

Tytuł zadania: **Poszukiwanie markerów molekularnych genów utrzymania sterylności pyłku u pszenżyta z cms Tt.**

Kierownik zadania: **prof. dr hab. Piotr T. Bednarek**

Cel zadania: Celem zadania jest opracowanie markerów DNA silnie sprzężonych/asocjowanych z możliwie jak najszerszym spektrum genów utrzymania sterylności pyłku u pszenżyta z cms Tt występujących w obrębie badanych populacji RIL oraz określenie wkładu tych genów do zmienności fenotypowej.

Zadanie było realizowane w ramach 3 tematów badawczych:

Temat badawczy 1: Wyprowadzenie BC1F8 celem określenia fenotypu linii F8.

Cel tematu badawczego 1:

1. Analiza występowania genów utrzymania sterylności pyłku w obrębie linii RIL8 pokolenia F1 trzech populacji mapujących: DB1 x RB1, DB2 x RB2, MS 112(15)-2-1 dop. x Borwo poprzez ocenę zawiązywania ziaren roślin BC1F8.
2. Wykonanie krzyżowań MS 114(5)-2-1 cms Tt x [RIL8: MS 114(5)-2-1 dop. x Borwo], MS HT 352 cms Tt x [RIL8: MS HT 352 dop. x Borwo] i uzyskanie ziarniaków F1.

Materiały, metody i wyniki:

1. Zawiązywanie ziarniaków oceniono poprzez ich zliczanie w kłosie dla każdej z badanych form. Rozkład cechy weryfikowano w programie XLStat (<http://www.xlstat.com/en/>).

	populacja mapująca	lb genotypów użytych do krzyżowania	ocena fenotypowa (zawiązywanie ziarniaków) – lb genotypów	rozkład normalny cechy
BC1F8	DB1 x RB1	150	108	nie
BC1F8	DB2 x RB2	150	142	tak
BC1F8	MS 112(15)-2-1 dop. x Borwo	200	165	nie
BC1F8	MS 114(5)-2-1 dop. x Borwo	200	-	-

Wnioski:

Wstępne analizy zawiązywania ziarniaków dla 3 badanych populacji sugerują, że w obrębie tych populacji występują geny utrzymania sterylności pyłku u pszenżyta z cms Tt, a badana cecha spełnia kryteria niezbędne do mapowania ilościowego z wykorzystaniem markerów DNA.

Temat badawczy 2: Genotypowanie (DArTseq/silicoDArT) linii rekombinacyjnych.

Cel tematu badawczego 2: Genotypowanie linii RIL8: DB2 x RB2.

Materiały i metody:

Materiał badawczy stanowiły preparaty DNA 188 linii RIL populacji mapującej RIL8: DB2 x RB2 prowadzonej na normalnej cytoplazmie wraz z 4 kontrolami eksperymentalnymi i formami rodzicielskimi. Przygotowano 2 płytki po 94 preparaty. Analiza została wykonana w firmie DArT PL.

Wyniki:

W wyniku genotypowania populacji RIL8: DB2 x RB2 uzyskano 22927 markerów DArTseq oraz 40012 markerów silicoDArT (łącznie 62939 markerów DArT). Usunięto markery monomorficzne i markery wykazujące braki powyżej 70%. Liczba markerów użytecznych do dalszych analiz wyniosła 51904.

Temat badawczy 3: Identyfikacja markerów cechy (mapowanie genetyczne i/lub asocjacyjne).

Cel tematu badawczego 3:

1. Mapowanie genetyczne populacji RIL8: DB2 x RB2 w oparciu o markery DArTseq i silicoDArT.
2. Poszukiwanie markerów związanych z QTLami utrzymania sterylności pyłku u pszenżyta z cms Tt z wykorzystaniem populacji BC1F8: DB2 x [DB2 x RB2].

Materiały i metody:

Do opracowania mapy genetycznej wykorzystano markery DArTseq i silicoDArT uzyskane w 2018 w wyniku genotypowania populacji RIL8: DB2 x RB2. Mapę genetyczną konstruowano z wykorzystaniem programu MultiPoint (Ultra Dense).

