DOI: 10.37317/biul-2008-0018

PAWEŁ MILCZARSKI
Katedra Genetyki i Hodowli Roślin
Akademia Rolnicza w Szczecinie

Identyfikacja QTL wybranych cech morfologicznych związanych z wyleganiem u żyta (*Secale cereale* L.)

Identification of QTLs of morphological traits related to lodging of rye (*Secale cereale* L.)

Celem niniejszych badań było rozpoznanie dziedzicznego podłoża wybranych cech morfologicznych związanych z odpornością roślin żyta na wyleganie. Do badań wykorzystano 100 osobników populacji F_4 mieszańca Ds2 × RXL10. Wykonano pomiary biometryczne długości i grubości II międzywęźla (ISL, IST), oraz w oparciu o opublikowane wcześniej wyniki dla wysokości roślin wyliczono współczynnik wylegania (Lc) obliczany jako stosunek grubości II międzywęźla do wysokości roślin. Zidentyfikowano dwa QTL dla długości i trzy QTL dla grubości drugiego międzywęźla oraz 3 QTL dla współczynnika wylegania. Otrzymane QTL zmapowano na chromosomach 2R, 3R, 5R, 6R i 7R. Rozkład QTL na chromosomach wskazuje na różne podłoże genetyczne grubości II międzywęźla i pozostałych cech.

Słowa kluczowe: długość drugiego międzywęźla (SIT), grubość drugiego międzywęźla (SIL), QTL (*Loci* cechy ilościowej), współczynnik wylegania (Lc), żyto

The aim of this study was identification of some morphological traits related to lodging resistance in rye. One hundred F_4 lines of Ds2 × RXL10 mapping population were used. Each F_4 lines plant was measured in respect to length (SIL) and thickness (SIT) of the second internode. With the use of earliner published data on the plant height (Ph), a lodging coefficient (Lc) was calculated as a ratio between the thickness of the second internode and plant height. Two QTLs for the length, three QTLs for the thickness of the second internode and three QTLs for the lodging coefficient were identified on chromosomes 2R, 3R, 5R, 6R and 7R. A distribution of QTLs on chromosomes indicated that genetic background of the second internode thickness differs from that of the other traits.

Key words: SIL (second internode length), SIT (second internode thickness), QTL (quantitative trait loci), (Lc) lodging coefficient, rye

WSTĘP

Wyleganie roślin jest poważnym problemem agrotechnicznym powodującym zniżkę plonu, pogorszenie parametrów jakościowych czy utrudnienie mechanicznego zbioru. Wyleganie u zbóż jest definiowane jako nieodwracalne odchylenie źdźbła od pionu

(Pinthus, 1973). Pojawia się ono w skutek działania wiatru, opadów, zwiększonego nawożenia azotowego jak również infekcji patogenów. Odporność roślin na wyleganie związane jest przede wszystkim z morfologicznymi właściwościami roślin, anatomią źdźbła i budową systemu korzeniowego. Hodowla roślin w kierunku odporności na wyleganie jest trudna, ponieważ jest to cecha ilościowa kontrolowana przez wiele genów z istotnym wpływem środowiska na ekspresję cechy (Keller i in., 1999) Szereg badaczy poszukuje cech morfologicznych skorelowanych z wyleganiem, które można by użyć w selekcji genotypów odpornych. Uznaje się, że najbardziej związana z odpornością na wyleganie jest wysokość roślin, a także liczba, długość, grubość międzywęźli, waga źdźbła, sztywność i elastyczność źdźbła oraz inne (Kelbert i in., 2004; Keller i in., 1999; Verma i in., 2005).

Podstawowym sposobem pomiaru odporności na wyleganie jest jej ocena w warunkach polowych z ewentualną prowokacją warunków sprzyjających jej zajściu. Dla potrzeb hodowlanych opracowano cały szereg prostszych metod pozwalających na pośredni pomiar odporności na wyleganie. Jedną z nich jest współczynnik wylegania (*Lc*) obliczanym jako stosunek średnicy II międzywęźla (liczonego od dołu) do długości słomy.

