

WYNIKI

z realizacji zadania na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej w 2016 roku Badania wewnętrznej struktury genetycznej odmian żyta oraz dziedzicznego podłoża efektu heterozji

Temat badawczy 1

Ocena wewnętrznej struktury genetycznej odmian populacyjnych i mieszańcowych żyta.

Cel zadania badawczego: Ocena fenotypowa i genotypowa pojedynczych osobników wchodzących w skład zarejestrowanych odmian uprawnych żyta w celu określenia genetycznych przyczyn i mechanizmów prowadzących do wyższego plonowania odmian mieszańcowych w porównaniu z populacyjnymi – cel zrealizowany.

Materiały i metody *(opisać jak w publikacji)*

Materiałem badawczym ocenianym fenotypowo w 2016 roku były rośliny dziesięciu odmian uprawnych żyta ozimego – czterech mieszańcowych (Bono F1, Konto F1, Skaltio F1, Stakatto F1) i sześciu populacyjnych (Armand, Bosmo, D. Diament, D. Granat, Horyzo, Stanko). Rośliny badanych odmian zostały wysadzone punktowo w pole (rozstawa 20 x 20 cm) w układzie kompletnej randomizacji na polu należącym do stacji doświadczalnej „Hala Wegetacyjna ZUT” w Szczecinie. Jesienią 2015 wysadzono od 120 do 140 roślin każdej odmiany. Wiosną do dalszych badań wybrano losowo po 100 roślin, które przezimowały w dobrej kondycji. Wszystkie badane rośliny zaetykietowano i na początku strzelania w źdźbło pobrano liście do izolacji DNA. Liście zostały zamrożone w temp. -70°C do dalszych analiz.

Ocena fenotypowa obejmowała następujące cechy użytkowe:

- krzewienie ogólne
- krzewienie produkcyjne
- wysokość roślin
- długość kłosa
- liczba kłosek w kłosie
- liczba ziaren w kłosie
- masa ziaren z kłosa

Badane rośliny nie były izolowane, stąd niezależnie od poziomu pylenia zawiązywanie ziaren w kłosach przebiegało podobnie jak w zasiewach produkcyjnych. Cechy dotyczące parametrów kłosek (długość kłosa, liczba kłosek w kłosie, liczba ziaren w kłosie i masa ziaren z kłosa) były oznaczone po zbiorach na pięciu kłosach z każdej rośliny (z wyjątkiem roślin słabo rozkrzewionych, w których badano wszystkie dostępne kłosa).

Wyniki oceny fenotypowej z pierwszego roku badań fenotypowych były podstawą do wyliczeń średnich arytmetycznych, odchyłeń standardowych i współczynników zmienności. Wyliczono też współczynniki korelacji pomiędzy badanymi cechami.

Z uwagi na wysokie koszty analiz genetycznych do dalszego etapu badań zostały wybrane losowo 2 odmiany (kolejne odmiany są przewidziane do badań genetycznych w przyszłych latach). Z odmian Bono F1, i Stanko wybrano losowo po 90 roślin i wyizolowano z nich DNA przy użyciu zestawu Gene Elute Plant Mini Kit (Sigma-Aldrich). Izolaty DNA po sprawdzeniu wymaganych parametrów jakościowych zostały wysłane do analiz w technologii DArTseq oferowanej przez firmę Diversity Arrays Technology Pty (Bruce, Australia) jako komercyjny wariant metody GBS (ang. Genotyping by Sequencing). Technologia DArTseq generuje dwie kategorie markerów: dominujące Silico-DArT oraz kodominujące SNP.

Dodatkowo w badaniach wykorzystano rezultaty analiz DArTseq w obrębie odmiany Visello F1, które uzyskano przy realizacji innego projektu badawczego, w którym nie były one używane do analizy struktury genetycznej wewnątrz odmiany.

Wyniki genotypowania wykorzystano do oceny zróżnicowania genetycznego wewnątrz odmian oraz wykreślenia drzew podobieństwa genetycznego metodą UPGMA. Zastosowano

oprogramowanie NTSys 2.2. Ponadto w oparciu o dane DarTseq-SNP określono częstotliwość występowania alleli w stanie heterozygotycznym w obrębie każdej z badanych odmian.

Wyniki (opisać)

Oceną fenotypową objęto łącznie 1000 roślin – po 100 z każdej badanej odmiany. Najefektywniej krzewiącymi się odmianami były trzy mieszańce: Bono F1, Skaltio F1 i Stakatto F1 (tab.1). Wśród odmian populacyjnych najlepsze krzewienie ogólne i produkcyjne zaobserwowano w odmianie Dańkowskie Granat. Wartości współczynnika krzewienia wykazywały bardzo dużą zmienność wewnątrzodmianową (współczynniki zmienności niejednokrotnie przekraczały wartość 50%).

Pod względem wysokości roślin wyróżniała się populacyjna odmiana Bosmo (tab.1), która była wyraźnie wyższa od pozostałych badanych odmian. Wszystkie badane odmiany mieszańcowe były stosunkowo niskie, w szczególności dotyczyło to dwóch niemieckich odmian: Bono F1 i Stakatto F1.

Pod względem długości kłosa wyróżniały się dwie odmiany populacyjne – Bosmo i Horyzo (tab.1). Najkrótsze kłosa zaobserwowano w odmianie Dańkowskie Diament. Pozostałe odmiany populacyjne i wszystkie odmiany mieszańcowe charakteryzowały się przeciętnymi wartościami tej cechy.

Najwyższe wartości przy ocenie liczby kłosek w kłosie odnotowano w odmianie Bosmo, ale druga pod tym względem była odmiana mieszańcowa Bono F1, której kłosa nie należały do najdłuższych (tab.1). Zgodnie z oczekiwaniami – najmniejsze wartości pod względem liczby kłosek w kłosie zaobserwowano w odmianie Dańkowskie Diament, której kłosa były stosunkowo krótkie.

Ocena liczby ziaren w kłosie wskazuje na przewagę odmian mieszańcowych – wszystkie cztery badane odmiany należały do obiektów, u których wartości tej cechy były najwyższe (tab.1). Najmniejsze ilości ziaren z kłosek zbierano z odmian populacyjnych Dańkowskie Diament i Stanko.

