Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: **21**

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

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

*Cel zadania:* Celem zadania jest opracowanie markerów DNA silnie sprzężonych z możliwie jak najszerszym spektrum genów przywracania płodności pyłku u żyta z CMS-Pampa występujących w obrębie badanych populacji RIL oraz określenie wkładu tych genów do zmienności fenotypowej.

**Zadanie było realizowane w ramach 2 tematów badawczych:**

***Temat badawczy1***: Genotypowanie linii populacji mapującej.

*Cele tematu badawczego 1*: Uzyskanie markerów DNA umożliwiających opracowanie mapy

genetycznej dla populacji mapującej RIL8 (RIL-A): NS 08135N/2 x 83/81 (78A-674 TUR.)/2.

*Materiały i metody:* Wykonano izolacje genomowego DNA 130 roślin linii RIL populacji mapującej RIL8 (RIL-A): NS 08135N/2 x 83/81 (78A-674 TUR.)/2 oraz kontroli w postaci pojedynczych roślin linii sterylnych (10 linii sterylnych P1-10). Genotypowanie DArTseq zostało wykonane w Diversity Arrays Technology w Australii.

*Wyniki i dyskusja:* W wyniku profilowania DNA uzyskano 40073 markerów DArTseq (marker SNP) oraz 92928 silicoDArT (marker dominujący). Zaletą metody DArT jest znana lokalizacja chromosomowa części z tych markerów.

*Wnioski:* Metoda DArT umożliwiła identyfikację dużej liczby powtarzalnych markerów DArTseq i silicoDArT w obrębie analizowanej populacji RIL8 (RIL-A): NS 08135N/2 x 83/81 (78A-674 TUR.)/2.

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

*Cel tematu badawczego 2:* Opracowanie zagęszczonej mapy genetycznej oraz mapowanie genów przywracania płodności pyłku.

*Materiały i metody:*

1. Do opracowania mapy genetycznej (MultiPoint UltraDense) wykorzystano markery DArTseq oraz silicoDArT uzyskane dla populacji RIL8 (RIL-A): NS 08135N/2 x 83/81 (78A-674 TUR.)/2.

2. Wykonano mapowanie asocjacyjne (TASSEL) dla populacji RIL8 (RIL-A): NS 08135N/2 x 83/81 (78A-674 TUR.)/2.

*Wyniki i dyskusja:*

Mapowanie genetyczne populacji RIL8 (RIL-A): NS 08135N/2 x 83/81 (78A-674 TUR.)/2 umożliwiło identyfikację siedmiu grup sprzężeń (LG1-LG7), które przypisano do chromosomów żyta na podstawie znanej lokalizacji chromosomowej markerów DArTseq oraz silicoDArT. Na mapie genetycznej umieszczono 424 markery szkieletowe, 1564 redundantne (1988 łącznie dla wszystkich LG) oraz 32270 markerów dodanych (interpolowane na mapę). Opracowana mapa 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. Mimo ograniczonej liczby markerów szkieletowy na mapie genetycznej badanej populacji znajduje się duża liczba markerów redundantnych do markerów szkieletowych a luki między markerami szkieletowymi zostały zapełnione markerami dodanymi. Identyfikacja szeregu markerów redundantnych stwarza możliwość wyboru wielu alternatywnych sekwencji przy ich konwertowaniu do markerów użytecznych do identyfikacji form z genami przywracania płodności pyłku. Potencjalnie, takie możliwości stwarzają również markery dodane, których precyzyjna lokalizacja na mapie nie jest określona, natomiast wiadomo jest pomiędzy którymi markerami szkieletowymi powinny się znajdować.

Mapowanie asocjacyjne dla populacji mapującej RIL8 (RIL-A): NS 08135N/2 x 83/81 (78A-674 TUR.)/2 wykazało, że 144 markery DArTseq oraz silicoDArT są asocjowane z genami przywracania płodności pyłku u żyta z CMS-Pampa. Najwyższa wartość prawdopodobieństwo testowego dla jednego z markerów silicoDArT wynosiła 2.64E-12 przy wartości testu Bonferroni’ego równej 8.64E-07. Stopień asocjacji określany za pomocą współczynnika determinacji R2 wahał się od 0.768 do 0.347. Markery asocjowane z cechą przywracania płodności pyłku u żyta lokalizowano na mapie genetycznej populacji mapującej RIL8 (RIL-A): NS 08135N/2 x 83/81 (78A-674 TUR.)/2. Na podstawie ich lokalizacji typowano potencjalny obszar QTL badanej cechy. Stwierdzono, że regiony odpowiedzialne za przywracanie płodności pyłku u żyta z CMS-Pampa mogą lokalizować się na chromosomach 1R, 3R, 4R, 5R, 6R oraz 7R.

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. Wynik mapowania asocjacyjnego uzyskany dla populacji RIL8 (RIL-A): NS 08135N/2 x 83/81 (78A-674 TUR.)/2. jest zgodny z wynikami uzyskanymi dla innych populacji RIL oraz z danymi literaturowymi i potwierdza, że badana cecha jest kontrolowana przez wiele genów o małym efekcie jednostkowym.

***Wnioski:***

1. Opracowano mapę genetyczną żyta dla populacji mapującej: RIL8 (RIL-A): NS 08135N/2 x 83/81 (78A-674 TUR.)/2
2. Zidentyfikowano szereg markerów asocjowanych z genami przywracanie płodności pyłku u żyta z CMS Pampa.
3. Identyfikowano obszary genomu w których występują geny przywracania płodności pyłku u żyta z CMS Pampa.
4. Cecha przywracania płodności pyłku u żyta z cma Pampa jest kodowana sekwencjami genomu występującymi w obrębie chromosomów 1R, 3R, 4R, 5R, 6R oraz 7R.