

Projekt finansowany przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi w ramach
Programu badań podstawowych na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej

Realizacja w latach 2016-2020

Identyfikacja regionów genomu oraz markerów DNA związanych z heterozją w heksaploidalnym pszenżycie ozimym

Zespół realizujący projekt:

dr inż. Michał Nowak, prof. dr hab. Piotr T. Bednarek, dr inż. Justyna Leśniowska-Nowak,
dr inż. Adam Kuzdraliński, dr hab. Edyta Paczos-Grzęda, dr inż. Magdalena Sozoniuk,
dr inż. Karolina Dudziak, mgr inż. Karolina Różaniecka

E-mail: *michal.nowak@up.lublin.pl*

Cele projektu

Celem projektu była weryfikacja, czy zastosowanie markerów reprezentujących poszczególne chromosomy będzie bardziej użyteczne w prognozowaniu efektu heterozji u pszenżyta niż stosowanie ogólnej puli markerowej.

Cele szczegółowe:

Lp.	Nazwa	Czy zrealizowany
1	Genotypowanie linii wsobnych oraz linii DH pszenżyta	TAK
2	Fenotypowanie linii wsobnych oraz linii DH pszenżyta	TAK
3	Mapowanie genetyczne/asocjacyjne oraz wybór na podstawie uzyskanych wyników komponentów rodzicielskich do krzyżowań	TAK
4	Genotypowanie populacji mapujących RIL	TAK
5	Krzyżowanie wybranych w zad. 3 genotypów, ocena mieszańców F_1 i oszacowanie efektu heterozji	TAK
6	Analizy taksonomiczne w oparciu o pule markerowe i wybór genotypów do krzyżowań	TAK
7	Krzyżowanie wybranych w zad. 6 genotypów, ocena mieszańców F_1 i oszacowanie efektu heterozji	TAK

Materiał i metody

Materiał badawczy:

- 470 genotypów heksaploidalnego pszenżyta ozimego [wyrównane linie hodowlane];
- 3 populacje RIL pszenżyta liczące po 170 osobników [pokolenie S_6];
- 2 serie mieszańców uzyskanych w ramach projektu [22 kombinacje krzyżówkowe w każdej serii].

Metody badawcze:

- Fenotypowanie badanych form w warunkach doświadczenia polowego [plon z jednostki powierzchni];
- Genotypowanie badanych linii oraz populacji RIL techniką DArT;
- Mapowanie genetyczne i analiza podobieństwa genetycznego w oparciu o markery lokalizujące się na poszczególnych chromosomach pszenżyta;
- Krzyżowanie form o najwyższym stopniu zróżnicowania genetycznego i ocena efektu heterozji w mieszańcach F_1 [współczynniki MPH i BPH – mid-parent heterosis i best-parent heterosis].

Wyniki - fenotypowanie

Dla badanych genotypów ozimego pszenżyta heksaploidalnego średni plon z jednostki powierzchni wyniósł w 1. roku badań **0,80 kg/m²**, natomiast w 2. roku badań **0,59 kg/m²**.

