

## SPRAWOZDANIE MERYTORYCZNE

z realizacji zadania na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej w 2020 roku

### A. INFORMACJE OGÓLNE

Tytuł zadania <b>Mapowanie sprzężeniowe i asocjacyjne owsa zwyczajnego</b>
Numer zadania (w załączniku nr 8 do rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 27 lipca 2017 r. w sprawie stawek dotacji przedmiotowych dla różnych podmiotów wykonujących zadania na rzecz rolnictwa (Dz. U. z 2017 r. poz. 1470) <b>30</b>
Planowany okres realizacji zadania <b>12 miesięcy</b>
Planowane nakłady w zł <b>180 000</b>

### B. DANE WNIOSKODAWCY

Imię i nazwisko osoby reprezentującej jednostkę badawczą, tytuł lub stopień naukowy, stanowisko, nazwa i adres jednostki badawczej, telefon, fax) <b>Bartosz Sołowiej, dr hab., profesor uczelni, Prorektor ds. Nauki i Współpracy z Zagranicą Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin Telefon: 81-445-60-66; Fax: 81-533-35-49, e-mail: biuro.rektora@up.lublin.pl</b>
---

## C. INFORMACJA O WYKONAWCACH

### 1. Zespół badawczy

kierownik zadania		
imię i nazwisko	stopień i tytuł naukowy	miejsce zatrudnienia
Edyta Paczos-Grzęda	dr hab.	Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin
wykonawcy zadania		
imię i nazwisko	stopień i tytuł naukowy	miejsce zatrudnienia
Sylwia Sowa	dr inż.	Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin
Aneta Koroluk	mgr inż.	Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin
Ewelina Marek	mgr inż.	Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin
Joanna Toporowska	mgr inż.	Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin

2. Kierownik zadania (imię, nazwisko, tytuł lub stopień naukowy, adres do korespondencji, telefon bezpośredni i do sekretariatu jednostki organizacyjnej zatrudniającej kierownika zadania, e-mail kierownika; telefon do oraz dane osoby, z którą można się kontaktować w razie nieobecności kierownika zadania)

**Edyta Paczos-Grzęda, dr hab.**  
**Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie**  
**Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin**  
**ul. Akademicka 15**  
**20-934 Lublin**  
**tel. bezp. (81) 445-68-66, kom. 504098872, sekretariat (81) 445-68-84**  
**[edyta.paczos@up.lublin.pl](mailto:edyta.paczos@up.lublin.pl)**

*osoba, z którą można się kontaktować w razie nieobecności kierownika zadania*

**Sylwia Sowa, dr inż.**  
**Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie**  
**Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin**  
**ul. Akademicka 15**  
**20-934 Lublin**  
**tel. (81) 445-68-84, kom. 693838107**  
**[sylwia.sowa@up.lublin.pl](mailto:sylwia.sowa@up.lublin.pl)**

## D. OPIS ZADANIA

### 1. Cele zadania

Lp.	Cel	Czy cel został zrealizowany (tak/nie /częściowo <sup>1</sup> )
1.	Fenotypowanie wczesnych pokoleń mieszańców i populacji RIL.	TAK
2.	Genotypowanie i fenotypowanie populacji mapujących RIL E337 i E366.	TAK
3.	Konstrukcja map oraz identyfikacja QTLi dla wybranych cech w populacjach RIL E337 i E366.	TAK
4.	Analiza asocjacyjna następujących cech: wczesność, plon z poletka, ciężar hektolitra, procent łuski.	TAK
5.	Konwersja na markery specyficzne sekwencji asocjowanych z MTZ.	TAK

### 2. Harmonogram realizacji zadania

Harmonogram realizacji zadania należy sporządzić w tabeli, dla każdego z planowanych tematów badawczych z uwzględnieniem ilości planowanych testów/prób/linii na których prowadzone będą badania. Proszę podać koszty realizacji poszczególnych tematów badawczych.

