

# **SPRAWOZDANIE**

**z realizacji zadania nr 21 na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej**

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

Okres realizacji: 2014-2020

Kierownik zadania: prof. dr hab. Piotr Bednarek ([p.bednarek@ihar.edu.pl](mailto:p.bednarek@ihar.edu.pl))

Wykonawcy: dr hab. Agnieszka Niedziela, mgr Sławomir Bany, DANKO Hodowla Roślin Sp. z o.o., Poznańska Hodowla Roślin Sp. z o.o.

## Cele projektu:

- Wyprowadzanie kolejnych pokoleń linii rekombinacyjnych (F5-F8) dla czterech populacji mapujących – cel został osiągnięty
- Opracowanie zagęszczonej mapy genetycznej żyta w wykorzystaniem populacji mapujących RIL oraz markerów silicoDArT i SNP – cel został osiągnięty
- Mapowanie QTLi (ang. Quantitative Trait Locus) przywracania płodności pyłku u żyta z CMS Pampa oraz identyfikacja markerów molekularnych DNA silnie sprzężonych oraz asocjowanych z cechą – cel został osiągnięty
- Sekwencjonowanie obszarów genomu żyta w sąsiedztwie markerów silnie sprzężonych z genami przywracania płodności pyłku u form z CMS Pampa – cel został osiągnięty
- Testowanie markerów silicoDArT i SNP na szerszej populacji genotypów – cel został osiągnięty
- Selekcja genotypów o pożądanym kombinacjach genów przywracania płodności pyłku z wykorzystaniem dostępnych materiałów roślinnych w oparciu o markery molekularne – cel został osiągnięty

## **Materiały:**

Populacje mapujące RILs (ang. Recombinant Inbred Lines) prowadzone do poziomu pokolenia F8:

**S64/04/01:** S305N/00 x SO37R/05 - 186 linii; DANKO Hodowla Roślin Sp. z o.o.

**S60/08:** S305N/00 x SO2R/05 - 116 linii; DANKO Hodowla Roślin Sp. z o.o.

**RIL-A:** NS08135N/2 x 83/81(78A-674 TUR)/2) - 183 linie; Poznańska Hodowla Roślin Sp. z o.o.

**RIL-B:** NS08135N/4 x 83/81(78A-674 TUR./4) - 39 linii, Poznańska Hodowla Roślin Sp. z o.o. (niewystarczająca liczebność do wykonania analiz molekularnych)

## **Metody:**

- **Analiza fenotypowa populacji RIL** - krzyżowanie wsteczne poszczególnych linii z linią mateczną, ocena pylenia roślin BC1F1 według skali opracowanej przez Geiger'a i Morgenstern'a (Theor Appl Genet, 46:269-276, 1975)
- **Izolacja DNA z liści poszczególnych linii rekombinacyjnych** - zestaw do izolacji DNeasy Plant Mini Kit 250 (Qiagen)
- **Genotypowanie materiału roślinnego** - technologia DArTseq, detekcja markerów SNP oraz silicoDArT
- **Konstrukcja map genetycznych dla populacji mapujących RIL** - programy MultiPoint Ultra Dense oraz JoinMap5
- **Identyfikacja QTLi cechy przywracania płodności pyłku** - programy WinQTL Cartographer oraz MapQTL, mapowanie kompozytowe (CIM, ang. Composite Interval Mapping)
- **Identyfikacja markerów przywracania płodności pyłku** - na podstawie wyników mapowania kompozytowego oraz asocjacyjnego (program TASSEL)
- **Analiza bioinformatyczna sekwencji markerów sprzężonych i asocjowanych z cechą** - baza danych NCBI (The National Centre for Biotechnology Information), algorytm BLASTn oraz baza danych IPK Rye Blast Server (<https://webblast.ipk-gatersleben.de/ryeselect/>)
- **Konwersja markerów SNP i SilicoDArT do warunków specyficznego PCR** - projektowanie starterów na podstawie sekwencji homologicznych do sekwencji markerów SNP i SilicoDArT, m. in. z uwzględnieniem miejsc restrykcji dla enzymu PstI (program CLC Workbench). Dobór temperatury powielania markerów w termocyklerze z gradientem temperatur oraz testowanie ich powielania na populacjach mapujących RIL
- **Testowanie konwertowanych markerów na szerszej populacji genotypów oraz selekcja genotypów o pożądanym kombinacjach genów przywracania płodności pyłku** - analiza PCR