Celem niniejszych badań było wstępne rozpoznanie dziedzicznego podłoża wybranych cech związanych z wyleganiem, tj. długości II międzywęźla, grubości II międzywęźla oraz powiązania ich ze współczynnikiem wylegania, a następnie mapowanie QTL badanych cech na chromosomach.

MATERIAŁ I METODY

W badaniach wykorzystano potomstwo F_4 liczącej 100 osobników populacji mapującej powstałej z mieszańca międzyliniowego DS2 (linia o normalnym wzroście) × RXL10 (linia karłowa). Na wszystkich osobnikach przeprowadzono pomiary długości II międzywęźla i grubości II międzywęźla. Dodatkowo w oparciu o dołączone do badań opublikowane wyniki pomiarów wysokości roślin (Milczarski i Masojć, 2003) wyliczono współczynnik wylegania. Otrzymane dane wprowadzono do programu WinQTLCartographer 2.5 (Wang i in., 2006) w celu wykrycia QTL i lokalizacji ich na skonstruowanej wcześniej mapie genetycznej (Bednarek i in., 2003). Ze względów technicznych ograniczono liczbę markerów na mapie do markerów szkieletowych. Identyfikację QTL przeprowadzono stosując model CIM (Composite Interval Mapping), a do określenia interakcji i sposobu działania QTL zastosowano moduł MIM (Multiplay Interval Mapping). Ponieważ identyfikacja QTL warunkujących wysokość roślin została wykonana z zastosowaniem modułu SIM (Simple Interval Mapping) dokonano ponownego przeliczenia tych danych z wykorzystaniem modułu CIM. Parametrami opisującymi wykryte QTL są: LOD — test logarytmiczny określający pewność lokalizacji QTL w danym miejscu na chromosomie, ”a” — efekt addytywny jednego z alleli rodzicielskich (tu pochodzącego od linii rodzicielskiej DS2), R^2 – współczynnik determinacji. Istotne QTL stanowią te, których LOD przekracza poziom krytyczny testu = 2,5, a wartość współczynnika determinacji R^2 jest ≥ 10%.