Proszę wyróżnić etapy (tematy badawcze), określić czas ich trwania w miesiącach od rozpoczęcia projektu i przewidywane koszty. Terminy realizacji tematów badawczych mogą się zazębiać. Suma kosztów tematów badawczych musi być równa całkowitemu kosztowi zadania.

Lp.	Nazwa tematu badawczego	Termin rozpoczęcia – zakończenia realizacji tematu badawczego w miesiącach od rozpoczęcia realizacji zadania	Przewidywane koszty realizacji tematu badawczego
1.	Kontynuacja rozmnożeń populacji mapujących. Fenotypowanie wczesnych pokoleń mieszańców oraz rekombinacyjnych linii wsobnych. (połączone tematy 1 i 2 opisu wieloletniego)	3-9	30000
2.	Profilowanie DNA populacji mapujących. (połączone tematy 3 i 6 opisu wieloletniego)	1-12	90000
3.	Konstrukcja i analiza map genetycznych oraz identyfikacja QTLi dla wybranych cech. (temat 7 i 10 opisu wieloletniego)	4-12	15000
4.	Analiza asocjacyjna 370 linii i odmian. Identyfikacja i testowanie potencjalnych markerów cech. (połączone tematy 8 i 9 opisu wieloletniego).	1-12	45000
<b>Razem</b>			<b>180 000</b>

UWAGA: Nie są tematami badawczymi czynności techniczne służące wykonaniu zadania np. zakup materiałów, utrzymanie roślin w szklarni, opracowanie statystyczne wyników, opracowanie raportów i sprawozdań.

3. Opis tematów badawczych (należy sporządzić opis dla tematów badawczych wymienionych w tabeli powyżej; kolejność zgodnie z tabelą powyżej)

**3. 1. Kontynuacja rozmnożeń populacji mapujących. Fenotypowanie wczesnych pokoleń mieszańców oraz rekombinacyjnych linii wsobnych.**

Cel tematu badawczego 1

- \* Fenotypowanie populacji F<sub>3</sub> E958 (Trelle Dwarf × North Carolina).
- \* Fenotypowanie populacji F<sub>2</sub> E1159 (Palestine Dwarf × North Carolina) oraz F<sub>2</sub> E1160 (Palestine Dwarf × Trelle Dwarf)
- \* Fenotypowanie międzygatunkowej populacji F<sub>2</sub> E1008 (*A. fatua* 216 × *A. sterilis* 66) pod względem sposobu osypywania.
- \* Fenotypowanie populacji mapującej RIL E337 (Bingo × North Caroline).
- \* Fenotypowanie populacji mapującej RIL E366 (Bingo × Palestine Dwarf).
- \* Fenotypowanie populacji RIL E423 (STH 8827 × STH 9210).

### Wyniki

#### Fenotypowanie populacji F<sub>3</sub> E958 (Trelle Dwarf × North Carolina)

W populacji segregują dwa geny główne karłowatości *Dw4* oraz *Dw7*, co potwierdza rozszczepienie linii F<sub>3</sub>, wśród których pojawiają się podwójne homozygoty recesywne - linie wysokie (*dw4dw4dw7dw7*) w liczbie 9 (1/16 populacji) oraz podwójnie dominujące homozygotyczne linie niskie (*Dw4Dw4Dw7Dw7*) w liczbie 8, których wysokość waha się od 30 do 40 cm. Liczba linii heterozygotycznych, w obrębie których pojawiają się osobniki wysokie stanowi 50 % populacji, co również odpowiada segregacji genów w pokoleniu F<sub>3</sub>. 6/16 populacji stanowią linie niskie, z których jedna połowa osiąga wysokość do ok. 50-60cm, a druga od 60 do 80 cm.