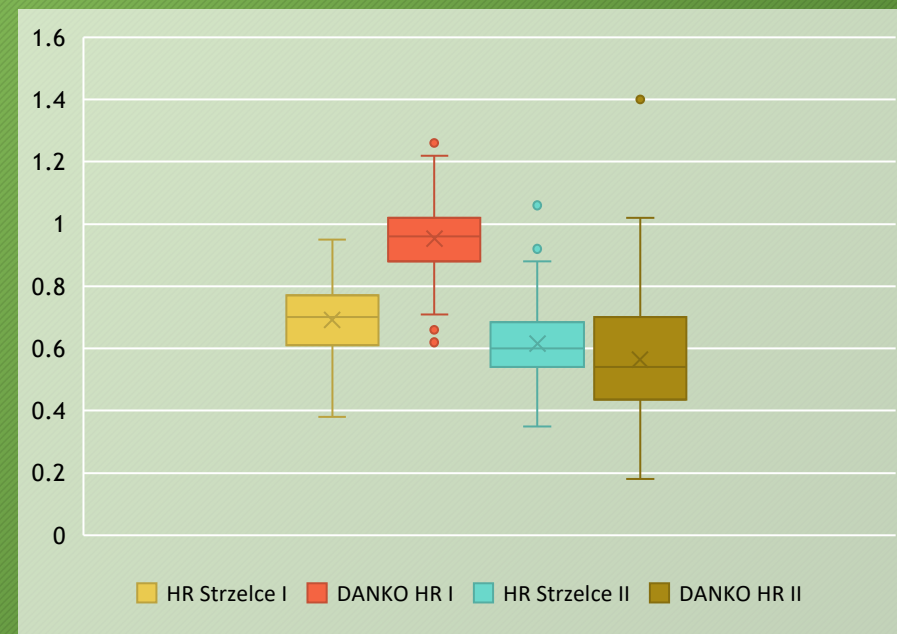
W 1. roku badań najniższy średni plon uzyskano dla rodu BOHT_790 (**0,38 kg/m²**), natomiast najwyższy dla rodu DC_07051/01/2 (**1,26 kg/m²**).

W 2. roku badań najniższy średni plon uzyskano dla rodu LD_122/08 (**0,18 kg/m²**) natomiast najwyższy dla rodu DC_07063/01 (**1,4 kg/m²**).

Analizowane formy pszenżyta charakteryzowały się dość dużym stopniem zróżnicowania pod względem plonowania, co potwierdza wykorzystanie jako materiał badawczy w projekcie form charakteryzujących się zarówno niskim, jak i wysokim potencjałem plonowania.

Wynik plonowania uzyskany w drugim roku badań był niższy od uzyskanego w pierwszym sezonie wegetacyjnym o ok. 25%, co sugeruje znaczny wpływ warunków środowiska na cechę. Potwierdza to konieczność uwzględnienia tego czynnika w szacowaniu efektu heterozji u pszenżyta.

Plon ziarniaków [kg/m²] dla badanych genotypów pszenżyta pochodzących ze spółek HR Strzelce oraz DANKO HR w pierwszym [I] oraz drugim [II] roku doświadczeń polowych. >



Wyniki - genotypowanie

Uzyskane wyniki wykazały, że maksymalne i minimalne odległości genetyczne między analizowanymi genotypami pszenżyta były różne i zależne od lokalizacji chromosomowej markerów. Najwyższą wartość współczynnika maksymalnego dystansu genetycznego dla badanych genotypów uzyskano dla chromosomu 3R (0,9838), natomiast najniższą dla chromosomu 5A (0,8382). Ocena maksymalnego dystansu genetycznego pomiędzy analizowanymi formami pszenżyta wykazała, że jego średnia wartość wynosiła 0,91. Najwyższą wartość maksymalnego dystansu genetycznego wykazano w badaniach własnych dla markerów zlokalizowanych na chromosomach pochodzących z żytniego genomu R (0,94), natomiast najniższą dla markerów zlokalizowanych na genomie B pszenicy (0,89).