Masa ziaren z kłosa charakteryzowała się znaczącą zmiennością w obrębie badanych odmian (tab.1). Wartości współczynników zmienności dla tej cechy były mniejsze niż dla ocen krzewienia, ale wyraźnie wyższe niż dla innych badanych cech fenotypowych. Jednocześnie obserwowane w 2016 roku masy ziaren z kłosa nie wykazywały znaczącego zróżnicowania pomiędzy badanymi odmianami (tab.1). Najmniejszą masę ziaren z kłosa odnotowano u odmiany Dańkowskie Diament, która miała najkrótsze kłosa z najmniejszą liczbą kłosek i ziaren w kłosie. Wśród odmian charakteryzujących się największą masą ziaren zbieranych z kłosa była jedna odmiana populacyjna – Bosmo i trzy mieszańce z niemieckiej hodowli: Bono F1, Skaltio F1 i Stakatto F1.

Współczynniki korelacji między badanymi cechami były w większości przypadków nieistotne (tab.2). Istotną statystycznie korelację odnotowano jedynie pomiędzy cechami tradycyjnie ściśle powiązаныmi: krzewieniem ogólnym i produkcyjnym oraz liczbą kłosek w kłosie i liczbą ziaren w kłosie. Zaobserwowano też pewną zależność między wysokością roślin a parametrami kłosa, ale wartości współczynników korelacji, chociaż istotne statystycznie, nie wydają się być znaczące z punktu widzenia praktyki.

Ocena zróżnicowania genetycznego pomiędzy 94 osobnikami odmiany Visello F1 została wykonana w oparciu o zestaw 55542 markerów Silico-DarT, które uzyskano w czasie realizacji innych prac badawczych. Wartości współczynników podobieństwa genetycznego pomiędzy pojedynczymi roślinami wahały się w szerokich granicach: od 0,42 do 0,88. Na dendrogramie skonstruowanym metodą UPGMA (rys.1) widoczne są wyraźnie rozdzielone dwie grupy skupień – liczniejsza obejmuje około 75% badanej populacji roślin i charakteryzuje się stosunkowo dużym podobieństwem genetycznym (powyżej 0,7). Druga, mniej liczna grupa jest znacznie bardziej zróżnicowana genetycznie.

Dane z analiz DarTseq dla kolejnych dwóch odmian (Bono F1 i Stanko) pozyskano *de novo* i obejmowały one 65532 markery. Znacznie większe podobieństwo genetyczne między badanymi osobnikami zaobserwowano w odmianie Bono F1 (rys.2). Wartości podobieństwa mieściły się w granicach 0,8-0,9 i na skonstruowanym dendrogramie nie zidentyfikowano wyraźnych grup skupień. Odmiana populacyjna Stanko była bardziej zróżnicowana wewnętrznie niż odmiana Bono F1 (rys.3). Współczynniki podobieństwa genetycznego osiągały wartości od 0,7 do 0,8 i nie zaobserwowano istnienia wyraźnych grup skupień.

Tabela 1

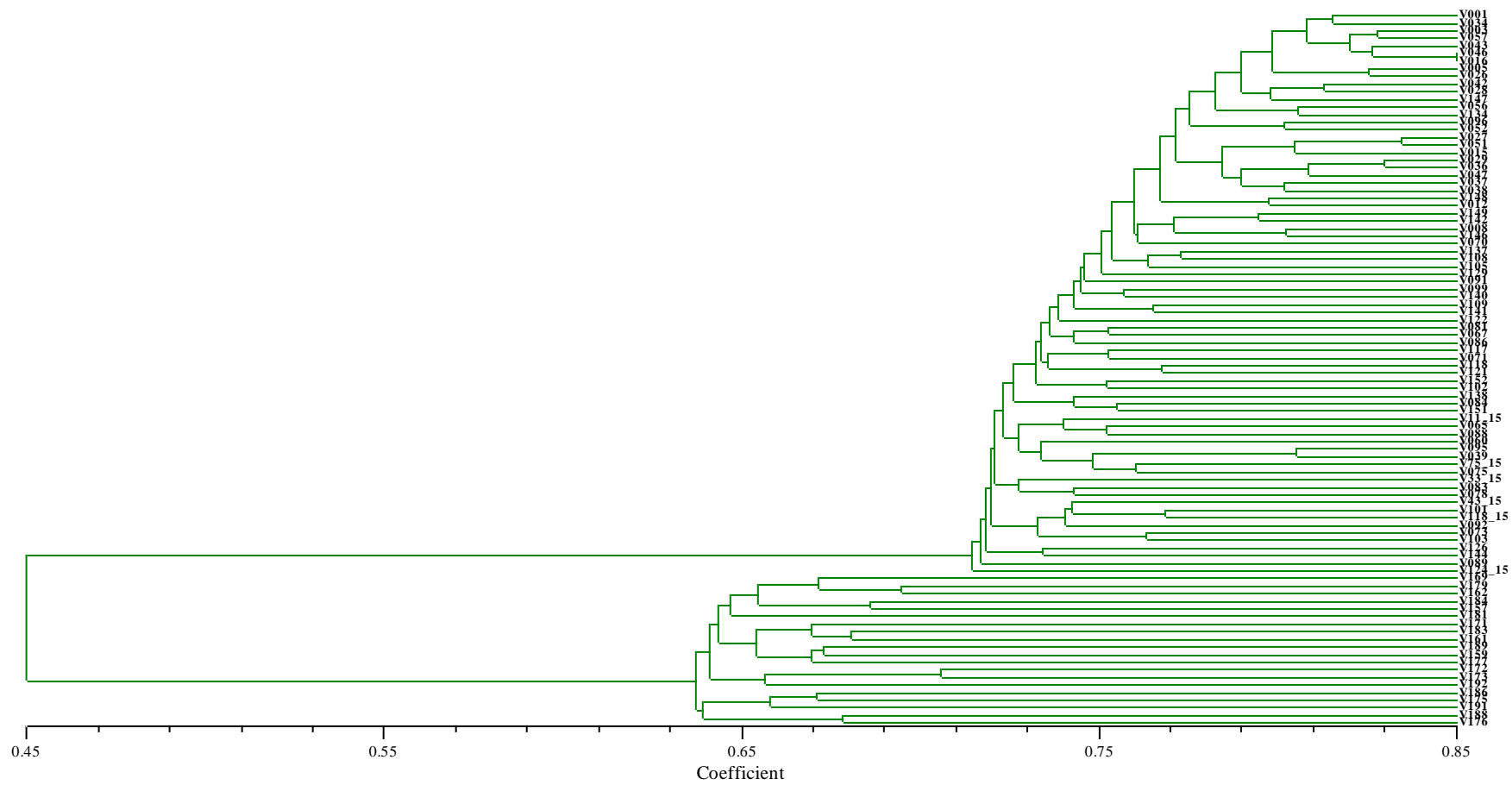
Wartości średnich, odchylenia standardowego (S) i współczynników zmienności (W) dla badanych cech fenotypowych dziesięciu odmian żyta (Szczecin 2016)

