Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: **15**

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 lub/i asocjowanych z możliwie szerokim 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 badawczy1***: Markerowanie genetyczne (DArTseq/silicoDArT) linii rekombinacyjnych.

*Cele tematu badawczego 1*: Genotypowanie linii RIL8: MS 114(5)-2-1 dop. x Borwo za pomocą markerów DArTseq.

*Materiały i metody:* Wykonano izolacje genomowego DNA 188 roślin linii RIL populacji mapującej RIL8: MS 114(5)-2-1 dop. x Borwo. Genotypowanie DArTseq zostało wykonane w Diversity Arrays Technology w Australii.

*Wyniki i dyskusja:* W wyniku genotypowania uzyskano 300663 markerów DArTseq w postaci macierzy z segregacjami oraz 58867 markerów silicoDArT (łącznie 89530 markerów DArT).

*Wnioski:* Metoda DArT umożliwiła identyfikację dużej liczby powtarzalnych markerów DArTseq i silicoDArT w obrębie analizowanej populacji RIL8: MS 114(5)-2-1 dop. x Borwo. Metoda DArTseq pozwala na uzyskanie od 10 do 100 tysięcy markerów. Dzięki znanej lokalizacja chromosomowa części z tych markerów możliwe jest przypisania poszczególnych grup sprzężeń do odpowiednich chromosomów gatunku.

***Temat badawczy 2:*** Identyfikacja markerów cechy (mapowanie genetyczne/mapowanie asocjacyjne).

*Cel tematu badawczego 2:* Opracowanie zagęszczonej mapy genetycznej oraz mapowanie genów przywracania płodności pyłku na podstawie wyników genotypowania oraz fenotypowania linii BC1F8 uzyskanych w wyniku krzyżowania MS 114(5)-2-1 cms Tt x [RIL8: MS 114(5)-2-1 dop. x Borwo]. Kolejnym celem było uzyskanie danych fenotypowych poprzez ocenę zawiązywania ziaren dla krzyżówki BC1F8: MS HT 352 cms Tt x [RIL8: MS HT 352 dop. x Borwo].

*Materiały i metody:*

Do opracowania mapy genetycznej (MultiPoint UltraDense) wykorzystano markery DArTseq oraz silicoDArT uzyskane dla populacji RIL8: MS 114(5)-2-1 dop. x Borwo. Mapowanie kompozytowe QTL genów utrzymania sterylności pyłku w systemie z cms Tt u pszenżyta dla populacji RIL8: MS 114(5)-2-1 dop. x Borwo w oparciu o markery DArTseq i silicoDArT uzyskane w wyniku genotypowania oraz dane fenotypowe uzyskane w wyniku analizy zawiązywania ziarniaków w obrębie populacji BC1F8: MS 114(5)-2-1 cms Tt x [RIL8: MS 114(5)-2-1 dop. x Borwo] wykonano w programie WinQTL Cartographer.Istotność QTLi określano na podstawie testu permutacji (1000).

*Wyniki i dyskusja:*

Mapowanie genetyczne wykonane dla populacji RIL8: MS 114(5)-2-1 dop. x Borwo umożliwiło identyfikację 21 grup sprzężeń, które przypisano do odpowiednich chromosomów pszenżyta. Na mapie znalazło się łącznie 44655 markerów (1181 markerów szkieletowych, 10705 redundantnych i 32769 dodanych). Najmniej liczna pod względem liczby markerów szkieletowych grupa sprzężeń 2R składała się z 18, natomiast najliczniejsza 5A z 91 markerów DArTseq i silicoDArT. Łącznie, wszystkie grupy sprzężeń pokrywały 2240.6 cM, przy czym średnio markery szkieletowe występowały co 2.13 cM.

Ocena zawiązywania ziaren będąca miarą utrzymania sterylności pyłku u pszenżyta wykazała zróżnicowanie cechy dla krzyżówki BC1F8: MS 114(5)-2-1 cms Tt x [RIL8: MS 114(5)-2-1 dop. x Borwo] oraz BC1F8: MS HT 352 cms Tt x [RIL8: MS HT 352 dop. x Borwo]. Obserwowano zarówno rośliny sterylne jak i takie, u których liczba ziaren w kłosie dochodziła do ponad 50-ciu.

