, co jest wystarczającą liczbą nasion dla metody pojedynczych nasion.
- W warunkach szklarniowych zarówno w KG i HR, jak i w Szelejewie można otrzymać dwa pokolenia soi w jednym roku.