Odmiana	Parametr	Krzewienie produkcyjne	Krzewienie ogólne	Wysokość [cm]	Długość kłosa [cm]	Liczba kłosków w kłosie	liczba ziaren w kłosie	masa ziaren z kłosa [g]
Armand	Średnia	4.18	4.72	129.54	10.22	34.56	57.70	2.52
	S	2.12	2.46	15.26	1.20	4.02	10.78	0.63
	W	50.72	52.01	11.78	11.77	11.63	18.68	24.95
Bono F1	Średnia	6.37	7.66	125.83	10.29	35.30	62.47	2.90
	S	2.65	3.54	11.52	1.01	3.15	7.67	0.56
	W	41.65	46.27	9.16	9.82	8.92	12.27	19.36
Bosmo	Średnia	4.40	4.92	150.24	11.12	35.71	59.55	2.98
	S	2.15	2.52	18.15	1.43	4.20	11.18	0.81
	W	48.82	51.20	12.08	12.83	11.75	18.77	27.11
D. Diament	Średnia	3.58	3.89	129.13	9.70	32.65	54.17	2.38
	S	2.05	2.11	20.90	1.71	6.11	13.75	0.74
	W	57.16	54.27	16.18	17.65	18.71	25.39	30.91
D. Granat	Średnia	5.85	6.46	135.30	10.21	34.85	60.07	2.77
	S	2.11	2.42	10.39	1.23	3.46	8.44	0.57
	W	36.13	37.41	7.68	12.01	9.92	14.05	20.63
Horyzo	Średnia	3.97	4.50	137.96	10.77	34.91	58.53	2.76
	S	1.82	2.16	14.47	1.62	4.70	11.22	0.75
	W	45.77	48.15	10.49	15.04	13.47	19.18	27.10
Konto F1	Średnia	4.25	5.28	129.84	10.00	35.13	61.12	2.63
	S	2.00	2.67	11.22	1.22	3.89	10.13	0.64
	W	47.11	50.47	8.64	12.20	11.06	16.57	24.31
Skaltio F1	Średnia	6.37	7.43	130.35	10.32	35.08	60.86	3.05
	S	3.18	3.72	9.49	1.12	3.33	8.72	0.58
	W	49.96	50.08	7.28	10.88	9.48	14.33	18.85
Stakatto F1	Średnia	6.70	7.15	124.79	9.67	34.75	61.87	2.83
	S	2.95	3.26	8.88	1.08	3.64	9.48	0.64
	W	43.95	45.63	7.12	11.18	10.47	15.33	22.51
Stanko	Średnia	5.04	5.79	130.93	10.31	35.44	58.20	2.64
	S	2.70	3.43	19.50	1.61	5.04	11.29	0.65
	W	53.63	59.23	14.89	15.63	14.21	19.40	24.54