# Fenotypowanie roślin uzyskanych w wyniku krzyżowań wstecznych z formą mateczną

Tabela 1. Częstość występowania poszczególnych fenotypów potomstwa generatywnego BC1F1 (%) dla trzech badanych populacji mapujących uzyskana na dwóch różnych poziomach wsobności.

Ocena pylenia*	S305P/00 x (S60/08): S305N/00 x SO 2R/05		S305P/00 x (S64/04/01): S305N/00 x SO 37R/05		NS135P x (RIL-A): NS 08135N/2 x 83/81 (78A-674 TUR.)/2	
	BC1F1 RIL6	BC1F1 RIL8	BC1F1 RIL7	BC1F1 RIL8	BC1F1 RIL4	BC1F1 RIL8
1	50.00	37.27	53.85	53.10	0.00	0.00
2	0.00	7.27	0.00	1.37	0.00	0.00
3	0.00	11.82	2.10	0.68	11.47	0.00
4	0.00	0.91	0.00	0.00	3.27	0.00
5	0.00	3.64	2.10	2.75	2.18	0.00
6	6.25	2.73	0.00	1.37	3.82	0.00
7	3.13	10.91	4.90	3.44	28.41	3.85
8	25.00	12.73	0.00	1.37	48.01	45.19
9	15.63	12.73	37.06	34.48	2.73	50.96

\* - ocena wg. skali bonitacyjnej zaproponowanej przez Geigera i Morgensterna (1975): 1-3 rośliny sterylne o różnym poziomie degradacji pylników; 4, 5 i 6 rośliny częściowo sterylne wytwarzające odpowiednio <10%, 11–50% i <50% płodnych pylników; 7-9 rośliny płodne zróżnicowane pod względem wielkości pylników.

## Genotypowanie populacji RIL

Średnia liczba markerów generowana dla populacji mapujących z zastosowaniem Diversity Arrays Technology Pty Ltd.: SNP – 42 000; SilicoDArT – 130 000

- Ocena fenotypowa roślin BC1F1 uzyskanych w wyniku krzyżowania poszczególnych linii populacji S64/04/01 oraz S60/08 z linią mateczną wykazała obecność prawie wyłącznie genotypów skrajnych płodnych oraz sterylnych (Tabela 1). Taki wynik nie odbiega od danych literaturowych (Stracke i in. 2003; Stojalowski i in. 2017) i może świadczyć o obecności silnego locus odpowiedzialnego za przywracanie płodności pyłku u żyta z CMS Pampa.
- Obecność genotypów wyłącznie płodnych w populacji RIL-A na poziomie pokolenia RIL8 powoduje, że populacja ta nie może zostać wykorzystana do identyfikacji QTLi cechy na tym poziomie wsobności, natomiast jest przydatna do konstruowania mapy. Do identyfikacji QTLi tej populacji wykorzystano dane uzyskane dla pokolenia RIL4.
- Żyto jest gatunkiem obcopylnym i samoniezgodnym co sprawia, że jest ono bardzo wrażliwe na samozapylenia skutkujące utratą wigoru i płodności. Na etapie wprowadzania kolejnych pokoleń RIL poprzez kolejne samozapylenia utracono większość linii populacji RIL-B, co spowodowało jej odrzucenie z analiz molekularnych.