Mapowanie QTL z wykorzystaniem złożonego mapowania interwałowego (CIM, ang. Composite Interval Mapping) wykazało obecność QTLi utrzymania sterylności pyłku u pszenżyta z cms Tt w obrębie grup sprzężeń **2A, 3B, 4A, 5A, 7A i 7R**. Wielokrotne mapowanie interwałowe (MIM, ang. Multiple Interval Mapping) potwierdziło obecność części QTLi występujących w obrębie chromosomów 2A, 3B i 5A.

Obecnie niewiele wiadomo o genach odpowiedzialnych za utrzymanie sterylności pyłku u pszenżyta. Z badań prowadzonych w Polsce z wykorzystaniem populacji mapujących F2 wynika, że cms Tt jest warunkowana co najmniej kilkoma genami jądrowymi o relatywnie słabych efektach i nie do końca sprecyzowanej lokalizacji chromosomowej. Badania realizowane w ramach Postępu Biologicznego w latach 2015-2018 wykazały, że cacha ma charakter wielogenowy. Obserwowano również, że różne QTLe mogą występować w różnych populacjach, a ich kumulacja w obrębie genotypu jest istotna dla ekspresji cechy. I tak, QTL cechy utrzymania sterylności w populacji mapującej RIL5: DB1 x RB1 lokalizuje się na chromosomie 4A, a w populacji RIL6: MS HT 112(15)-2-1 x Borwo w grupach sprzężeń przypisanych do chromosomów 3R, 4R oraz 6B. Analiza populacji RIL6: MS HT 352 x Borwo sugeruje występowanie QTL na chromosomie 1B oraz 7A. Dodatkowo dla tej populacji identyfikowano dwa QTLe w obrębie grup sprzężeń, które nie zostały przypisane do chromosomów genomu pszenżyta. W przypadku populacji RIL8: DB1 x RB1 stwierdzono obecność QTL na chromosomach 1B, 3B, 5B i 6A. Wyniki uzyskane w bieżącym roku częściowo pokrywają się z wcześniejszymi danymi i ukazują, że cecha jest warunkowana dodatkowymi QTLami z których te na 2A, 3B i 5A są najsilniejsze.

*Wnioski:*

1. Opracowano mapę genetyczną pszenżyta dla populacji mapującej RIL8: MS 114(5)-2-1 dop. x Borwo.
2. Mapowanie QTLi utrzymania męskiej sterylności /przywracania płodności pyłku u pszenżyta z cms Tt potwierdziło złożoność cechy oraz jej warunkowanie wieloma QTLami, specyficznymi dla różnych populacji mapujących.
3. Wydaje się, że selekcja wsparta markerami molekularnymi w wariancie klasycznym możliwa jest wyłącznie z wykorzystaniem linii RIL danej populacji mapującej i będzie mieć ograniczony skutek (problemem będzie dobór form rodzicielskich do krzyżowań).

***Temat badawczy 3***: Testowanie markerów molekularnych na szerszej populacji genotypów.

*Cele tematu badawczego 3*: Identyfikacja markerów pracujących na różnych genotypach lub wytypowanie markerów najsilniej sprzężonych/asocjowanych z najmocniejszymi QTL cechy.

*Materiały i metody:* Wszystkie badane w ramach projektu populacje mapujące RIL8: MS 114(5)-2-1 dop. x Borwo; RIL8: DB2 x RB2, RIL6: MS HT 352 dop. x Borwo, RIL6: MS 112(15)-2-1 dop. x Borwo oraz RIL5: DB1 x RB1.

*Wyniki i dyskusja:* Ze względu na dużą różnorodność QTLi występujących w obrębie poszczególnych populacji mapujących wytypowanie markerów wspólnych dla wszystkich   
z nich jest raczej niemożliwe. Najwyraźniej dla każdej z badanych populacji należy typować inne markery molekularne sprzężone z najsilniejszymi QTLami cechy. Należy jednak pamiętać, że QTLe wytypowane dla poszczególnych populacji mapujących mogą, ze względu na rodzaj i sposób prowadzenia materiału badawczego, mieć nadmierne (przecenione) wartości QTLi.

*Wnioski:* Zróżnicowanie badanych populacji mapujacych pod względem występowania QTLi utrzymania sterylności pyłku u pszenżyta z CMS Tt uniemożliwia wytypowanie wspólnych markerów. Dla każdej z badanych populacji należy typować inne markery molekularne sprzężone z najsilniejszymi QTLami cechy.