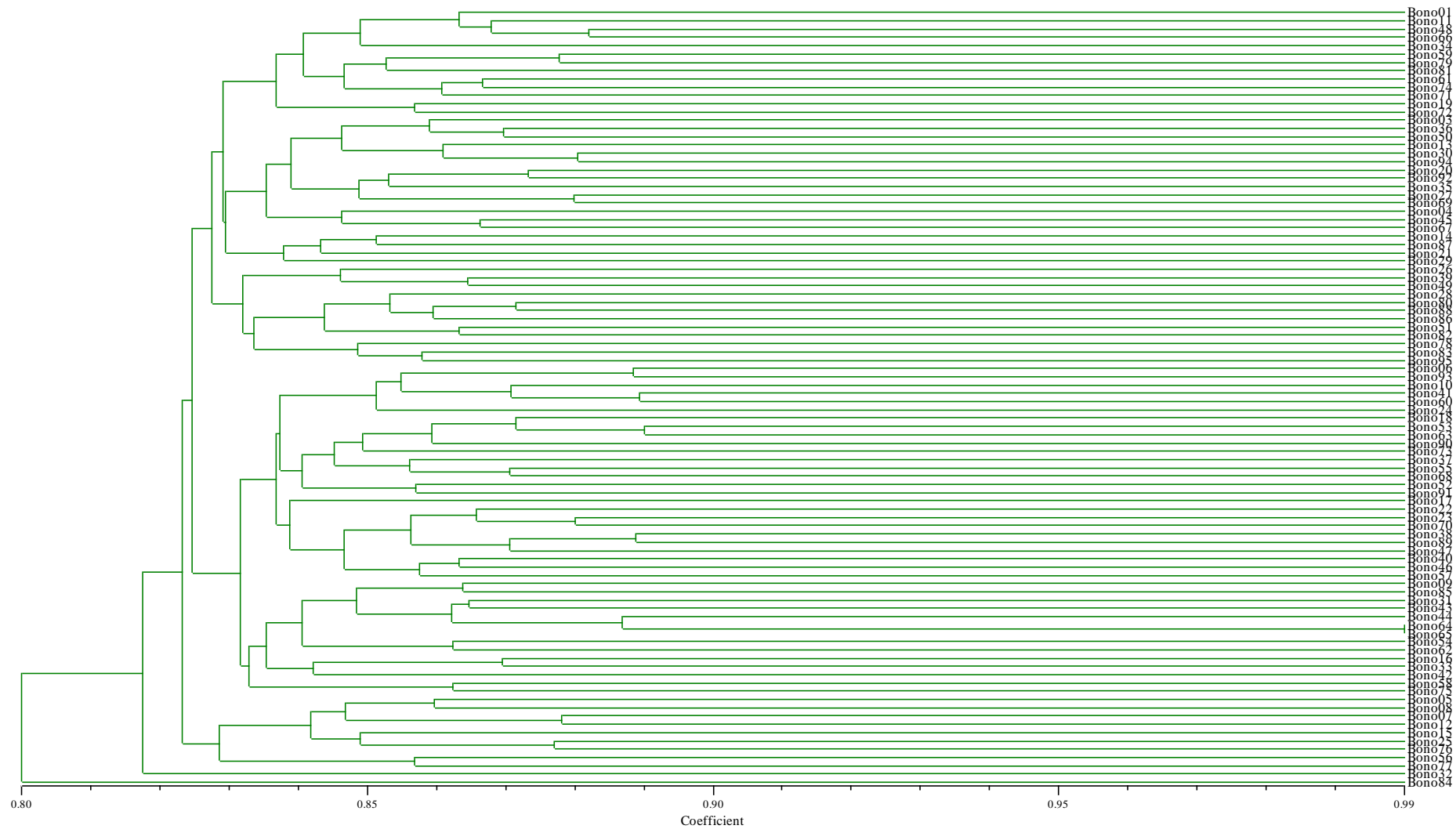
Tabela 2

Wartości współczynników korelacji pomiędzy badanymi cechami fenotypowymi

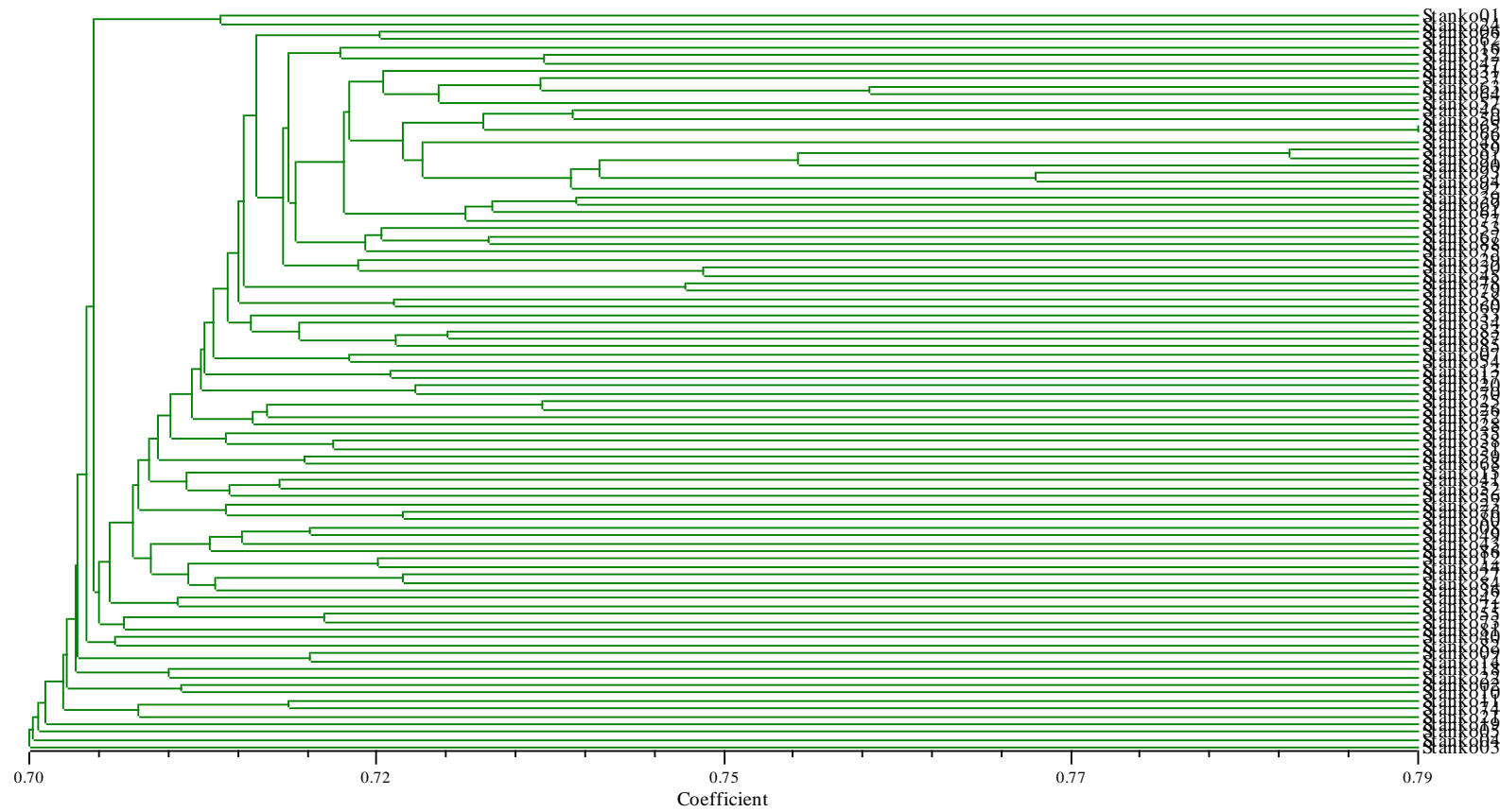
Krzewienie ogólne	0.89					
Wysokość	0.19	0.10				
Długość kłosa [cm]	0.21	0.21	0.45			
Liczba kłosków w kłosie	0.31	0.27	0.37	0.10		
liczba ziaren w kłosie	0.31	0.27	0.28	0.09	0.78	
masa ziaren z kłosa [g]	0.35	0.35	0.36	0.04	0.33	0.40
	Krzewienie produkcyjne	Krzewienie ogólne	Wysokość	Długość kłosa [cm]	Liczba kłosków w kłosie	liczba ziaren w kłosie



Rys.1 Dendrogram podobieństwa genetycznego roślin z odmiany Visello F1 skonstruowany metodą UPGMA



Rys.2 Dendrogram podobieństwa genetycznego roślin z odmiany Bono F1 skonstruowany metodą UPGMA