# Mapowanie genetyczne populacji RIL-A (F4), S60/08 (F8) oraz S64/04/01 (F8)

Tabela 2. Charakterystyka map genetycznych populacji RIL-A, S60/08 oraz S64/04/01

	Chromosom	1R	2R	3R	4R	5R	6R	7R	Razem	Średnio
RIL-A	Liczba markerów szkieletowych	101	83	47	60	113	104	59	<b>567</b>	-
	Ogólna liczba markerów	165	150	306	135	217	216	102	1291	-
	Długość mapy (cM)	145.5	106.2	129.7	114.1	161.7	189.2	115.6	<b>962</b>	-
	Wysycenie mapy (marker/cM)	1.44	1.27	2.75	1.90	1.43	1.82	1.96	-	<b>1.79</b>
S60/08	Liczba markerów szkieletowych	57	41	23	42	30	43	36	<b>272</b>	-
	Ogólna liczba markerów	2051	1508	952	1692	652	1080	1905	9840	-
	Długość mapy (cM)	145.9	183.9	65.9	159.2	85.7	170.6	69.1	<b>880.3</b>	-
	Wysycenie mapy (marker/cM)	2.55	4.48	2.86	3.79	2.85	3.96	1.91	-	<b>3.20</b>
S64/04/01	Liczba markerów szkieletowych	97	103	79	71	98	102	93	<b>643</b>	-
	Ogólna liczba markerów	2288	2482	2394	1782	2077	2426	2067	15516	-
	Długość mapy (cM)	147.1	182.8	123.0	160.0	155.1	157.8	144.7	<b>1070.5</b>	-
	Wysycenie mapy (marker/cM)	1.52	1.77	1.56	2.25	1.58	1.55	1.56	-	<b>1.66</b>

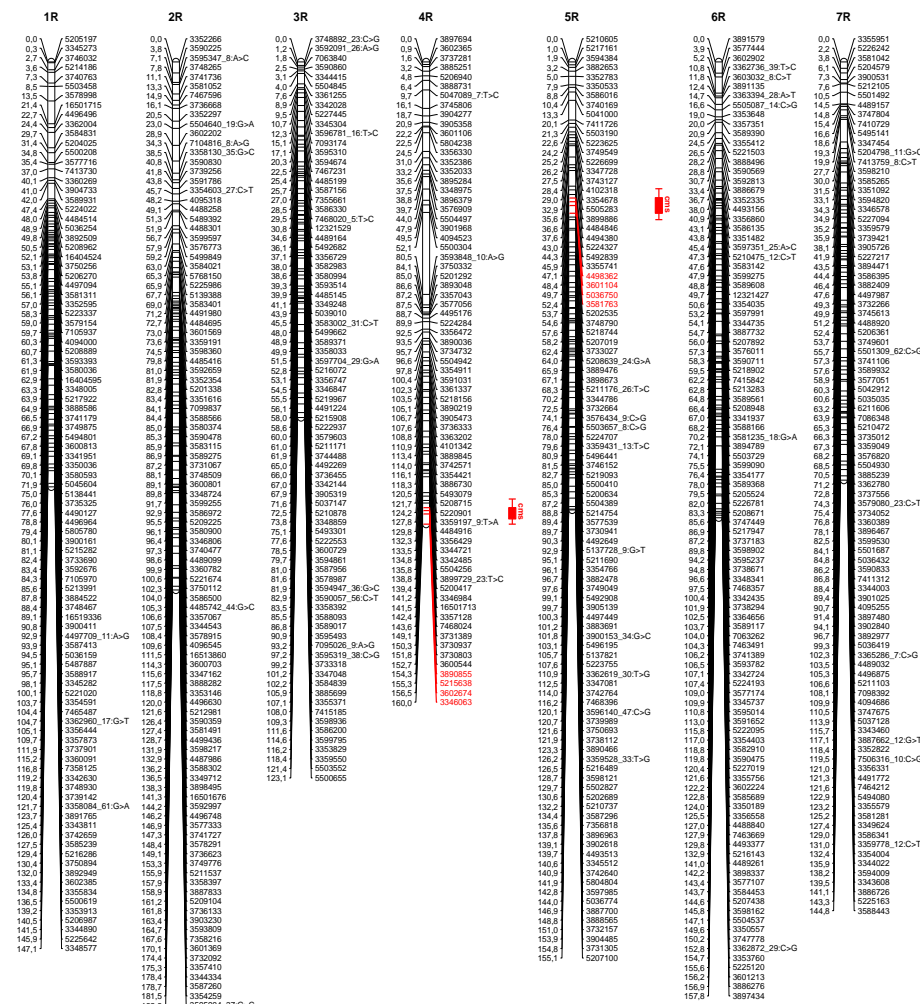
Ogólna liczba markerów naniesiona na mapy genetyczne uzyskane na podstawie analizy sprzężeń oznacza sumaryczną liczbę markerów szkieletowych (S), redundantnych (identyczna segregacja jak w przypadku markera S) oraz markerów aproksymowanych (w przypadku populacji S60/08 oraz S64/04/01), których potencjalna lokalizacja została określona przez program MultiPoint Ultra Dense.