#### Fenotypowanie populacji F<sub>2</sub> E1159 (Palestine Dwarf × North Carolina)

Linie F<sub>2</sub> E1159 (Palestine Dwarf × North Carolina) charakteryzowały się wysoką zmiennością badanej cechy. Wysokość linii wahała się od 28 cm do 103 cm, przy czym średnia wysokość dla populacji wyniosła 53,8 cm. Rozkład wartości cechy nie odpowiada rozkładowi normalnemu. Na podstawie obserwowanego rozkładu cechy w populacji można stwierdzić, że odmiana North Carolina posiada gen *Dw7*, zaś Palestine Dwarf prawdopodobnie formę alleliczną tego genu, ale nie jest to ta sama wersja z uwagi na pojawianie się form wysokich wśród uzyskanych mieszańców.

#### Fenotypowanie populacji F<sub>2</sub> E1160 (Palestine Dwarf × Trelle Dwarf)

Linie F<sub>2</sub> E1160 (Palestine Dwarf × Trelle Dwarf) również charakteryzowały się wysoką zmiennością badanej cechy. Wysokość linii wahała się od 29 cm do 95 cm, przy czym średnia wysokość dla populacji wyniosła 41,18 cm. Trudno zinterpretować uzyskany wynik, gdyż wiadomo, że w Trelle Dwarf występuje gen *Dw4* i jest to na pewno odmienny gen od *Dw7*, który potencjalnie występuje w Palestine Dwarf. Rozkład wartości cechy nie odpowiada rozkładowi normalnemu.

#### Fenotypowanie populacji RIL E423 (STH 8827 × STH 9210)

Linie RIL E423 (STH 8827 × STH 9210) charakteryzowały się wysoką zmiennością badanej cechy. Wysokość linii wahała się od 51 cm do 103 cm, przy czym średnia wysokość dla populacji wyniosła 77,9 cm. Średnia wysokość linii STH 8827 wyniosła 70,65 cm, zaś STH 9210 80,1 cm. Obie linie posiadają gen karłowatości *Dw6* przy czym STH 9210 jest o ok. 10 cm niższa.

#### Fenotypowanie międzygatunkowej populacji F<sub>2</sub> E1008 (*A. fatua* 216 × *A. sterilis* 66)

Na poletka wysiano 300 ziarniaków, z czego uzyskano 248 roślin, na wiechy których założono izolatory i po dojrzewaniu zebrano, a następnie określono sposób osypywania. Typ osypywania *sterilis* zaobserwowano u 197 roślin, zaś *fatua* u 51. Zaobserwowany stosunek rozszczepień jest najbardziej zbliżony do 3:1 i odpowiada segregacji monogenicznej.

#### Fenotypowanie populacji mapującej RIL E337 (Bingo × North Carolina)

Fenotypowaniu poddano również rekombinacyjne linie wsobne międzyodmianowej populacji mapującej F<sub>7</sub> E337 (Bingo × North Caroline) oraz formy rodzicielskie tej populacji. Analizowano

wysokość, długość wiechy, liczbę kłosek, liczbę i masę ziarniaków z wiechy oraz typ wiechy. Ocenie poddano 150 linii pokolenia F<sub>8</sub> oraz po 30 roślin rodzicielskich.

Linie RIL E337 (Bingo × North Caroline) charakteryzowały się wysoką zmiennością pod względem wszystkich analizowanych cech, ponadto u mieszańców obserwować można było przekroczenie wartości wszystkich cech w porównaniu z formami rodzicielskimi (Tab. 1,2).

Wysokość linii wahała się średnio od 40 cm do 130 cm, przy czym średnia wysokość dla populacji wyniosła 81,9 cm. Średnia długość wiechy wśród linii RIL wyniosła 15,2 cm, ale najkrótsze wiechy osiągały długość zaledwie 6,5 cm, a najdłuższe – 30 cm. W wiechach poszczególnych linii RIL stwierdzono od 10 do 125 kłosek, średnio 44,7. Średnia liczba ziarniaków w formach mieszańcowych wyniosła 86,5, a wahała się od 6 do 243. Masa ziarniaków z wiechy u mieszańców średnio wynosiła 2,7 g, ale u najlepszych mieszańców wynosiła ponad 8 g. Wiechy mieszańców były w typie od 1 do 9, średnio 4,7.