WYNIKI I DYSKUSJA

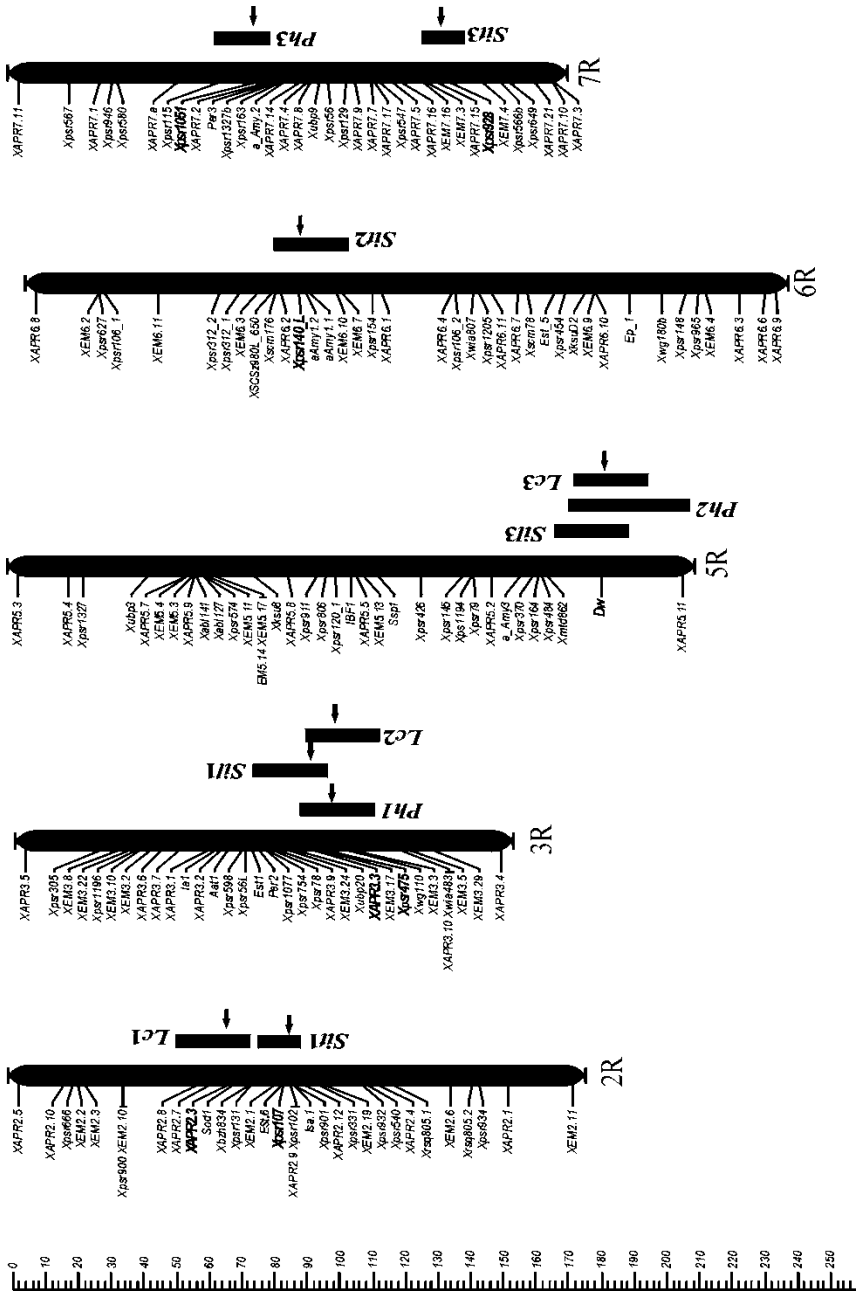
Wszystkie badane cechy rozszczepiały się w populacji mapującej a ich segregacja była zbliżona do rozkładu normalnego, przy czym obserwowano genotypy o wartościach przekraczających (lub mniejszych) od form rodzicielskich (tab. 1). Linie rodzicielskie wykazywały duży polimorfizm pod względem analizowanych cech, którego przyczyną jest obecność w linii RXL10 genu karłowatości *Dw*1. Na podstawie dostępnych danych wyliczono współczynnik odziedziczalności w szerokim zakresie (za wyjątkiem współczynnika wylegania), który mieścił się w zakresie od 0,5 dla grubości drugiego międzywęźla do 0,9 dla wysokości roślin (tab. 1).

Tabela 1

Charakterystyka badanych cech: długość i grubość drugiego międzywęźla wysokość roślin oraz współczynnika wylegania u form rodzicielskich i populacji mapującej
Characteristics of length and thickness of the second internode, plant height and lodging coefficient in parents and mapping population

Cecha Trait	Symbol QTL QTL code	Wartość średnia cechy u rodziców Mean trait value in parents		Wartość średnia cechy w populacji (odchylenie standardowe) Mean trait value in population (standard deviation)	Zakres zmienności cechy w populacji Variation range of trait in population	Współczynnik odziedziczalności Coefficient of heritability (H)
		DS2	RXL10			
Długość II międzywęźla II internode length (cm)	*Sil*	11,1	7,27	11,2 (2,42)	4,7–17,5	0,69
Grubość II międzywęźla II internode thickness (mm)	*Sit*	4,6	3,8	4,38 (0,32)	3,6–5,2	0,50
Współczynnik wylegania Lodging coefficient	*Lc*	0,046	0,069	0,038 (0,01)	0,032–0,084	—
Wysokość roślin Plant height (cm)	*Ph*	98	*55*	111,5 (26,2)	46,5–144,2	0,90

Zidentyfikowano i scharakteryzowano 11 QTL związanych z badanymi cechami o zróżnicowanym wpływie na ich wykształcenie się, które zmapowano na chromosomach 2R, 3RL, 5RL, 6RL (C), 7RS i 7RL (rys. 1, tab. 2). Stwierdzono, że QTL dla wysokości roślin (*Ph*1, *Ph*2) i długości II międzywęźla (*Sil*1, *Sil*2) lokują się w tych samych regionach chromosomów 3RL i 5RL. Na chromosomie 7R zlokalizowano dwa QTL jeden dla wysokości roślin (*Ph*3) na krótkim ramieniu, a drugi QTL warunkujący grubość II międzywęźla (*Sit*3) na długim ramieniu tego chromosomu. Wykryto dodatkowe dwa QTL kontrolujące grubość II międzywęźla na chromosomie 6RL (*Sit*2) i chromosomie 2RL (*Sit*1), z tym że ten drugi locus był wykrywany testem LOD poniżej wartości krytycznych. Rozkład QTL na chromosomach wskazuje na odrębność genetyczną średnicy II międzywęźla i wysokości roślin oraz długości II międzywęźla. Grubość drugiego międzywęźla była również cechą o najniższej wartości współczynnika odziedziczalności w szerokim zakresie (0,5). Dodatkowym potwierdzeniem otrzymanych wyników jest brak istotnej korelacji pomiędzy średnicą II międzywęźla a pozostałymi cechami.