➤ Na podstawie wyników segregacji markerów SNP i silicoDArT opracowano mapy genetyczne dla każdej z badanych populacji mapujących (Tabela 2).

➤ Otrzymane mapy składały się z 7 grup sprzężeń odpowiadających poszczególnym chromosomom żyta (1R-7R) i pokrywały od 880.3 cM (S60/08) do 1070.5 cM (S64/04/01).

➤ Wysycenie otrzymanych map genetycznych waha się od 1.66 markera/cM (S64/04/01) do 3.20 markera/cM (S60/08), co pozwala na wiarygodną lokalizację QTLi cechy (Rysunek 1).

Rysunek 1. Mapa genetyczna populacji RIL S64/04/01 wraz z naniesionymi QTLami cechy.



## Identyfikacja QTL przywracania płodności pyłku na mapach sprzężeń

Tabela 3. Charakterystyka QTLi cechy zlokalizowanych na mapach sprzężeń populacji RIL-A (F4), S60/08 (F8) oraz S64/04/01 (F8)

	Chr	QTL	Markery najsilniej sprzężone z cechą (pozycja na mapie cM)	Liczba markerów redundantnych	Max. LOD (cM)	Wartość max. LOD	A	R <sup>2</sup> (%)
<b>RIL-A</b>	1R	QRft-1R	4104069AG51 (95.6) - 3352651GA34 (102.1)	0/0	97.5	30.8	2.91	58.0
	3R	QRft-3R	509594 (82.2) - 3590676TG17 (104)	3/25	91.8	16.4	1.09	8.6
	4R	QRft-4R	5502529GT20 (19.0) - 349226 (34.7)	0/1	28.1	16.2	1.43	13.5
	5R	QRft-5R	507884 (135.5) - 3586723CT05 (160.0)	0/2	143.0	12.9	1.12	5.0
<b>S60/08</b>	4R	QRft-4R	3588232 (134.85) - 3577180 (132.88)	11/3	134.01	10.15	2.14	30.9
<b>S64/04/01</b>	4R	QRft-4R	5605674 (156.51) - 5546063 (160.01)	5/0	157.00	30.29	3.19	60.0
	5R	QRft-5R	3601104 (48.38) - 5036750 (49.73)	1/1	49.01	4.55	1.31	5.5

LOD – (ang. Logarithm of odds) test logarytmiczny określający pewność lokalizacji QTL w danym miejscu na chromosomie; R<sup>2</sup> (%) – procentowa wartość wytłumaczonej zmienności cechy; A - wartość efektu addytywnego

- Mapowanie QTL z wykorzystaniem mapowania kompozytowego wykazało, że główne QTL przywracania płodności pyłku u żyta z CMS Pampa odpowiedzialne za 58.0%, 60% i 30.9% wytłumaczonej wariacji cechy lokalizują się odpowiednio na chromosomie 1R (QRft-1R) w populacji RIL-A, 4R (QRft-4R) w populacji S64/04/01 oraz w tej samej lokalizacji w populacji S60/08 (Tabela 3).