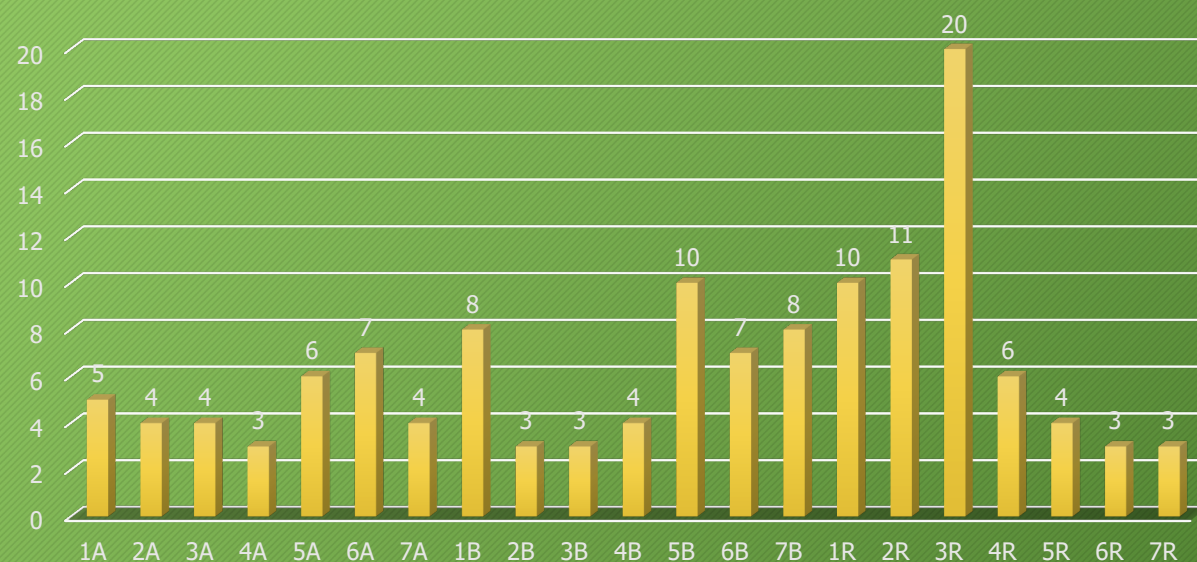
Na podstawie uzyskanych wyników wyznaczono również minimalne wartości współczynnika dystansu genetycznego, których wartości mieściły się w zakresie od 0,002 dla chromosomu 2R do 0,032 dla chromosomu 6A. Średnia wartość minimalnego dystansu genetycznego wyniosła 0,02.

Uśredniona wartość dystansu genetycznego badanych form oszacowana na podstawie wyników opartych na całkowitej puli markerowej wynosiła 0,47.

Chromosom	Maksymalny dystans genetyczny	Minimalny dystans genetyczny
1A	0.944	0.018
2A	0.914	0.027
3A	0.942	0.013
4A	0.934	0.018
5A	0.838	0.023
6A	0.912	0.032
7A	0.923	0.027
1B	0.910	0.017
2B	0.859	0.029
3B	0.924	0.023
4B	0.927	0.028
5B	0.865	0.029
6B	0.871	0.021
7B	0.867	0.015
1R	0.977	0.024
2R	0.934	0.002
3R	0.984	0.013
4R	0.896	0.022
5R	0.900	0.019
6R	0.929	0.010
7R	0.979	0.015

Wyniki - genotypowanie

Chromosom	Forma matczna	Forma ojcowska
1A	BOH_2207-3	DC 07064-16
1B	BOH_2188-3	LAD_3/07
1R	DC_228/05/02	DS_4211/11
2A	CT 10258-12	CT 10047-233
2B	MAH 34837-1	DC 169/06
2R	DL_525/11	DL 593/07
3A	LAD_6/07	CT 10240-48
3B	DS 4043/13	MAH 34985-5
3R	BOH_1439-5	DT_270/11
4A	DL_402/11	MAHD 35081-7
4B	MAHD 35188-16	BOH_1439-8
4R	CT 08006/12	MAH 34964-2
5A	BOH_2039-2	DL 26/13
5B	DC_08220-4	MAH 34752-1
5R	L207	BOH_1439-5
6A	L203	MAH 35657-1
6B	DD_144/11	LAD_9/08
6R	CT 08033/13/2	LAD_2/07
7A	CT 08221/08	BOH_2039-2
7B	DL 532/12	CT 10047-78
7R	DD_293/11	DC 07004-4



Rozkład liczby klastrow w zależności od lokalizacji chromosomowej markerów DArT.

< Genotypy pszenżyta wybrane jako formy rodzicielskie do krzyżowań.

Wyniki – heterozja – mieszańce zestaw I

- Wartości współczynnika MPH dla badanych form wahały się w zakresie od -28% przy zastosowaniu markerów zlokalizowanych na chromosomie 6R do +129% przy zastosowaniu do projektowania formuły krzyżowania markerów zlokalizowanych na chromosomie 5A.
- Dla efektu BPH wartości te wyniosły odpowiednio -38% i +111%.
- Wybór form w oparciu o ogólną pulę markerów nie pozwolił na uzyskanie efektu heterozji, a plon formy mieszańcowej był niższy o 11% od średniego plonu form rodzicielskich i plonu formy o lepszych parametrach.

