

Sprawozdanie z realizacji projektu badawczego pt.
„Badania nad wpływem translokacji 1B/1R na efektywność uzyskiwania linii DH pszenicy
oraz ich wartość technologiczną”

Projekt finansowany przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi
Departament Hodowli i Ochrony Roślin w 2014 r.
Nr decyzji: HOR hn- 801-8/14, zadanie nr 3

Tadeusz Adamski, Maria Surma, Karolina Krystkowiak, Anetta Kuczyńska, Krzysztof
Mikołajczak, Piotr Ogrodowicz, Elżbieta Adamska, Renata Trzeciak, Alina Anioła, Renata
Holewińska

Instytut Genetyki Roślin PAN, ul. Strzeszyńska 34, 60-479 Poznań

Wiele z wykorzystywanych w programach hodowlanych odmian i rodów pszenic zawiera translokacje z żytem. Formom z translokacjami przypisuje się szereg korzystnych właściwości (plonowanie, stabilność, odporność na choroby), jak również negatywnych, jakim jest spadek wartości technologicznej mąki. Zastosowanie w hodowli nowoczesnych technologii, w tym kultur *in vitro* i markerów molekularnych, umożliwia skrócenie cyklu hodowlanego, świadomy i monitorowany transfer genów, zwiększenie efektywności selekcji a w konsekwencji – znaczące obniżenie kosztów wyhodowania nowych odmian. Celem badań wieloletnich jest określenie wpływu translokacji żytnich u pszenicy na efektywność uzyskiwania form haploidalnych i linii podwojonych haploidów (DH) na drodze krzyżowania pszenicy z kukurydzą oraz na prawidłowość zachodzenia segregacji w populacjach linii DH i SSD wyprowadzonych z mieszańców form translokowanych.

Prowadzone w 2014 r. badania obejmowały: (1). Zbadanie częstości występowania translokacji pszenno-żytnich w wybranych odmianach i rodach pszenicy w powiązaniu ze składem alleli *Glu-1* (2). Analizę polimorfizmu wybranych form pszenicy pod względem markerów sprzężonych z cechami użytkowymi (3) Określenie efektywności uzyskiwania haploidów pszenicy z mieszańców F1 zróżnicowanych pod względem występowania translokacji 1B/1R na drodze krzyżowania z kukurydzą.

Przeprowadzono analizę 400 odmian lub rodów pszenicy pod względem obecności translokacji pszenno-żytnich. Identyfikację form z translokacjami 1B/1R dokonano na podstawie obecności białek sekalinowych w ziarnie pszenicy. Analizy produktów ekspresji alleli *Glu-1* wykonano metodą elektroforezy białek gluteninowych na żelu poliakrylamidowym (Tohver 2007) oraz z wykorzystaniem allelospecyficznym markerów molekularnych (Goutam i in. 2013). Analizę PCR dla translokacji 1RS.1BL przeprowadzono z wykorzystaniem markerów STS dla translokacji oraz z wykorzystaniem markera mikrosatelitarnego SCM 9 (Bagherikia i in. 2014). Wśród 130 badanych odmian tylko 7 (5,4%) charakteryzowało się obecnością translokacji 1B/1R (Aiwina, Belenus, Palma, Brilliant, Profilus, Bovictus, Herzog). W grupie 270 rodów pochodzących z polskiej hodowli formy translokowane stanowiły około 10%.