### Mapowanie asocjacyjne

- Mapowanie asocjacyjne umożliwiło identyfikację 32, 176 i 241 markerów SNP i silicoDArT odpowiednio dla populacji RIL-A, S60/08 oraz S64/04/01.
- Stopień asocjacji markerów z przywracaniem płodności pyłku u żyta z CMS Pampa określany za pomocą współczynnika determinacji (R<sup>2</sup>) wynosił od 0.163 do 0.592 co świadczyło o silnych asocjacjach tych markerów z cechą. Użyteczność markerów do różnicowania materiałów weryfikowano za pomocą testu Bonferroni'ego ustalając wartości odcięcia istotności danego markera dla  $\alpha = 0.05$  równą  $0.05/\text{liczba badanych markerów}$ .
- Najwyższy poziom asocjacji markerów z cechą odnotowano dla markerów przypisanych do chromosomu 1R populacji RIL-A oraz chromosomu 4R populacji S60/08 i S64/04/01. Część z tych markerów lokalizowało się w obrębie QTLi cechy odpowiednich populacji mapujących.
- Wyniki mapowania asocjacyjnego i kompozytowego są zgodne i potwierdzają obecności silnych QTLi przywracania płodności pyłku na chromosomach 1R i 4R.

# Analiza bioinformatyczna sekwencji markerów sprzężonych i asocjowanych z cechą

- Analiza bioinformatyczna markerów silicoDArT i SNP sprzężonych lub/i asocjowanych z cechą przywracania pyłku u żyta z CMS Pampa wykazała istotne podobieństwo licznych sekwencji do sekwencji kodującej białko **Rf1** rzodkiewnika (6 markerów) oraz locus **Rfm1** jęczmienia (27 markerów) związanych z przywracaniem płodności pyłku. Biorąc pod uwagę homologię locus *Rfm1* jęczmienia oraz *Rfp1* i *Rfp3* żyta (Hackauf i in. 2012 i 2017) oraz wysoki poziom wytłumaczonej wariacji zmienności cechy locus *Rfp1* żyta (Miedaner i in. 2000) oraz QRft-4R (ok 60%) identyfikowanego w populacjach S60/08 i S64/04/01 należy sądzić, że mamy do czynienia z tym samym obszarem genomu.
- Innym genem, którego adnotacja pojawiła się w odniesieniu do dwudziestu sekwencji markerów zlokalizowanych w obrębie QTL na 4R oraz asocjowanych z cechą był **czynnik terminacji transkrypcji MTERF**. Dane literaturowe wskazują, że czynnik ten lokalizuje się w sąsiedztwie genów *Rf* (Hackauf et al. 2012).
- Badania podobieństw sekwencji markerów analizowanych w projekcie z sekwencjami zgromadzonymi w bazie danych NCBI wykazały, że aż osiem z nich zostało przypisanych do genu kodującego keratynę (KAP 5-4-like i 5-5-like). Prawdopodobnie takie odniesienia wynikają z podobieństwa jego krótkiej sekwencji kodującej keratynę (427pz) do sekwencji regionu bogatego w glicynę (**GRP**) identyfikowanego u ryżu w sąsiedztwie genu *Rf2* (Itabashi i in. 2011). Uważa się, że region ten jest odpowiedzialny za bezpośrednią interakcję z białkiem wywołującym CMS lub może łączyć się z innymi białkami tworząc wielocząsteczkowy kompleks biorący udział w przywracaniu płodności pyłku (Itabashi i in. 2011).

## Konwersja markerów SNP i SilicoDArT do warunków specyficznego PCR

Tabela 4. Charakterystyka markerów konwertowanych (c) do warunków specyficznego PCR silnie sprzężonych oraz asocjowanych z cechą segregujących identycznie jak ich odpowiednik silicoDArT lub SNP.