#### Fenotypowanie populacji mapującej RIL E366 (Bingo × Palestine Dwarf)

Fenotypowaniu poddano również rekombinacyjne linie wsobne międzyodmianowej populacji mapującej F<sub>7</sub> E366 (Bingo × Palestine Dwarf) oraz formy rodzicielskie tej populacji. Analizowano wysokość, długość wiechy, liczbę kłosek, liczbę i masę ziarniaków z wiechy oraz typ wiechy. Ocenie poddano 150 linii pokolenia F<sub>8</sub> oraz po 30 roślin rodzicielskich.

Linie RIL E366 (Bingo × Palestine Dwarf) charakteryzowały się wysoką zmiennością pod względem wszystkich analizowanych cech, ponadto u mieszańców obserwować można było przekroczenie wartości wszystkich cech w porównaniu z formami rodzicielskimi.

Wysokość linii wahała się średnio od 44 cm do 155 cm, przy czym średnia wysokość dla populacji wyniosła 89,6 cm. Średnia długość wiechy wśród linii RIL wyniosła 15,6 cm, ale najkrótsze wiechy osiągały długość zaledwie 4 cm, a najdłuższe – 44 cm. Liczba kłosek w wieszce formowana u mieszańców wyniosła średnio 49,7, przy czym wahała się u od 12 do 106. Maksymalna ilość ziarniaków w wieszce wyniosła 242, minimalna 22, zaś średnia 110,4. Masa ziarniaków z wiechy wyniosła średnio 3,31 g, maksymalnie 8,61 g. Wiechy mieszańców były w typie od 1 do 9, średnio 4,8.

#### Mierniki dla tematu badawczego 1

Lp.	miernik	wartość miernika podana w opisie zadania	wartość miernika zrealizowana
1	Liczba fenotypowanych populacji F <sub>2</sub>	3	3
2	Liczba fenotypowanych populacji F <sub>3</sub>	1	1
3	Liczba fenotypowanych populacji RIL	3	3

### 3. 2. Profilowanie DNA populacji mapujących.

#### Cel tematu badawczego 2

- \* Analiza polimorfizmu DArTseq 140 linii reprezentujących populację mapującą RIL E337 (Bingo × North Caroline) i 139 linii RIL E366 (Bingo × Palestine Dwarf) oraz form rodzicielskich.

#### Wyniki

Genotypowaniu poddano 140 linii RIL E337 (Bingo × North Caroline), 139 linii RIL E366 (Bingo × Palestine Dwarf) oraz formy rodzicielskie tych populacji. W efekcie prowadzonych analiz uzyskano w sumie 91 788 markerów sekwencyjnych, w tym 53 130 markerów silicoDArT oraz 38 658 markerów DArTseq (Tab. 5). Spośród uzyskanych markerów udało się przyporządkować markery GBS z bazy T3Oat do 12 423 markerów silicoDArT oraz 18 708 markerów DArTseq. Z kolei do genomu owsa, w jego pierwszej dostępnej wersji przyporządkowano odpowiednio 40 862 i 34 702 markerów silicoDArT i DArTseq.

#### Mierniki dla tematu badawczego 2

Lp.	miernik	wartość miernika podana w opisie zadania	wartość miernika zrealizowana
1	Liczba genotypów analizowanych metodą DArTseq	282	282

### 3. 3. Konstrukcja i analiza map genetycznych oraz identyfikacja QTLi dla wybranych cech.

Cel tematu badawczego 3

- \* Konstrukcja mapy genetycznej populacji RIL E337 (Bingo × North Caroline) oraz RIL E366 (Bingo × Palestine Dwarf)
- \* Identyfikacja QTLi dla wysokości roślin, długości wiechy oraz masy ziarniaków w wiesze

#### Wyniki

Skonstruowana mapa genetyczna dla populacji E337 złożona jest z 48 grup sprzężeń, co nie odpowiada liczbie chromosomów heksaploidalnego owsa. Pełna długość mapy wyniosła 3137,8 cM, obejmuje 6723 markery. Mapa genetyczna dla populacji E366 złożona jest z 50 grup sprzężeń, których sumaryczna długość wynosi 2675,8 cM a liczba naniesionych na mapę markerów wynosi 6008.

