

PIOTR BEDNAREK
AGNIESZKA NIEDZIELA
MARZENA WASIAK
SŁAWOMIR BANY

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — Państwowy Instytut Badawczy, Radzików

Kierownik Tematu: prof. dr hab. Piotr Bednarek Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — Państwowy Instytut Badawczy, Radzików, 05-870 Błonie, tel.: 601827259, e-mail: p.bednarek@ihar.edu.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.802.19.2018, Zadanie 21.

Poszukiwanie markerów molekularnych genów przywracania płodności pyłku u żyta (*Secale cereale* L.) z CMS-Pampa

Identification of pollen fertility restoration markers in rye (*Secale cereale* L.) with CMS-Pampa

Słowa kluczowe: CMS-Pampa, markery DArTseq, *Secale cereale* L.

Hodowla heterozyjna oraz produkcja nasion żyta bazuje na zjawisku cytoplazmatycznej męskiej sterylności (CMS) indukowanej przez cytoplazmę typu Pampa (Geiger i Schnell, 1970). Sterylność jest cechą dziedziczną od matki i charakteryzuje się degradacją pylników oraz brakiem lub występowaniem śladowych ilości pyłku. Aby przywrócić wytwarzanie pyłku w uzyskanych hybrydach niezbędne jest znalezienie linii posiadających dominujące, jądrowe geny przywracania płodności *Rf* (ang. restorer genes). Dotychczasowe badania prowadzone w Niemczech wykazały, że główny gen *Rf* u linii restorerowej żyta L18 lokalizuje się na chromosomie 1RS (Wricke i in., 1993), a trzy geny o słabszym efekcie działania na chromosomach 3RL, 4RL i 5R (Miedaner i in., 2000). Inny dominujący gen *Rf* wykryto na chromosomie 4RL u żyta odmiany Pico Gentario i prymitywnego żyta irańskiego IRAN IX (Miedaner i in., 2000). W ramach niniejszego projektu badana jest lokalizacja QTLi cechy w obrębie materiałów dostępnych w Polsce.

CEL PODJĘTEGO TEMATU I PROWADZONYCH BADAŃ

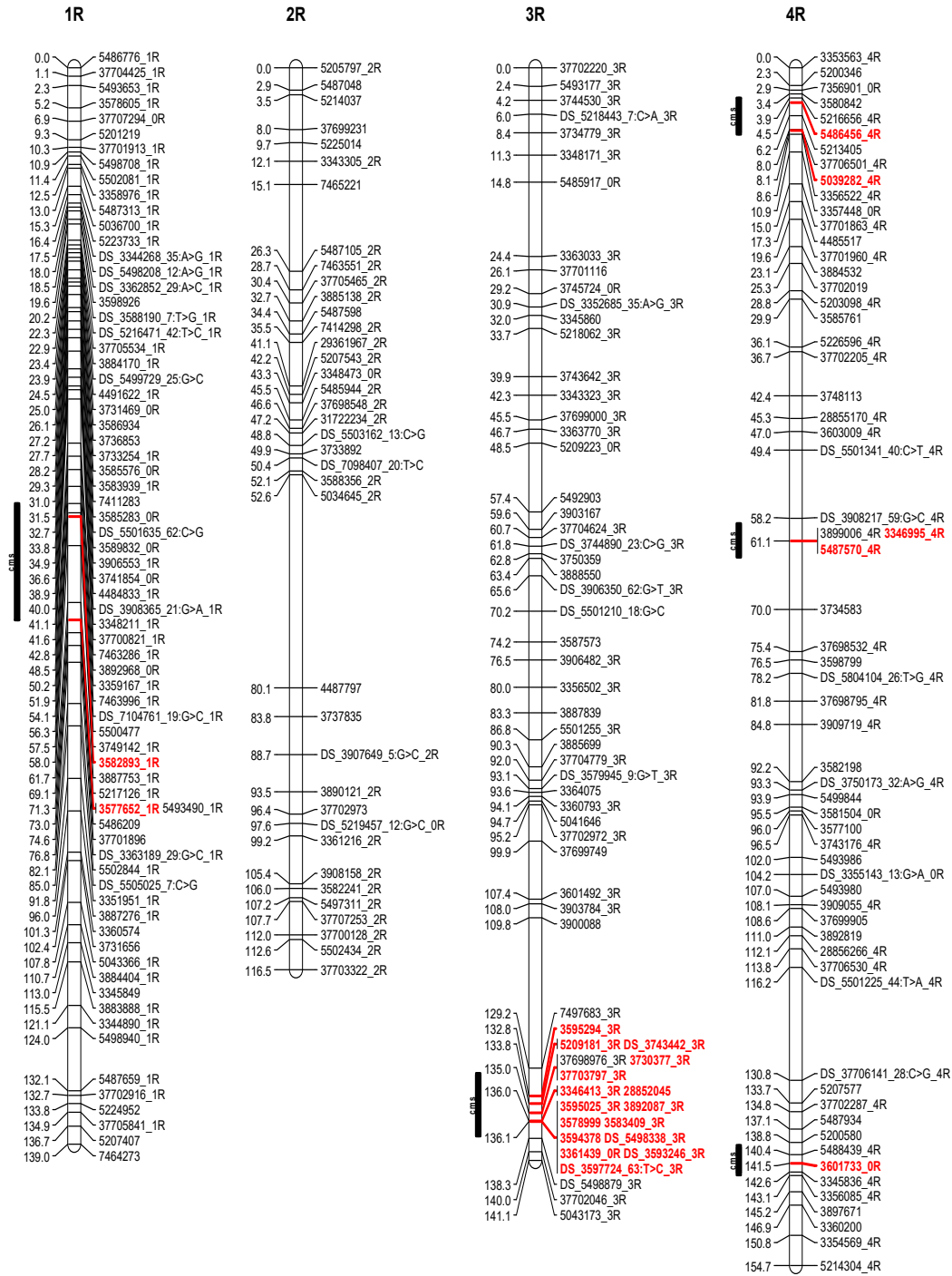
Celem badań było genotypowanie populacji mapującej żyta RIL8 (RIL-A): NS 08135N/2 × 83/81 (78A-674 TUR.)/2 za pomocą markerów DArTseq oraz mapowanie genów utrzymania przywracania płodności pyłku typu PAMPA wraz ze wskazaniem markerów związanych z badaną cechą.