Rys.3 Dendrogram podobieństwa genetycznego roślin z odmiany Stanko skonstruowany metodą UPGMA

Dyskusja *(opisać jak w publikacji)*

Wyniki oceny fenotypowej roślin pochodzących z dziesięciu badanych odmian żyta muszą być traktowane jako wstępne. Wszystkie analizowane cechy fenotypowe podlegają znaczącym modyfikacjom przez czynniki środowiskowe, więc zaobserwowane różnice między odmianami wymagają weryfikacji w kolejnych sezonach wegetacyjnych. Wykonane obserwacje wskazują, że różnice między odmianami żyta dotyczące pojedynczych roślin nie są znaczące. Prawdopodobnie przewaga odmian mieszańcowych nad populacyjnymi wynika z kumulacji drobnych różnic fenotypowych. Wśród cech o największym znaczeniu dla wysokiego potencjału plonowania mieszańców żyta można wstępnie wymienić zdolność do efektywnego krzewienia oraz ilość zawiązywanych ziaren w kłosie.

W latach 80-tych XX wieku za uzasadniony ekonomicznie model odmian mieszańcowych żyta uznano odmiany trójliniowe z syntetycznym restorerem po stronie ojca (Becker i in. 1982; Geiger 1985). Względy ekonomiczne spowodowały, że odmiany mieszańcowe żyta są w pewnym sensie populacjami, a ich przewaga nad tradycyjnymi odmianami wynika z większej częstotliwości występowania genotypów heterozyjnych o bardzo dobrych cechach gospodarczych (Łapiński i Stojalowski 1997). Model odmiany mieszańcowej żyta opracowany w Niemczech ponad 30 lat temu, jest wciąż obowiązujący dla większości aktualnie rejestrowanych odmian. Wyniki analiz genetycznych dla odmian Bono F1 i Stanko są w pełni zgodne z teoretycznymi założeniami – odmiana mieszańcowa jest genetycznie zróżnicowana, ale poziom tego zróżnicowania jest mniejszy niż w odmianie populacyjnej. Zaskakujący jest jednak wynik analiz w obrębie odmiany Visello F1. Co prawda wynik ten został otrzymany w oparciu o około dziesięć tysięcy mniejszą liczbę markerów, ale zaobserwowany podział na dwie wyraźnie odrębne genetycznie grupy genotypów nie mógł raczej wynikać z tej różnicy i aktualnie trudno ten rezultat racjonalnie wyjaśnić. Wskazuje to na konieczność kontynuowania badań w tym kierunku.

Wnioski *(opisać jak w publikacji)*

Ocena pojedynków pochodzących z odmian mieszańcowych i populacyjnych wskazuje na stosunkowo niewielką zmienność fenotypową pomiędzy odmianami. Odmiany mieszańcowe charakteryzują się przeważnie nieco większą zdolnością do krzewienia oraz nieznacznie wyższą liczbą zawiązywanych ziaren w kłosach.

Wśród badanych odmian populacyjnych w 2016 roku odróżniała się cechami fenotypowymi odmiana Bosmo – jej rośliny były najwyższe, miały najdłuższe kłosa z największą liczbą zawiązywanych ziaren. Odmiana Bono F1 charakteryzuje się większym poziomem wyrównania genetycznego niż populacyjna odmiana Stanko

Temat badawczy 2

Ocena przydatności odmian populacyjnych do zasilania heterotycznych pul genetycznych dla przyszłych komponentów macecznych i ojcowskich. Etap 1: Charakterystyka genetyczna linii wsobnych z polskiej hodowli.

Cel: Ocena zmienności genetycznej występującej wśród linii wsobnych żyta wykorzystywanych do hodowli odmian mieszańcowych w Polsce – cel zrealizowany.

Materiały i metody *(opisać jak w publikacji)*

W badaniach wykorzystano linie wsobne o różnym stopniu zaawansowania, które są wykorzystywane aktualnie przez polskie spółki hodowlane do hodowli odmian mieszańcowych. Wśród badanych linii znalazły się zarówno te, które stanowią pulę linii macecznych (non-restorer), jak i linii ojcowskich (restorer). Po 90 linii hodowlanych do badań zostało udostępnionych przez dwie spółki zajmujące się hodowlą mieszańcową: Danko Hodowla Roślin oraz Poznańska Hodowla Roślin – badaniami objęto łącznie 180 linii wsobnych.

DNA izolowano z liści pobranych na początku strzelania w źdźbło na terenie spółek hodowlanych lub z liści siewek otrzymanych w Zachodniopomorskim Uniwersytecie Technologicznym w Szczecinie z nasion udostępnionych przez hodowców. DNA ze 180 linii wsobnych otrzymanych ze spółek hodowlanych Danko Hodowla Roślin oraz Poznańska Hodowla Roślin wyizolowano przy użyciu zestawów do izolacji GeneElute Plant Mini Kit (Sigma-Aldrich). Czystość i koncentrację uzyskanych izolatów oceniano spektrofotometrycznie oraz poprzez analizę wyników elektroforezy w żelach agarozowych.

Jako podstawę do oceny zmienności genetycznej wybrano markery otrzymywane w technologii DArTseq (usługa komercyjna oferowana przez firmę Diversity Arrays Technology Pty., Bruce, Australia). Technologia ta, będąca wariantem szerzej stosowanej metody pozyskiwania markerów, która jest określana jako Genotyping by Sequencing (GBS), pozwala na otrzymanie dwóch rodzajów markerów: liczniejszej grupy dominujących Silico-DArT oraz zazwyczaj mniej liczny zestaw kodominujących markerów SNP. Z uwagi na homozygotyczny charakter badanych linii, do oceny zróżnicowania genetycznego planowane jest wykorzystanie markerów Silico-DArT. Analizy zróżnicowania genetycznego oraz konstrukcja drzew podobieństwa genetycznego metodą UPGMA zostanie wykonana przy użyciu programu NTSys 2.2.

Wyniki *(opisać)*

Analizami DArTseq objęto po 90 linii z dwóch spółek hodowlanych (Danko HR Sp. z o.o. i Poznańska Hodowla Roślin Sp. z o.o.) realizujących programy hodowli odmian mieszańcowych żyta – łącznie przebadano 180 hodowlanych linii wsobnych. Do oceny zróżnicowania genetycznego użyto markerów Silico-DArT w ilości 65532. Analizy przeprowadzono oddzielnie dla zestawu linii pochodzących z każdej spółki.