Mapowanie kompozytowe QTL genów utrzymania sterylności pyłku w systemie z cms Tt u pszenżyta dla populacji RIL8: DB2 x RB2 w oparciu o markery DArTseq i silicoDArT uzyskane w wyniku genotypowania oraz dane fenotypowe uzyskane w wyniku analizy zawiązywania ziarniaków w obrębie populacji BC1F8: DB2 x [RIL8: DB2 x RB2] wykonano dla 184 form w programie WinQTLCartographer. Istotność QTLi określano na podstawie testu permutacji (1000).

Wyniki:

Mapowanie genetyczne wykonane dla populacji RIL8: DB2 x RB2 umożliwiło identyfikację 21 grup sprzężeń (LG). Na mapie znalazło się łącznie 2069 markerów (849 markerów szkieletowych i 1220 redundantnych). Najmniej liczna pod względem liczby markerów szkieletowych grupa sprzężeń (LG12) składała się z 15, natomiast najliczniejsza (LG9) z 81 markerów DArTseq i silicoDArT. Najdłuższa grupa (LG9) pokrywała 174,77 cM, natomiast najkrótsza (LG1) 35,72 cM. Łącznie, wszystkie grupy sprzężeń pokrywały 2270,72 cM, przy czym średnio markery występowały co 2,67 cM. Największą lukę pomiędzy markerami obserwowano w przypadku grupy LG21 (36,43 cM). Na podstawie markerów DArTseq i silicoDArT o znanej lokalizacji chromosomowej 7 grup sprzężeń przypisano do genomu A, 7 genomu do B pszenicy oraz 7 do genomu R żyta.

Interwałowe mapowanie kompozytowe bazujące na populacji RIL8: DB2 x RB2 Borwo umożliwiło identyfikację 4 QTL determinujących cechę męskiej sterylności pyłku u pszenżyta z cms Tt w obrębie badanej populacji mapującej. Analizę wykonano przy parametrach 'Walk Speed' - 2 'Window Size' - 2 i 'Markers' - 10. Test permutacji (1000 permutacji) wykazał istotność tych QTL. przy czym punktem odcięcia wszystkich QTL była wartość 3.7 LOD. QTLi identyfikowano w obrębie grup sprzężeń LG7 (1B). LG10 (3B). LG20 (5B) oraz LG6 (6A).

PODSUMOWANIE

1. Analiza statystyczna rozkładu cechy dla form BC1F8: DB1 x [DB1 x RB1] i MS HT 112(15)-2-1 cms Tt x [RIL8: MS HT 112 (15)-2-1 dop. x Borwo] wykazała, że badana cecha nie ma rozkładu normalnego.
2. Analiza statystyczna rozkładu cechy dla form BC1F8: DB2 x [DB2 x RB2] wykazała, że badana cecha ma rozkład normalny.
3. Opracowano mapę genetyczną dla populacji RIL8: DB2 x RB2 o średnim pokryciu genomu (wzięto pod uwagę wyłącznie markery szkieletowe) wynoszącym jeden marker na 2.92 cM.
4. Mimo wysycenia mapy genetycznej markerami DArTseq i silicoDArT obserwowano obszary pozbawione markerów, które są wynikiem rzadkich aktów rekombinacji w niektórych obszarach genomu.
5. Analiza CIM wykazała, że w obrębie populacji RIL8: DB2 x RB2 za utrzymanie sterylności pyłku mogą odpowiadać co najmniej 4 QTL lokalizujące się na chromosomach 1B. 3B. 5B oraz 6A. Na szczególną uwagę zasługują QTL na 1B i 6A ze względu na wysoką odziedziczalność tych QTLi.
6. Wielokrotne mapowanie interwałowe (MIM) potwierdziło obecność dwóch QTLi lokalizujących się na chromosomach 1B oraz 6A.
7. Uzyskane wyniki potwierdzają wielogenowy charakter cechy.
8. Mapowanie genetyczne w połączeniu z mapowaniem kompozytowym oraz mapowaniem wielokrotnym umożliwiło identyfikację markerów silnie sprzężonych z QTL-ami cechy.