SNP/silicoDArT	LEFT PRIMER 5' -->3'	RIGHT PRIMER 5' -->3'	Tem (°C)	Wiel. (pz)	Adnotacja sekwencji homologicznej
3602674c	acagggatcaaaggggtcag	acacatgtacagcccggagaa	62.5	487	brak
3575913c	ttcggggagagcatgatacc	cacaaatcgaaggggagcag	62.5	632	brak
4099882	cttgctgcacttgaagagg	gcgctacagaaaactgcact	62.5	626	putative disease resistance protein RPP13
3358168c	gtgctggtgttggtggtt	tcaggcgggtgacacagtt	63.5	423	keratin-associated protein 5-4-like
5500711c	accaaggctgctacaagga	tcgtggcaacctctctaca	62.5	615	Rfm1 gene locus
7468199c	tcatcagccgtgttagtgt	cgtcgcacatctagtgcag	60.3	590	cytochrome P450 709B2-like
3599980CG67c*	gtatagtcagagaggag	agcaacctccaaggaac	49.0	247(P), 255(S)	Rfm1 gene locus
3744671c*	gtggcttcttctcgtt	atcaactcctctcacc	55.0	189(S), 174(S)	Protein Rf1, mitochondrial-like

\*Startery powielające markery zawierające miejsce restrykcji dla enzymu PstI;; Chr- chromosom; Tem - temperatura anilingu; Wiel.- wielkość powielanego fragmentu

- W wyniku konwersja 35 markerów do warunków specyficznego PCR otrzymano 13 markerów zlokalizowanych na chromosomie 4R różnicujących linie płodne (P) i sterylne (S) żyta populacji RIL S64/04/01 oraz RIL S60/08 (Rysunek 2).
- Osiem z tych markerów segregowało identycznie jak ich odpowiedniki przed konwersją (Tabela 4).

Rysunek 2. Przykładowy obraz żelu agarazowego z rozdziałem produktów reakcji PCR po zastosowaniu markera 3358168c w populacji mapującej RIL S60/08.



### LITERATURA:

Miedaner T, Glass C, Dreyer F, Wilde P, Wortmann H, Geiger HH (2000) Mapping of genes for male-fertility restoration in 'Pampa' CMS winter rye (*Secale cereale* L.). *Theor Appl Genet* 101:1226-1233.

Hackauf B, Korzun V, Wortmann H, Wilde P, Wehling P (2012) Development of conserved ortholog set markers linked to the restorer gene *Rfp1* in rye. *Mol Breed* 30:1507-1518.

Itabashi E, Iwata N, Fujii S, Kazama T, Toriyama K (2011) The fertility restorer gene, *Rf2*, for Lead Rice-type cytoplasmic male sterility of rice encodes a mitochondrial glycine-rich protein. *The Plant Journal* 65: 359–367.



## Testowanie konwertowanych markerów na szerszej populacji genotypów celem selekcji genotypów o pożądanych kombinacjach genów przywracania płodności pyłku oraz ocena ich wykorzystania do selekcji wstecznej

Tabela 5. Charakterystyka siły powiązania z cechą przywracania płodności pyłku markerów konwertowanych do warunków specyficznego PCR segregujących w materiałach matecznych (96 linii) i ojcowskich (96 linii) żyta. Wartości istotne statystycznie pogrubiono.

Nazwa konwertowanego markera	Mapowanie AS <sup>a</sup>		Częstotliwość wystąpienia markera		Korelacja markera z cechą*
	p-value	R2	Linie mateczne	Linie ojcowskie	
16404809	<b>2.86E-14</b>	<b>0.277</b>	19.8%	75.0%	<b>0.526</b>
3885887	<b>3.50E-08</b>	<b>0.157</b>	40.6%	79.2%	<b>0.395</b>
3357239	8.88E-06	0.105	18.7%	50.0%	<b>0.323</b>
3358168	1.03E-05	0.104	21.8%	57.3%	<b>0.322</b>
5500711	7.39E-04	0.062	10.4%	0.0%	<b>-0.248</b>
7468199	0.0202	0.030	60.4%	76.0%	<b>0.172</b>
3582093	0.5669	0.002	84.4%	87.5%	0.042
3602674	0.5508	0.002	91.7%	88.5%	-0.044
4099882	0.1972	0.009	85.4%	90.6%	0.096
3575913	0.2223	0.008	83.3%	89.6%	0.091

\*Korelacja rang Spearmana; wartości istotne przy  $p < 0,05$ ; wartość dodatnia oznacza korelację z markerem, ujemna z jego brakiem;

<sup>a</sup>- Mapowanie asocjacyjne, wartość graniczna istotności asocjacji markera z cechą  $p\text{-value} = 3.1E-06$  ( $\alpha = 0.05$ ).