Podobieństwo genetyczne linii pochodzących z Danko HR Sp. z o.o. mieściło się w granicach od 0,83 do 0,99 (rys.4). Na utworzonym dendrogramie wyraźnie zauważalne są dwie grupy skupień. Generalnie odpowiadają one podziałowi hodowlanemu na linie typu non-restorer (linie mateczne) i linie typu restorer (linie ojcowskie), chociaż pojedyncze niezgodności można odnaleźć na wykresie (rys.4).

Bardzo podobnie wygląda wynik analiz genetycznych linii hodowlanych z Poznańskiej Hodowli Roślin Sp. z o.o. Zakres oszacowanego przy pomocy markerów DArTseq podobieństwa genetycznego mieści się w granicach 0,82 do 0,97 (rys.5). Podział na dwie grupy skupień jest mniej widoczny z uwagi na dość duże zróżnicowanie w obrębie grupy linii restorerowych. Niemniej jednak, uważna analiza pozwala na wydzielenie dwóch głównych grup genotypów, które zasadniczo odpowiadają puli linii typu „non-restorer” i puli linii „restorer”.

Dyskusja *(opisać jak w publikacji)*

Hodowla odmian mieszańcowych kukurydzy i wielu innych gatunków roślin uprawnych jest oparta o dobór komponentów rodzicielskich w obrębie dwóch przeciwstawnych pul genetycznych (Simmonds 1987; Michalik 2009) zwanych też pulami heterotycznymi. Dystans genetyczny pomiędzy genotypami należącymi do tych pul jest niezbędny dla uzyskania efektu heterozji u tworzących mieszańców. W hodowli mieszańcowej żyta prowadzonej w Niemczech od samego początku wydzielone zostały tego rodzaju pule heterotyczne: linie mateczne wywodzą się z grupy genotypów żyta Petkus, a pulę genetyczną linii ojcowskich wprowadzono z hodowli żyta Carsten (Geiger 1985). Podział ten przyjęły i wdrożyły do swoich programów wszystkie niemieckie firmy zajmujące się hodowlą heterozyjną żyta. W Polsce hodowcy też tworzą w swoich programach pule heterotyczne, ale, praktycznie każda ze spółek robiła to we własnym zakresie, chociaż współpraca przy hodowli wspólnych odmian mieszańcowych mogła wpłynąć na częściową unifikację składu w obrębie puli genotypów matecznych i ojcowskich. Wykonana analiza różnic genetycznych w obrębie linii hodowlanych z dwóch spółek wskazuje na odrębność genetyczną linii matecznych i ojcowskich - podobny maksymalny dystans genetyczny 0,17-0,18 odnotowano w obu przypadkach. Wartości tego dystansu są mniejsze niż te, które charakteryzują pule heterotyczne w hodowli niemieckiej (Fischer i in. 2010), gdzie wartość dystansu osiągała 0,29. Trzeba jednak zaznaczyć, że w pracy Fischer i in. (2010) i w aktualnie realizowanych badaniach stosowano inne metody szacowania dystansu genetycznego (inne rodzaje markerów i inne metody analizy statystycznej).

Wnioski *(opisać jak w publikacji)*

W obrębie badanych linii pochodzących z dwóch spółek hodowli roślin zauważalne jest istnienie dwóch pul genetycznych – linii matecznych i linii ojcowskich. Szacowany dystans genetyczny pomiędzy obiema pulami heterotycznymi linii matecznych i ojcowskich w obu spółkach hodowlanych jest stosunkowo niewielki.

Temat badawczy 3

Ocena plonowania populacji syntetycznych o zróżnicowanej strukturze genetycznej. Etap 1: Uzyskanie nasion sześciu populacji syntetycznych.

Cel: przygotowanie materiału siewnego do założenia doświadczenia polowego pozwalającego na określenie wartości gospodarczej populacji syntetycznych o zróżnicowanej strukturze genetycznej – cel zrealizowany.

Materiały i metody *(opisać jak w publikacji)*

Realizację zadania badawczego rozpoczęto jesienią 2016 roku. Na podstawie informacji o pochodzeniu linii wsobnych, jak również w oparciu o dostępność nasion, wybrano kombinacje linii, do wytworzenia populacji syntetycznych o zróżnicowanej strukturze genetycznej. Jako linie rodzicielskie dla tworzonych syntetyków wybrane zostały 3 linie z Poznańskiej Hodowli Roślin Sp. z o.o. (NS 55N/09, S 210N/05, WM 34R) oraz jedna linia z Danko Hodowla Roślin Sp. z o.o. (SR13). Zaplanowano uzyskanie czterech syntetyków dwuliniowych, jednego trójliniowego i jednego czteroliniowego. Nasiona wybranych odmian wysiano w izolowanych przestrzennie szkółkach rozmnożeniowych.

Wyniki *(opisać)*

W roku 2016 dokonano oceny dostępności nasion oraz klasyfikacji linii wsobnych do grup „non-restorer” i „restorer” w programach hodowlanych dwóch spółek: Poznańskiej Hodowli Roślin Sp. z o.o. i Danko Hodowla Roślin Sp. z o.o. Zdecydowano, że podstawą do tworzenia populacji syntetycznych powinny być dwie linie z programu „non-restorer” i dwie z programu „restorer”. W obrębie pierwszej grupy linii wystarczającą ilość nasion do założenia szkółek rozmnożeniowych stwierdzono dla linii NS 55N/09, S 210N/05. Spośród linii z programu restorerowego realizowanego w obu spółkach wybrano linie WM 34R (z PHR) i SR13 (z Danko). W każdej z izolowanych szkółek (tab.3) wysianych zostało po 400 kiełkujących nasion.

Tabela 3

Kombinacje linii wsobnych wybrane do wytworzenia populacji syntetycznych.