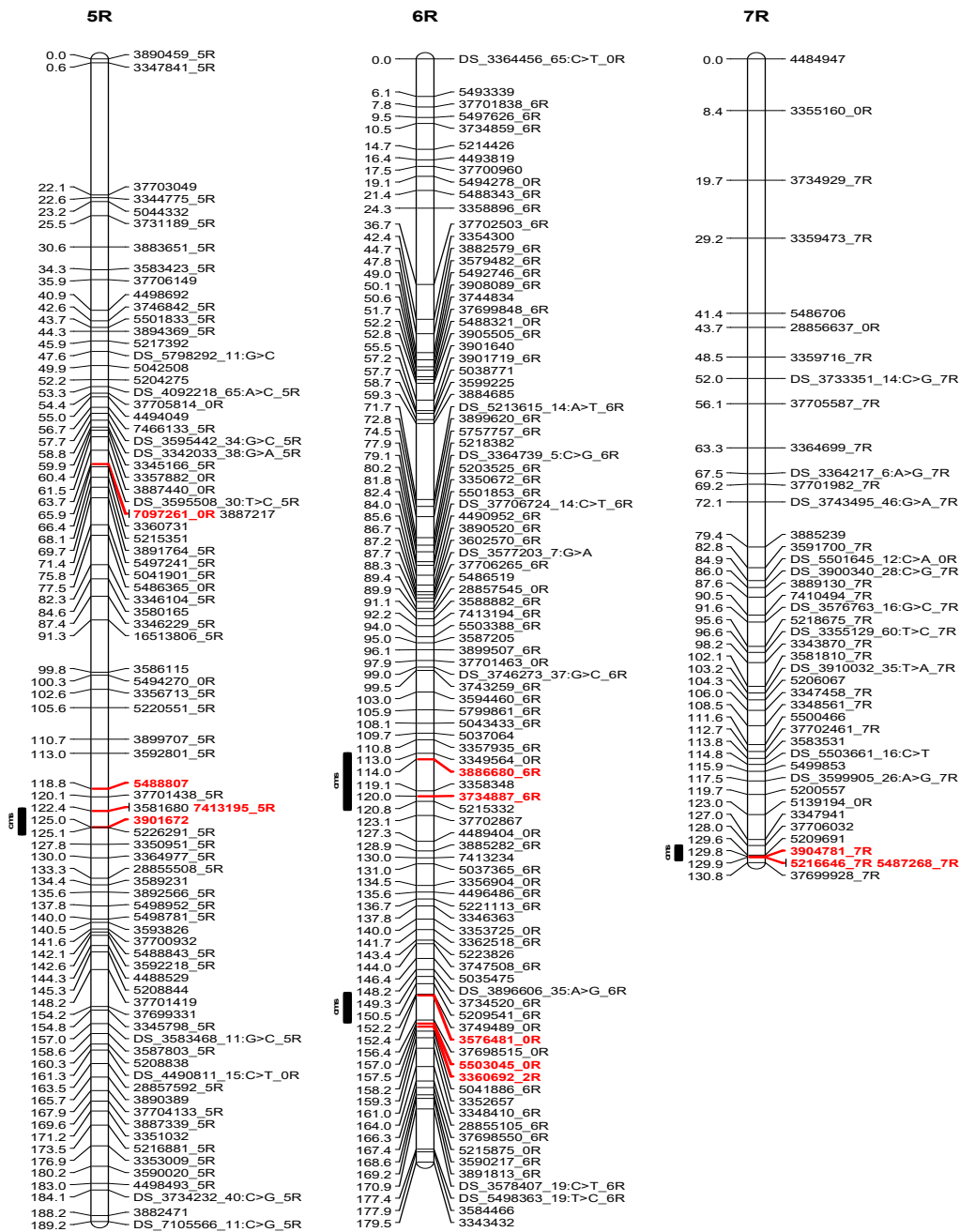
OPIS WYNIKÓW

Materiał roślinny do analiz molekularnych stanowiły liście populacji RIL-A: NS 08135N/2 × 83/81 (78A-674 TUR.)/2. Wykonano 140 genotypowań włączając kontrole form rodzicielskich (8 powtórzeń), powtórzenia wewnętrzne (12 powtórzeń losowo wybranych preparatów) oraz kontrole w postaci pojedynczych roślin linii sterylnych (10 linii sterylnych P1-10). W wyniku genotypowania uzyskano 40073 markerów DArTseq (marker SNP) oraz 92928 silicoDArT (marker dominujący). Wykorzystanie kontroli wewnętrznych oraz powtórzeń umożliwiło weryfikację powtarzalności genotypowania, które wynosiło około 99%.

Mapowanie genetyczne wykonane w programie MultiPoint UltraDense z wykorzystaniem obu typów markerów (DArTseq, silicoDArT) umożliwiło identyfikację siedmiu grup sprzężeń (LG1-LG7). Poszczególne LGs różniły się między sobą zarówno długością jak i liczbą markerów szkieletowych, redundantnych oraz dodanych. Na mapie genetycznej umieszczono 424 markery szkieletowe, 1564 redundantne (1988 łącznie dla wszystkich LG) oraz 32270 markerów dodanych (interpolowane na mapę). Opracowana mapa genetyczna pokrywała 1051,8 cM. Największa grupa rozciągała się na obszarze 189,3 cM, a najmniejsza na 68,80 cM. Średnio na pojedynczą LG przypadało 60 markerów szkieletowych, 223 markerów redundantnych i 4610 markerów dodanych. Największą lukę między markerami stwierdzono w przypadku grupy LG2 i wynosiła ona 27,5 cM. Poszczególne grupy sprzężeń przypisano do chromosomów żyta na podstawie znanej lokalizacji markerów DArTseq oraz silicoDArT.

Mapowanie asocjacyjne wykonane w programie TASSEL z zastosowaniem wielokrotnego modelu liniowego (MLM ang. Multiple Linear Model) wykazało, że 144 markery DArTseq oraz silicoDArT są asocjowane z genami przywracania płodności pyłku u żyta z CMS-Pampa. Najwyższa wartość prawdopodobieństwa testowego dla jednego z markerów silicoDArT wynosiła $2,64E-12$ przy wartości testu Bonferroniego równej $8,64E-07$.