Rys. 1. Identyfikacja i lokalizacja chromosomowa QTL grubości i długości liścia flagowego, wysokości roślin i współczynnika wylegania użyta. Boldem zaznaczono markery najbliżej sprzężone z QTL
Fig. 1. Identification and localization of QTLs for length and thickness of the secondo internode, plant height and lodging coefficient in rye. Markers linked to QTL are in bold

Naniesiony na mapę genetyczną współczynnik wylegania pokrywa się zgodnie jedynie z wysokością roślin i długością II międzywęźla. Zbieżność lokalizacyjna QTL *Lc*1 (współczynnik wylegania) i *Sit*1 (grubość II międzywęźla) nie jest możliwa do udowodnienia z powodu zbyt niskiej precyzji mapowania. O wpływie danego QTL na wykształcenie się cechy informuje parametr R^2, który obliczany jest automatycznie przez program mapujący. Z 11 wykrytych QTL 8 przekracza wartości krytyczne, przy czym 6 z nich lokuje się na chromosomach 3R i 5R, co wskazuje na dużą rolę obu chromosomów w ekspresji cech (rys. 1, tab. 2). Na chromosomie 5R zlokalizowany jest gen karłowatości (*Dw*1) pochodzący z linii rodzicielskiej RXL10, który wyraźnie wpływa na morfologie roślin. Brak jest informacji o obecności na chromosomie 3R analogicznego *locus*.

Tabela 2

Identyfikacja i charakterystyka QTL warunkujących długość i grubość drugiego międzywęźla wysokość roślin oraz współczynnika wylegania
Identification and characteristics of QTL related to length and thickness of the second internode, plant height and lodging coefficient

Cecha Trait	Symbol QTL QTL code	Lokalizacja chromosomowa Chromosomal localisation	Najbliższy marker Nearest marker	LOD	Efekt addytywny Additive effect (cm)	R^2 (%)
Długość II międzywęźla] II internode length (cm)	*Sil*1	3RL	*APR3.3*	4,4	-0,6	2,0
	*Sil*2	5RL	*Dw1*	16,3	2,16	35,4
Grubość II międzywęźla II internode thickness (mm)	*Sit*1	2RL	*psr107*	2,2	-0,08	9,0
	*Sit*2	6RL (C)*	*psr140 L*	2,58	0,16	12,1
	*Sit*3	7RS	*psr928*	3,42	-0,15	12,2
Współczynnik wylegania Lodging coefficient	*Lc*1	2RS (C)	*APR2.3*	2,62	0,007	10,8
	*Lc*2	3RL	*psr475*	2,81	0,01	23,7
	*Lc*3	5RL	*Dw1*	9,9	-0,004	3,0
Wysokość roślin Plant height (cm)	*Ph1*	3RL	*psr*475	4,18	-15,4	20,0
	Ph2	5RL	*Dw*1	20,0	16,4	30,0
	Ph3	7RL	*psr*1051	2,9	-9,0	25,2

*C — centromer

Wszystkie wykryte QTL wykazywały addytywny sposób działania, przy czym nie stwierdzono istotnych statystycznie interakcji pomiędzy nimi.