Prace nad określeniem polimorfizmu odmian lub rodów pod względem markerów sprzężonych z cechami użytkowymi prowadzono na 30 wybranych odmianach lub rodach pszenicy, zróżnicowanych z uwagi na obecność translokacji jak i skład HMW. Do badań wybrano markery mikrosatelitarne typu GWM, WMC, CFA, CFD, BARC i GPW (Roder in. 1998, Guyomarc'h i in. 2002, Sourdille i in. 2003, Somers i in. 2004, Song i in. 2005, Grain Genes). Reakcje PCR wykonano przy użyciu odczynników Qiagen w 5 µl objętości na płytkach PCR. Mieszanina reakcyjna zawierała 1x stężony Qiagen Multiplet PCR Master Mix, 2 µM każdego primera. Reakcje PCR prowadzono z wykorzystaniem 50 par starterów. Ze względu na możliwość multipleksowania reakcji PCR markery zostały wyznakowane barwnikami fluorescencyjnymi (NED, PET, VIC, 6-FAM). a po przeprowadzeniu elektroforezy kapilarnej (Analizator Genetyczny DNA Applied Biosystems) przeanalizowane z wykorzystaniem programu GeneMapper. Spośród analizowanych markerów tylko 17 generowało stabilne, polimorficzne produkty. Markery te zostaną wykorzystane w pracach nad określeniem poprawności segregacji alleli (markerów SSR sprzężonych z cechami użytkowymi) w populacjach linii podwojonych haploidów wyprowadzanych z mieszańców F1 uzyskanych ze skrzyżowania form zawierających translokacje lub bez translokacji.

Badano wpływ translokacji pszenno-żytnich na zdolność do krzyżowania pszenicy z kukurydzą, liczbę uzyskiwanych zarodków i ich rozwój w kulturze *in vitro*. Materiał do badań stanowiły mieszańce pokolenia F₁ uzyskane ze skrzyżowania odmian (rodów) zróżnicowanych pod względem składu alleli *Glu-1* i obecnością lub brakiem translokacji 1B/1R. Wykastrowane kłosa pszenicy zapyłono pyłkiem pobranym z wybranych odmian kukurydzy cukrowej. Zapyłono pyłkiem kukurydzy łącznie 20 400 kwiatków z 9 kombinacji krzyżówkowych pszenicy. Określono liczbę rozrośniętych załąźni oraz wykształconych zarodków, a także uzyskanych roślin haploidalnych. Na podstawie przeprowadzonej analizy wariancji stwierdzono istotne zróżnicowanie odmian pod względem liczby uzyskanych zarodków/100 rozrośniętych załąźni oraz liczby otrzymanych roślin ze 100 załąźni i liczby roślin ze 100 zapyłonych kwiatków. Wartości statystyki F dla tych cech wynosiły odpowiednio 10,34, 8,77 i 3,81 przy $F_{0,05} = 2,51$ i $F_{0,01} = 3,98$. Badane formy nie różniły się istotnie pod względem liczby uzyskanych roślin z z jednego kłosa.

Liczba zarodków/100 załąźni uzyskanych z mieszańców zawierających translokacje mieściła się w granicach od 10,7 do 15,13 natomiast z mieszańców bez translokacji od 7,72 do 12,54. Z kolei ze 100 zarodków otrzymano odpowiednio od 30,35 – 69,9 haploidów z mieszańców translokowanych i 23,02-63,78 z form bez translokacji. Procent uzyskanych haploidów w stosunku do rozrośniętych załąźni u mieszańców translokowanych wahał się w granicach od 2,96 do 5,56 natomiast bez translokacji od 1,0 do 6,93% .

Porównanie średnich wartości cech dla grupy mieszańców z translokacjami z grupą mieszańców nietranslokowanych metodą analizy kontrastów wykazało brak istotnych różnic pod względem każdej z analizowanych cech. Wartości kontrastów dla liczby zarodków/100 ziarniaków i liczby haploidów/100 zarodków i liczby haploidów /100 zapyłonych kwiatków wynosiły odpowiednio 0,58, -2,36 i 0,13 i były statystycznie nieistotne.

Dalsze badania dotyczące wpływu translokacji 1B/1R na efektywność uzyskiwania form haploidalnych na drodze krzyżowania pszenicy z kukurydzą prowadzone będą z wykorzystaniem linii DH otrzymanych z mieszańców F1 uzyskanych ze skrzyżowania formy translokowanej z nietranslokowaną. Wyprowadzone z takich mieszańców linie DH

będą reprezentowane zarówno przez linie z 1B/1R jak i bez translokacji, w obu przypadkach o zbliżonym tle genetycznym. Pozwoli to na precyzyjne określenie wpływu translokacji na zdolność krzyżowania pszenicy z kukurydzą jak i na cechy determinujące efektywność otrzymywania linii podwojonych haploidów.