Rys. 1. Graficzna reprezentacja mapy genetycznej populacji mapującej RIL8 (RIL-A): NS 08135N/2 × 83/81 (78A-674 TUR.)/2. Na czerwono zaznaczono markery asocjowane z cechą przywracania płodności pyłku u żyta z CMS Pampa. Potencjalny obszar QTL określony na podstawie lokalizacji markerów asocjowanych z badaną cechą przedstawiono w postaci czarnej linii

Stopień asocjacji określany za pomocą współczynnika determinacji R^2 wahał się od 0,768 do 0,347 co świadczyło o silnych asocjacjach identyfikowanych markerów z badaną cechą. Markery asocjowane z cechą przywracania płodności pyłku u żyta zaznaczono na kolor czerwony na mapie genetycznej populacji mapującej RIL8 (RIL-A): NS 08135N/2 × 83/81 (78A-674 TUR.)₂ (rys. 1). Na podstawie ich lokalizacji zaznaczono również potencjalny obszar QTL badanej cechy.

WNIOSKI Z PROWADZONYCH BADAŃ

Dotychczasowe badania prowadzone w ramach niniejszego projektu wykazały, że w materiałach roślinnych dostępnych w Polsce dominują geny przywracania płodności pyłku z CMS-Pampa lokalizujące się na chromosomach 1R i 4R. Pewną rolę odgrywają również geny na 3R oraz 5R. W badaniach tych udowodniono wysoką zbieżność wyników mapowania kompozytowego i asocjacyjnego. Mapowanie asocjacyjne dla populacji mapującej RIL8 (RIL-A): NS 08135N/2 × 83/81 (78A-674 TUR.)₂ potwierdza wielogenowość cechy wykazując, że regiony odpowiedzialne za przywracanie płodności pyłku u żyta z CMS Pampa mogą lokalizować się na chromosomach 1R, 3R, 4R, 5R, 6R oraz 7R. Uzyskany wynik jest zgodny z danymi literaturowymi.

LITERATURA

- Geiger H. H., Schnell F. W. 1970. Cytoplasmic male sterility in rye (*Secale cereale* L.). Crop Sci. 10: 590 — 593.
- Miedaner T., Glass C., Dreyer F., Wilde P., Wortmann H., Geiger H. H. 2000. Mapping of genes for male-fertility restoration in 'Pampa' CMS winter rye (*Secale cereale* L.). Theor. Appl. Genet. 101: 1226 — 1233.
- Wricke G., Wilde P., Wehling P., Gieselmann C. 1993. An isozyme marker for pollen fertility restoration in the Pampa cms system of rye (*Secale cereale* L.). Plant Breed 111: 290 — 294.