Wartości efektu heterozji mid-parent (MPH) i best-parent (BPH) dla badanych form mieszańcowych uzyskanych w wyniku krzyżowania form najbardziej oddalonych genetycznie, wytypowanych na podstawie markerów DArTseq zlokalizowanych na poszczególnych chromosomach pszenżyta. >

Chromosom	Kombinacja krzyżówkowa	MPH	BPH
1A	BOH_2207-3 x DC 07064-16	6%	-3%
2A	CT 10258-12 x CT 10047-233	20%	7%
3A	LAD_6/07 x CT 10240-48	-23%	-36%
4A	DL_402/11 x MAHD 35081-7	57%	47%
5A	BOH_2039-2 x DL 26/13	129%	111%
6A	L-203 x MAH 35657-1	110%	62%
7A	CT 08221/08 x BOH_2039-2	7%	-4%
1B	BOH_2188-3 x LAD 3/07	52%	14%
2B	MAH 34837-1 x DC 169/06	105%	75%
3B	DS 4043/13 x MAH 34985-5	89%	71%
4B	MAHD 35188-16 x BOH_1439-8	-8%	-18%
5B	DC_08220-4 x MAH 34752-1	20%	20%
6B	DD_144/11 x LAD_9/08	24%	21%
7B	DL 532/12 x CT 10047-78	-12%	-18%
1R	DC_228/05/02 x DS_4211/11	32%	8%
2R	DL_525/11 x DL 593/07	13%	-16%
3R	BOH_1439-5 x DT_270/11	48%	44%
4R	CT 08006/12 x MAH 34964-2	75%	67%
5R	L-207 x BOH_1439-5	18%	-13%
6R	CT 08033/13/2 x LAD_2/07	-28%	-38%
7R	DD_293/11 x DC 07004-4	24%	20%
Ogółem	BOH_1684-2 x cD 197/08	-11%	-11%

Wyniki – heterozja – mieszańce zestaw II

- Wartości współczynnika MPH dla badanych form wahały się w zakresie od -96% przy zastosowaniu markerów zlokalizowanych na chromosomie 6A do +96% przy zastosowaniu do projektowania formuły krzyżowania markerów zlokalizowanych na chromosomie 4R.
- Dla efektu BPH wartości te wyniosły odpowiednio -98% dla chromosomu 6A i +130% dla chromosomu 3B.
- Wybór form w oparciu o ogólną pulę markerów nie pozwolił na uzyskanie efektu heterozji, a plon formy mieszańcowej był niższy o 37% od średniego plonu form rodzicielskich i o 61% od plonu formy o lepszych parametrach.

Chromosom	Kombinacja krzyżówkowa	MPH	BPH
1A	DC 07064-16 x BOH_2207-3	20%	-2%
2A	L-203 x DL 643/09	7%	0%
3A	B-262 x L-205	37%	0%
4A	MAHD 35081-7 x DL_402/11	-5%	-13%
5A	DL 26/13 x BOH_2039-2	24%	21%
6A	BOH_1684-2 x LAD 21/11	-96%	-98%
7A	BOH_2039-2 x CT 08221/08	29%	0%
1B	DL 678/12 x DANKO_12	95%	34%
2B	B-210 x DANKO_11	81%	66%
3B	MAH 34985-5 x DS 4043/13	76%	130%
4B	BOH_1439-8 x MAHD 35188-16	63%	33%
5B	DC_07063/03 x DS_4211/11	-15%	-43%
6B	DC_08220-4 x DANKO_8	18%	15%
7B	B-47 x DL_593/11	9%	-7%
1R	cD 175/08 x DS_4211/11	19%	-4%
2R	DL 593/07 x DD_333/09	40%	4%
3R	DT_270/11 x BOH_1439-5	3%	-9%
4R	MAH 34964-2 x CT 08006/12	96%	57%
5R	CT 08006/12 x L-207	22%	0%
6R	B-263 x CT 10104-74	-16%	-42%
7R	DC 07004-4 x DD_293/11	30%	4%
Ogółem	cD 197/08 x BOH_1684-2	-37%	-61%

Wartości efektu heterozji mid-parent (MPH) i best-parent (BPH) dla badanych form mieszańcowych uzyskanych w wyniku krzyżowania form najbardziej oddalonych genetycznie, wytypowanych na podstawie > markerów DArTseq zlokalizowanych na poszczególnych chromosomach pszenżyta.