Kombinacja	Liczba nasion do siewu
WM 34R x NS 55N/09	200 + 200
WM 34R x S 210N/05	200 + 200
WM 34R x SR 13	200 + 200
NS 55N/09 x S 210N/05	200 + 200
WM 34R x NS 55N/09 x S 210N/05	140 + 140 + 140
WM 34R x NS 55N/09 x S 210N/05 x SR 13	100+100+100+100

Dyskusja *(opisać jak w publikacji)*

Populacje syntetyczne są wykorzystywane w hodowli do tworzenia odmian, których wartość gospodarcza może być większa niż tradycyjnych odmian populacyjnych (Simmonds 1987). Przydatność populacji syntetycznej zależy głównie od wielkości efektu heterozji, który uda się osiągnąć. Zależy on z jednej strony od zdolności kombinacyjnej linii tworzącej syntetyka, a z drugiej – od frekwencji roślin mieszańcowych vs. powstałych na skutek samozapylenia. Teoretycznie mniejsza liczba linii tworzących syntetyka pozwala na dobór linii o wyższej swoistej zdolności kombinacyjnej, ale ze względu na losowość krzyżowań w obrębie populacji syntetycznej – prowadzi do zwiększenia frekwencji genotypów niebędących mieszańcami (niewykazujących efektu heterozji).

Wnioski *(opisać jak w publikacji)*

Zaprojektowano kombinacje linii do tworzenia populacji syntetycznych opartych o różne liczebności linii oraz zróżnicowany ich skład genetyczny

Temat badawczy 4

Wytworzenie i ocena zestawu linii introgresyjnych. Etap 1: Tworzenie linii: krzyżowania wsteczne wypierające, selekcja z użyciem markerów molekularnych.

Cel: Wytworzenie zestawu linii introgresyjnych niezbędnych do przeprowadzenia doświadczeń polowych w celu lokalizowania genów kontrolujących ważne cechy użytkowe u mieszańców żyta – cel zrealizowany.

Materiały i metody (opisać jak w publikacji)

W badaniach wykorzystano mieszańce między dwiema liniami wsobnymi. Linia WM18R została wytworzona w ramach komercyjnych prac hodowlanych w firmie Poznańska Hodowla Roślin Sp. z o.o. Linia reprezentuje pulę heterotyczną genotypów ojcowskich (restorer), charakteryzuje się dobrymi właściwościami użytkowymi, dobrą ogólną zdolnością kombinacyjną i skutecznością w przywracaniu płodności u mieszańców z cytoplazmami sterylizującymi typu Pampa (CMS-P) i CMS-C. Linia 541 została wyhodowana w ZUT Szczecin (dawniej AR Szczecin), jako linia uniwersalnie dopełniająca (non-restorer) dla znanych cytoplazm sterylizujących u żyta, posiada w swoim rodowodzie dzikie żyto górskie (*Secale montanum*), jest wysoka, wylegająca i bardzo podatna na porastanie, a jej ogólna zdolność kombinacyjna jest niewielka. Badane mieszańce pochodzą z krzyżowań wstecznych wykonywanych w obu kierunkach (powracającym partnerem dla części mieszańców jest linia WM18R, a dla części linia 541).

W 2016 roku badaniami objęto 200 roślin pokolenia BC3 (po 100 roślin dla każdego kierunku krzyżowania). Rośliny były wysadzone punktowo na polu stacji doświadczalnej w Szczecinie w rozstawie 20 x 20 cm. Rośliny oceniono pod kątem cech morfologicznych (krzewienie, wysokość roślin). Kłosa zaizolowano przed kwitnieniem w celu uzyskania nasion pokolenia BC3F2, a liście zostały pobrane w celu wyizolowania DNA.

Dokonano wstępnej oceny genetycznej tworzonych linii introgresyjnych. W tym wykonano u 90 losowo wybranych form ocenę polimorfizmu genetycznego przy użyciu 15 markerów molekularnych opartych na metodzie PCR.

Wyniki (opisać)

Rośliny badanych mieszańców były przeważnie podobne pod względem wyglądu do linii rodzicielskich użytych jako partner powracający, chociaż zróżnicowanie było wciąż widoczne. Cechą, która była bardzo wyraźnie zróżnicowana było krzewienie ogólne i produkcyjne (tab.4). Niektóre z badanych pojedynków nie krzewiły się w ogóle, a niektóre wytwarzały do 10 źdźbeł kłosońnych. Przeciętny poziom krzewienia badanych roślin był niewielki i podobny u obu grup badanych mieszańców: [(541N x WM18R)xWM18R]B3 oraz [(541N x WM18R)x541]B3 (tab.4)

Różnice wynikające z zastosowania odmiennego komponentu do krzyżowań wstecznych widoczne były przy ocenie wysokości roślin. Mieszańce z udziałem linii WM18R jako powracającego partnera były o około 9cm niższe od tych, które cyklicznie krzyżowano z linią 541 (tab.4). Zróżnicowanie wewnątrz każdej z grup badanych genotypów było jednak wciąż znaczące (współczynniki zmienności powyżej 10%).

Tabela 4

Krzewienie i wysokość roślin badanych roślin mieszańcowych – wartości średnie, odchylenie standardowe (S) i współczynniki zmienności (W).

	[(541N x WM18R)xWM18R]B3			[(541N x WM18R)x541]B3		
	Krzewienie produkcyjne	Krzewienie ogólne	Wysokość [cm]	Krzewienie produkcyjne	Krzewienie ogólne	Wysokość [cm]
Średnia	4.01	4.95	106.72	3.52	5.18	115.55
S	1.95	2.50	12.68	1.40	2.59	16.12
W	48.69	50.40	11.89	39.84	50.09	13.95

Analizy wykonane przy pomocy markerów molekularnych również ujawniły przewagę obecności tych wariantów allelicznych, które były obecne u formy rodzicielskiej używanej do krzyżowań wstecznych. Nasiona zebrane z badanych roślin (pokolenie B3F2) wysiano jesienią na polu należącym do ZUT w Szczecinie (po 10 ziaren każdego z 200 genotypów) w celu wytworzenia w kolejnych sezonach wegetacyjnych zestawu linii wsobnych introgresyjnych niezbędnych do kontynuowania badań.