Tabela 6. Charakterystyka występowania markerów konwertowanych do warunków specyficznego PCR w 148 liniach BC4F1

BC4F1:	1R		4R	
	508859	399799	401955	507026
S59/08/1/3/99 x SR 13	12	4	15	7
S59/08/1/3/99 x SO23R/09	7	29	27	13
S59/08/1/3/99 x WM 11R	2	1	5	1
S59/08/1/3/99 x WM 19R	2	7	10	9
S59/08/1/3/99 x WM 30R	2	5	2	2
S59/08/1/3/99 x WM 34R	31	48	67	23
S59/08/1/3/99 x WM 35R	6	1	12	10
<b>SUMA</b>	<b>62</b>	<b>95</b>	<b>138</b>	<b>65</b>

- Stopień asocjacji markerów konwertowanych do warunków PCR z cechą przywracania płodności pyłku w obrębie testowanej puli genowej linii matecznych i ojcowskich waha się od 15.7 (3885887) do 27.7% (16404809). Niestety, markery występowały zarówno w puli form sterylnych jak i płodnych (Tabela 5). Ponadto ich segregacja w liniach RIL była niezgodna z segregacją markera przed konwersją.
- Biorąc pod uwagę fakt, że markery po konwersji były silnie sprzężone z QTL przywracania płodności pyłku na chromosomie 4R w przypadku odpowiednich populacji RIL należy przypuszczać, że silny allel warunkujący ekspresję cechy praktycznie nie występuje w materiałach polskich.
- Na obecnym poziomie zaawansowania prac trudno jest jednoznacznie stwierdzić czy genotypy, u których wykryto obecność konwertowanych markerów rzeczywiście zawierają silny QTL badanej cechy. Wydaje się jednak, że ze względu na niską częstość występowania markera 16404809 w obrębie form płodnych marker ten jest dobrym kandydatem do wstępnej selekcji potencjalnych form ojcowskich.
- Analiza obecności markerów DArT konwertowanych do warunków specyficznego PCR opracowanych w roku 2013 w liniach BC4F1, do których wprowadzano QTL zlokalizowane na 1R i 4R pozwoliła na zobrazowanie ich użyteczności do selekcji wstecznej. Najlepszy efekt przywracania płodności pyłku (restoracji) wykazywały materiały roślinne, których profilowanie wykazywało obecność markera 401955 sprzężonego z QTL na chromosomie 4R (Tabela 6).



## Osiągnięcia projektu:

- Opracowano mapy genetyczne żyta, które mogą zostać wykorzystane do mapowania licznych cech użytkowych.
- Zidentyfikowano silne QTL przywracania płodności pyłku u żyta z CMS Pampa występujące w obrębie chromosomów 1R oraz 4R, pozostałe QTL o niewielkim efekcie fenotypowym zidentyfikowano na chromosomach 3R, 4R i 5R.
- Konwersja markerów DArT do warunków specyficznego PCR umożliwiła opracowanie markerów przydatnych do selekcji wstecznej względem QTL na 1R (2 markery) i 4R (2 markery). Markery te (a w szczególności markery względem 4R) wykorzystano w krzyżowaniach wstecznych celem wzbogacenia puli linii ojcowskich o silny allel 4R.
- Wybrane formy ojcowskie/restorerowe stosowane w hodowli heterozyjnej zostały wzbogacone o QTL 4R i przekazane do hodowli. Materiały te charakteryzowały się wysokimi wartościami pylenia wg bonitacyjnej skali płodności pyłku.
- Markery SNP i silicoDArT (względem 4R) po konwersji do warunków specyficznego PCR wykazywały segregację identyczną z markerami przed konwersją (8 markerów). W przypadku szerszej puli genowej konwertowane markery wykazywały niższy poziom asocjacji z cechą co potwierdza fakt, że materiały polskie są ubogie w ten allel. Użyteczność markerów względem QTL na 4R wymaga dalszej weryfikacji. Bez wątplenia markery te mogą być wykorzystane w przypadku selekcji wstecznej.
- Ustalono, że markery zlokalizowane w obrębie QTLa cechy przywracania płodności pyłku u żyta na chromosomie 4R wykazują homologię sekwencji z sekwencją loci genu przywracania płodności pyłku *Rfm1* zlokalizowanego u jęczmienia na chromosomie 6H oraz z sekwencją genów MTERF (transcription termination factor) i KAP5 (keratin-associated protein 5).
- Złożono dwa projekty w ramach Postępu Biologicznego w Produkcji Roślinnej finansowanego przez MRiRW będące rozwinięciem dotychczasowych badań (ze skutkiem negatywnym).