Mapowanie przeprowadzone w populacji E337 ujawniło obecność trzech QTLi dla wysokości na dwóch grupach sprzężeń Mrg20 i Mrg21, czyli chromosomach 19A i 20D wg Sanz i in. (2010) oraz 4A i 4D wg nowej mapy owsa. Wartości LOD QTLi na Chromosomie 4A wynosiły odpowiednio 44,7 oraz 22,5, zaś na chromosomie 4D 11,48. W populacji E337 dla cechy jaka była długość wiechy zidentyfikowano trzy QTLi, na tych samych chromosomach i w tych samych pozycjach, co QTLi dla wysokości, o zbliżonych wartościach LOD na poziomie: 43,03, 21,55 i 10,64. Zidentyfikowano trzy QTLi dla masy ziarniaków, na tych samych pozycjach, co QTLi dla wysokości i długości wiechy o zdecydowanie niższych wartościach LOD wynoszących 11,56, 7,92 i 5,43.

Mapowanie przeprowadzone w populacji E366 ujawniło obecność zaledwie trzech QTLi. Pierwszy z nich dotyczył wysokości i wskazywał na położenie na chromosomie 4A. Wartość LOD była bardzo wysoka i wynosiła 58,95. Kolejne QTLi zidentyfikowano dla długości wiechy i masy ziarniaków. Wszystkie w tej samej pozycji na mapie, ale innych wartościach LOD wynoszących: 45,26 i 12,42. Największe wartości LOD odnotowano dla typu wysokości i długości wiechy.

Mierniki dla tematu badawczego 3

Lp.	miernik	wartość miernika podana w opisie zadania	wartość miernika zrealizowana
1	Liczba analizowanych i konstruowanych map	2	2
2	Liczba analizowanych cech	3	3

### 3. 4. Analiza asocjacyjna 370 linii i odmian. Identyfikacja i testowanie potencjalnych markerów cech.

Cel tematu badawczego 4

- \* Analiza asocjacyjna - wczesność, plon z poletka, ciężar hektolitra, procent łuski.
- \* Testowanie markerów asocjowanych z MTZ.
  - 100%; istniejące ryzyko – brak.

#### Wyniki

Na podstawie danych fenotypowych uzyskanych na podstawie eksperymentów polowych prowadzonych w latach 2014-2016 w Strzelcach oraz w 2019 roku w Czesławicach oraz danych genotypowych otrzymanych metodą DArTseq w latach 2015-2016 przeprowadzono analizę asocjacyjną. Do analizy użyto 39747 markerów molekularnych DArTseq i silicoDArT uzyskanych dla 370 odmian i linii owsa, które zmapowano do genomu w efekcie czego uzyskano 32530 markerów o przypisanych lokalizacjach genomowych. Szczegółowa analiza danych genotypowych uzyskanych dla populacji wykazała, że dobór osobników został przeprowadzony prawidłowo, a dane genotypowe mogą być wykorzystywane do określenia asocjacji markerów z badanymi cechami.

Zastosowano dwa podejścia w mapowaniu asocjacyjnym: standardowy GWAS oraz multi-year GWAS umożliwiające uwidocznienie różnic w latach. Przeprowadzono asocjacje dla następujących cech: wczesność, plon z poletka, ciężar hektolitra i procent łuski.

W wyniku analiz GWAS zidentyfikowano osiem statystycznie istotnych markerów dla wczesności, z których trzy zmapowano do genomu na chromosomach 5A, 7A i 5C. Dla masy hektolitra znaleziono cztery markery, z których dwa zmapowano do chromosomów 2D i 6D. Jeden marker położony na chromosomie 4A zidentyfikowano dla procentu łuski w ziarnie. Trzy markery położone na chromosomie 4A zidentyfikowano dla plonu z poletka.

