**Podzadanie nr 3.3**

### Przeniesienie zdolności do androgenezy z linii modelowych do linii hodowlanych żyta w oparciu o opracowane markery molekularne tej cechy.

CEL:

1. Zbadanie sposobu dziedziczenia zdolności do androgenezy.
2. Podstawowym celem jest identyfikacja regionów genomu związanych ze zdolnością do androgenezy i próba znalezienia markerów molekularnych dla tej cechy wykrywanych metodą PCR

Nowe technologie (m.in. podwojonych haploidów) odgrywają znaczącą rolę w hodowli roślin skrócenie czasu potrzebnego do wytworzenia nowych odmian i hybryd. Hodowla mieszańcowa zbóż, a w tym żyta, oparta jest o krzyżowanie homozygotycznych męskosterylnych linii matecznych z ojcowskimi liniami przywracającymi płodność, dając wysoki efekt heterozji w pokoleniu F1. Linie homozygotyczne są wyprowadzane w przypadku żyta metodą żmudnego chowu wsobnego, mającego na celu przełamywanie jego samoniezgodności. Publikowane w ostatnich latach strategie hodowli roślin zawsze przewidują zastosowanie linii DH na którymś etapie powstawania odmiany (Marulanda i in., Theor. Appl. Genet. 129). Zastosowanie metody androgenezy w polskiej hodowli daje możliwość znacznego skrócenia cyklu hodowlanego w sytuacji silnej konkurencji firm z innych krajów. Udoskonalone metody androgenezy będą znajdować coraz większe zastosowanie w hodowli zbóż. Jednak ich wdrożenie do codziennej praktyki hodowlanej zależy w największej mierze od tego, czy zostanie przełamana bariera niskiej wydajności regeneracji. W ramach prowadzonych badań zamierzamy wykazać, że cecha androgeniczności przenosi się do potomstwa i zbadać jak jest przenoszona zważywszy, że jest to zapewne cecha poligeniczna.

Aby osiągnąć ten cel proponujemy przeniesienie cechy zdolności do androgenezy drogą krzyżowania linii o wysokiej zdolności do androgenezy do linii hodowlanych oraz wyselekcjonowanie sekwencji powiązanych ze zdolnością do androgenezy. Poznanie tych sekwencji pozwoli na zaprojektowanie markerów PCR, które umożliwią monitorowanie tej cechy w genotypach hodowlanych.

W projekcie zostanie wykorzystana linia o bardzo wysokiej zdolności do androgenezy wyprowadzona w toku badań realizowanych w latach 2015-2020. W technikach regeneracji roślin podstawowym czynnikiem wpływającym na wydajność regeneracji jest genotyp. U wielu gatunków roślin, udało się znaleźć genotypy “modelowe” jak np. kupkówka (Conger i in 1989), odmiana Igri u jęczmienia (Jähne i in 1994) czy odmiana Bogo u pszenżyta (Zimny i in 1995). Ostatnio udało się w ZBiCR IHAR Radzików znaleźć takie linie żyta. Wyselekcjonowano linie o niespotykanej dotąd efektywności regeneracji DH żyta. Jednocześnie ustalono optymalny dla żyta rodzaj stresu indukujący podziały mikrospor i regenerację DH (Zimny i in. 2021).

Po skrzyżowaniu tej o wysokiej zdolności do androgenezy z liniami o niskiej efektywności, wytworzone zostaną przy użyciu odpowiednio licznych populacji F2– zestawy rekombinacyjnych linii żyta. Tak uzyskane populacje zostaną poddane fenotypowaniu i genotypowaniu w celu powiązania analizowanej cechy zdolności do androgenezy z obrazem molekularnym. Żyto jest gatunkiem o bardzo dużej zmienności genetycznej. Wybrane osobniki pochodzące z podgrup o najwyższej oraz najniższej zdolności do androgenezy przeznaczone zostaną do sekwencjonowania RNA. Sekwencjonowanie BSR-seq (Bulked segregant RNA-seq) to nowa i coraz częściej stosowana metoda mapowania QTLi i genów wielu cech. BSR-seq to metoda, która opiera się na technologii sekwencjonowania nowej generacji (NGS) w celu identyfikacji markerów SNP (polimorfizm pojedynczego nukleotydu) - najliczniejszej klasy występujących w genomie. W ten sposób można zidentyfikować zmienność genetyczną w regionach związanych z badaną cechą. Metoda ta została zastosowana do profilowania genów kandydujących i mapowania zmienności polimorfizmu pojedynczych nukleotydów (SNP) u wielu gatunków roślin. Zastosowanie metodyki opartej o sekwencjonowanie RNA pochodzącego z dwóch puli genotypów, o różnym nasileniu badanej cechy, pozwoli na interpretację wyników oraz w dalszej kolejności, wytypowanie sekwencji sprawczych odpowiedzialnych za zdolność do androgenezy. Zastosowanie markerów genetycznych opartych o polimorfizm pojedynczego nukleotydu (SNPs) znajduje coraz większe zastosowanie w charakteryzowaniu puli genowej populacji, mapowaniu cech ilościowych i selekcji materiałów hodowlanych o pożądanych cechach.

Conger, BV, JC Hovanesian, RN Trigiano and DJ Gray. 1989. Somatic embryo ontogeny in suspension cultures of orchardgrass. Crop Science 29:448-452

Jähne A, Becker D., Brettschneider R., Lörz H.,1994. Regeneration of transgenic, microspore - derived , fertile barley. Theor. Appl. Genet. 89:525-533.

Marulanda J.J., Mi X., Melchinger A.E., •Xu J-L Würschum T., Longin C.F. Optimum breeding strategies using genomic selection for hybrid breeding in wheat, maize, rye, barley, rice and triticale THEORETICAL AND APPLIED GENETICS; 129, 10; 1901-1913

Zimny J., Becker D., Brettschneider R., Lörz H., 1995. Fertile transgenic Triticale (x Triticosecale Wittmack). Mol. Breeding, 1: 155-164.

Zimny J., Sylwia Oleszczuk, Aleksandra Zimny, Katarzyna Makowska, Andrzej Czaplicki. 2021. Rye microspores response to stress and in vitro culture conditions. Badanie reakcji mikrospor żyta na stres i warunki kultury in vitro. Biuletyn Instytutu Hodowli I Aklimatyzacji Roślin Nr 295 / 2021 : 189–192