Dyskusja *(opisać jak w publikacji)*

Bardzo efektywną metodą lokalizowania genów kontrolujących ważne cechy użytkowe jest tworzenie tzw. bibliotek introgressyjnych, które w istocie stanowią zbiór linii blisko-izogenicznych obejmujących obszar całego genomu. Pierwsza tego rodzaju biblioteka żyta została stworzona na bazie elitarnej linii wsobnej L2053-N z niemieckiej hodowli odmian mieszańcowych, do której wprowadzono segmenty genomu irańskiej populacji Altevogt 14160 (Falke i in. 2008). Badania otrzymanego zestawu linii pozwoliły na określenie lokalizacji genów istotnych dla szeregu cech agronomicznych (Falke i in. 2009, Mahone i in. 2013), jak i przydatnych przy zwiększaniu zmienności genetycznej w obrębie heterotycznych grup stosowanych w hodowli mieszańców żyta (Falke i in. 2009). Bibliotekę tę stworzono na bazie mieszańców wstecznych pokolenia B2, ale przy jednoczesnym zastosowaniu selekcji materiałów hodowlanych w oparciu o kompleksowo prowadzone analizy genetyczne (Falke i in. 2008). Zestaw mieszańców wstecznych wykorzystany w aktualnie realizowanym projekcie nie był wcześniej oceniany markerami molekularnymi. Pierwsze, wstępne analizy wykonano w bieżącym roku jednocześnie oceniając rośliny pod kątem wybranych cech fenotypowych. Kontynuacja tych działań w szerszym zakresie powinna pozwolić na wytworzenie zestawu linii introgressyjnych o zróżnicowanym składzie genetycznym.

Wnioski *(opisać jak w publikacji)*

Wstępne oceny fenotypowe i genetyczne wykonane na pojedynczych roślinach mieszańców wstecznych wskazują na przydatność badanych genotypów do wyhodowania zestawu linii introgressyjnych przydatnych do badań nad genetycznym podłożem cech o dużym znaczeniu użytkowym.

Opublikowane streszczenia:

Stojałowski S., Orłowska M., Sobczyk M., Góralska M., 2016. Assessment of genetic diversity within a hybrid cultivar of rye by mean DArTseq technology. V Kongres Genetyki, Łódź 19-22 września 2016, „Program i materiały kongresowe” red. Andrzej K. Kononowicz, Lucjusz Jakubowski, Maciej Borowiec, Paweł Stączek, Wydawnictwo Grupa Medica s.c., Łódź 2016, ISBN: 978-83-925769-4-5: 327

Assessment of genetic diversity within a hybrid cultivar of rye by mean DArTseq technology

Stojałowski Stefan, Orłowska Marta, Sobczyk Martyna, Góralska Magdalena
Department of Genetics, Plant Breeding and Biotechnology, West Pomeranian University of Technology in Szczecin

This work was financially supported by Polish Ministry of Agriculture and Rural Development (Dec HORhn-801-PB-6/16, project 87)

Introduction

Hybrid cultivars of rye are significantly more productive than traditional population varieties. It seems that it is a result of higher heterozygosity within hybrids, leading to more efficient exploit of heterosis. Nowadays the data concerning the precise assessment of heterozygosity within hybrid and population cultivars are not available. In theory, the hybrid cultivar consists of individuals which are highly heterozygotic but relatively similar, because are obtained by crossing selected homogeneous parental components.

Objective

Phenotypic analyses of individual plants of Visello F1 cultivar done in experimental station of West Pomeranian University of Technology in Szczecin revealed significant variation of some analyzed morphological traits (fig. 1-3). The study was aimed at verification, if observed phenotypical variation is only an effect of environmental conditions or it reflects the genetic diversity of plants within hybrid cultivar.

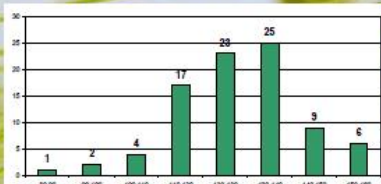


Fig.1. Distribution of plant height within studied individuals of Visello F1 cultivar.



Fig.2. Distribution of number of spikelets per spike within studied individuals of Visello F1 cultivar.

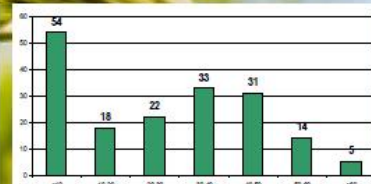


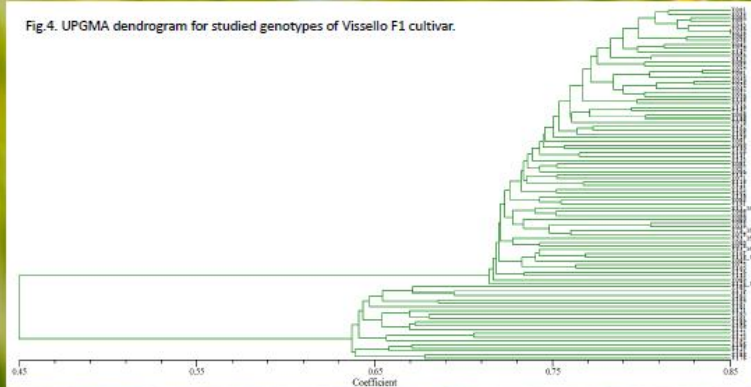
Fig.3. Distribution of number of kernels per isolated spike within studied individuals of Visello F1 cultivar.

Methods

For assessment of genetic diversity the DArTseq technology was used. DNA for genotyping was isolated from leaves with the use of commercial kit dedicated for plant tissues. In total 94 individuals randomly chosen from the cultivar grown in the field of experimental station in Szczecin were genotyped. A set of 55 542 Silico-DArT markers obtained from DArTseq platform were used for estimation of genetic diversity within studied hybrid cultivar.

Results

Obtained results were analyzed with the use of NTSYS 2.2. software. Calculated values of genetic similarity of studied genotypes varied between 0,42 and 0,88 revealing unexpected high genetic diversity between some individuals of analyzed cultivar. The dendrogram obtained by UPGMA (fig.4) method exposes that within plants occurring in Visello F1 cultivar two distinct groups of genotypes are distinguishable. The importance of this statement have to be verified in further research.



Stojałowski S., Orłowska M., Sobczyk M., Góralska M., 2016. Assessment of genetic diversity within a hybrid cultivar of rye by mean DArTseq technology. V Kongres Genetyki, Łódź 19-22 września 2016