W celu przetestowania markerów zasocjowanych z MTZ pięć sekwencji silicoDArT i DArTseq zasocjowanych z MTZ blastowano do genomu referencyjnego owsa udostępnionego przez Institute of Biological, Environmental and Rural Sciences, Aberystwyth University, Aberystwyth w Wielkiej Brytanii oraz nowej wersji genomu owsa udostępnionej przez PepsiCo, co umożliwiło wydłużenie krótkich fragmentów, a następnie zaprojektowanie starterów.

Sekwencje silicoDArT 5426190 i 3279481 zblastowano do genomu i w pierwszym przypadku uzyskano dopasowanie na poziomie 95.5% do sekwencji na chromosomie 2D, w drugim przypadku uzyskano 100% dopasowanie w dwóch pozycjach na chromosomie 6D, oraz dopasowanie 92% i 88% do chromosomów homeologicznych 6A i 6C. Na podstawie dostępnych sekwencji zaprojektowano startery.

Do analiz wybrano DNA roślin o skrajnych fenotypach – niskim i wysokim MTZ. Na żelu ustawiono je zgodnie z rosnącą wartością cechy. Poniżej przedstawiono wyniki uzyskane dla najlepszej spośród analizowanych kombinacji starterów Aso\_190\_F1 i R2. Niestety nadal nie jest to wynik, który mógłby być wykorzystany do selekcji wspomaganej markerami, gdyż powtórzony na losowo dobranej grupie genotypów nie wykazywał już poprawnej segregacji.

#### Mierniki dla tematu badawczego 4

Lp.	miernik	wartość miernika podana w opisie zadania	wartość miernika zrealizowana
1	Liczba cech analizowanych metodą GWAS	4	4
2	Liczba testowanych sekwencji zasocjowanych z MTZ	5	5

4. Planowana prezentacja wyników badań (*podać w tabeli - należy wymienić konferencje, na których zaprezentowano wyniki i/lub wymienić publikacje, przygotowane i przyjęte do druku w trakcie realizacji zadania w danym roku*).

Prezentacja wyników na konferencjach				
lp.	konferencja	prezentacja	liczba prezentacji podana w opisie zadania	liczba prezentacji zrealizowana
1.	-	-	-	-
Publikacje w monografiach/czasopismach recenzowanych				
lp.	monografia/czasopismo	publikacja	liczba publikacji podana w opisie zadania	liczba publikacji zrealizowana
1.	-	-	-	-

*Jeśli któryś z mierników nie został zrealizowany należy podać przyczyny.*

5. Adres, pod którym wyniki badań są dostępne na stronie internetowej wnioskodawcy

<http://www.up.lublin.pl/badania-gen/>

## 6. Miernik zadania - stopień realizacji.

lp.	miernik	wartość miernika podana w opisie zadania	wartość miernika zrealizowana	stopień realizacji zadania [%]
1	2	3	4	5
<b>temat badawczy 1</b>				
1.1	Liczba fenotypowanych populacji F <sub>2</sub>	3	3	100
1.2	Liczba fenotypowanych populacji F <sub>3</sub>	1	1	100
1.3	Liczba fenotypowanych populacji RIL	3	3	100
<b>temat badawczy 2</b>				
2.1	Liczba genotypów analizowanych metodą DArTseq	282	282	100
<b>temat badawczy 3</b>				
3.1	Liczba analizowanych i konstruowanych map	2	2	100
3.2	Liczba analizowanych cech	3	3	100
<b>temat badawczy 4</b>				
4.1	Liczba cech analizowanych metodą GWAS	4	4	100
4.2	Liczba testowanych sekwencji zasocjowanych z MTZ	5	5	100
<b>ŚREDNIA</b>				100
<b>% REALIZACJI ZADANIA</b>				100