Osiągnięcia projektu

Analiza wyników projektu pozwoliła na potwierdzenie założonej hipotezy badawczej, mówiącej, że **lokalizacja chromosomowa markerów** na podstawie których określano dystans genetyczny pomiędzy formami rodzicielskimi wykorzystanymi do krzyżowań **ma istotny wpływ na uzyskany w mieszańcach efekt heterozji**.

Na podstawie uzyskanych danych wyselekcjonowano 5 chromosomów, dla których analiza dystansu genetycznego powodowała stabilne występowanie efektu heterozji. Należą do nich chromosomy: **5A, 1B, 2B, 3B i 4R**.

Dodatkowo wykazano, że **wyбір form rodzicielskich do krzyżowań w oparciu o dystans genetyczny określony na podstawie ogólnej puli markerów nie pozwolił na uzyskanie efektu heterozji**, a plon formy mieszańcowej był niższy od średniego plonu form rodzicielskich i plonu formy o lepszych parametrach w obu latach doświadczeń.

Uzyskane wyniki przyczyniły się do poznania molekularnego podłoża heterozji i sugerują istnienie w genomie pszenżyta regionów, których zróżnicowanie genetyczne pomiędzy formami rodzicielskimi determinuje predyspozycję do wystąpienia tego zjawiska.

Pozytywnie zweryfikowano założenie w rodzaju *proof-of-concept*, które może stać się podstawą wdrożenia innowacji w programach hodowli heterozyjnej pszenżyta. Zaprezentowane podejście polegające na wyborze komponentów rodzicielskich na podstawie analizy zróżnicowania genetycznego w oparciu o markery zlokalizowane na 5 w/w chromosomach pszenżyta powinno być w następnej kolejności zwalidowane w doświadczeniach polowych prowadzonych na większej powierzchni i w zróżnicowanych warunkach środowiska [lata, lokalizacje].

Publikacja wyników projektu

Publikacje:

1. Single-chromosome genetic diversity assessment as a novel approach for heterosis prediction in hexaploid triticales – publikacja w opracowaniu.

Doniesienia konferencyjne:

1. „Genotyping of Polish triticales breeding materials by means of DArTseq technique” – 8th International Triticeae Symposium, 12.06.-16.06.2017 r., Wernigerode, Niemcy.
2. „Evaluation of the yielding capacity of Polish triticales breeding materials” – 8th International Triticeae Symposium, 12.06.-16.06.2017 r., Wernigerode, Niemcy.
3. „Chromosome specific DArTseq markers analysis as an alternative approach for genetic similarity determination in polyploid cereals” – 17th EWAC – The European Cereals Genetics Co-operative, EUCARPIA Cereals Section Conference “Cereals for Tomorrow”, 03.06-08.06.2018 r., Bukareszt, Rumunia.
4. „Analysis of the relationship between the genetic similarity and yielding for Polish triticales breeding materials” – 17th EWAC – The European Cereals Genetics Co-operative, EUCARPIA Cereals Section Conference “Cereals for Tomorrow”, 03.06-08.06.2018 r., Bukareszt, Rumunia.
5. „Heterosis prediction in triticales based upon single chromosome genetic diversity assessment” – 5th Conference on Cereal Biotechnology and Breeding, 04.11.-07.11.2019 r., Budapeszt, Węgry.
6. „Crossability of genetically diverse triticales genotypes selected on the basis of single chromosome localized DArTseq markers” – 5th Conference on Cereal Biotechnology and Breeding, 04.11.-07.11.2019 r., Budapeszt, Węgry.