## Publikacje naukowe:

Wasiak M (2019) Genetyczne podstawy cytoplazmatyczno-jądrowej męskiej sterylności (CMS) u roślin oraz jej wykorzystanie w hodowli. Praca przeglądowa. *Agronomy Science*, 74(1), 15-30. <https://doi.org/10.24326/as.2019.1.2>, **MEiN = 20 pkt**

Niedziela A, Brukwiński W, Bednarek PT (2020) Genetic mapping of pollen fertility restoration QTLs in rye (*Secale cereale* L.) with CMS Pampa. *Journal of Applied Genetics*, DOI: 10.1007/s13353-020-00599-9, **IF = 2.027 (2019)**, **MEiN = 70 pkt**

## Doniesienia konferencyjne:

Niedziela, A., Wasiak, M., Kozber, B., Brukwiński, W., Bednarek, P.T. "Genetic map for the identification of molecular markers associated with pollen fertility restoration genes in winter rye with CMS PAMPA." Global Conference on Plant Science and Microbial Ecology, 17-19.06.2019, Walencja, Hiszpania. Materiały konferencyjne: str. 13.

Szeląg, M., Niedziela, A., Bednarek, P.T., Kozber, B. "Genetic mapping of quantitative trait loci for cytoplasmic male sterility in rye (*Secale cereale* L.) with cytoplasm PAMPA." International Association for Plant Biotechnology Congress, 19-24.08.2018, Dublin, Irlandia, *In Vitro Cellular and Developmental Biology* 54/1: S90/P90.

Grzesik, A., Szeląg M., Brukwiński, W., Kozber B., Zając, M., Bednarek, P.T. "A high-density genetic map of winter rye (*Secale cereale* L.) based on DArTseq and silico DArT markers." 4th International Symposium on Genomics of Plant Genetic Resources, 03-07.09.2017, Giessen, Niemcy, Materiały konferencyjne: str. 30.

Grzesik, A., Szeląg, M., Brukwiński, W., Kozber, B., Zając, M., Bednarek, P.T. "The identification of DNA markers tightly linked to pollen-fertility restoration genes in rye (*Secale cereale* L.) with CMS Pampa using RIL mapping population." 4th International Symposium on Genomics of Plant Genetic Resources, 03-07.09.2017, Giessen, Niemcy. Materiały konferencyjne: str. 38.

Koc, K., Niedziela, A., Kozber, B., Brukwiński, W., Zając, M., Bednarek, P.T. "Identification of pollen fertility restoration markers in rye with CMS Pampa." 20th EUCARPIA General Congress, 29.08-1.09.2016, Zurych, Szwajcaria. Materiały konferencyjne: str. 215.

Koc, K., Niedziela, A., Kozber, B., Brukwiński, W., Materka, M., Bednarek, P.T. "Identification of pollen fertility restoration markers in rye with CMS Pampa." EUCARPIA Cereals Section: „International Conference on Rye Breeding and Genetics.” 24-26.06.2015, Wrocław. Materiały konferencyjne: str. 66-67.

Bednarek, P.T., Koc, K.B., Kozber, B., Brukwiński, W. „Genetic mapping of winter rye (*Secale cereale* L.) based on DArTseq and GBS markers” “Cereals for Food, Feed and Fuel-Challenge for Global Improvement.”, 29.06-04.07.2014 Wernigerode, Niemcy. Materiały konferencyjne: str. 308.