Identyfikacje QTL dla cech morfologicznych u żyta zaprezentowali Börner i wsp. (1999 i 2000), Milczarski i Masojć (2003). Za wyjątkiem wysokości roślin prezentowane w niniejszej pracy lokalizacje QTL warunkujących długość i grubość drugiego międzywęźla są pierwszymi doniesieniami dla żyta. U pszenicy Keller i wsp. (1999) podjęli próbę identyfikacji QTL kontrolujących cechy związane z wyleganiem i samego wylegania w tym grubości i długości międzywęźli stwierdzając, że z 10 wykrywanych *loci* dla grubości źdźbła tylko 3 prawdopodobnie lokują się w zbliżonych obszarach QTL odporności na wyleganie a jeden w regionie QTL dla wysokości roślin. Autorzy ci nie stwierdzili istotnej korelacji pomiędzy grubością źdźbła i wyleganiem. Jako najważniejsze cechy morfologiczne mające wpływ na wyleganie Keller i wsp. (1999) wskazują wysokość i sztywność roślin. Podobnego zdania są Verma i wsp. (2005), którzy analizując dodatkowo szereg cech morfologicznych i konfrontując otrzymane korelacje ze zgodnymi

lokalizacjami QTL stwierdzili, że korelacja pomiędzy długością pierwszego międzywęźla a wyleganiem jest tak samo istotna jak pomiędzy wysokością roślin a wyleganiem. W niniejszej pracy nie badano wylegania u roślin w związku z tym nie można powiązać otrzymanych wyników bezpośrednio z tą cechą.

Jako cechę pośrednią wybrano współczynnik wylegania, który koreluje się istotnie statystycznie tylko z wysokością roślin (-0,93) i długością II międzywęźla (-0,5). Wstępne lokalizacje *loci* cech ilościowych warunkujących grubość i długość drugiego międzywęźla poszerzają wiedzę o genach kontrolujących cechy morfologiczne u żyta w tym cechy związane z wyleganiem.

WNIOSKI

1. Stwierdzono, że długość II międzywęźla kontrolowana jest przez 2, a grubość II międzywęźla 3 QTL.
2. Grubość drugiego międzywęźla charakteryzuje się innym podłożem genetycznym niż długość II międzywęźla czy wysokość roślin.
3. Zidentyfikowane QTL związane z pośrednim parametrem — współczynnikiem wylegania pokrywają swoją pozycję mapową z QTL warunkującymi wysokość roślin i długość drugiego międzywęźla na chromosomach 3R i 5R.

LITERATURA

Bednarek P. T., Masojć P., Lewandowska R., Myśków B. 2003. Saturating rye genetic map with amplified fragment length polymorphism (AFLP) and random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. J. Appl. Genet. 44 (1): 21 — 33.

Börner A., Korzun V., Voylokov A.V., Weber W. E. 1999. Detection of quantitative trait loci on chromosome 5R of rye (*Secale cereale* L.). Theor. Appl. Genet. 98: 1087 — 1090.

Börner A., Korzun V., Voylokov A. V., Worland A. J., Weber W. E. 2000. Genetic mapping of quantitative trait loci in rye (*Secale cereale* L.) Euphytica 116: 203 — 209.

Keller M., Karutz Ch., Schmid J. E., Stamp P., Winzeler M., Keller B., Messmer M. M. 1999. Quantitative trait loci for lodging resistance in a segregating wheat × spelt population Theor. Appl. Genet. 98: 1171 — 1182.

Kelbert A. J., Spaner D., Briggs K. G. & King J. R. 2004. The association of culm anatomy with lodging susceptibility in modern spring wheat genotypes. Euphytica 136: 211 — 221.

Milczarski P., Masojć P. 2003. Interval mapping of genes controlling growth of rye plants. Plant Breed. Seed Sci. 48: 135 — 142.

Pinthus, M. J. 1973. Lodging in wheat, barley, and oats: The phenomenon, its causes, and preventative measures. Adv Agron 25: 210 — 256.

Verma V., Worland A. J., Sayers E. J., Fish L., Caligari P. D. S., Snape J. W. 2005. Identification and characterization of quantitative trait loci related to lodging resistance and associated traits in bread wheat. Plant Breeding 124. 234 — 241.

Wang S. C, Basten C. J, Zeng Z. B. 2006. Windows QTL Cartographer 2.5, Department of Statistics, North Carolina State University, Relaigh, NC http://statgen.ncsu.edu/qtlcart/WQTLCart.htm).