

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 2016 r.
Nr decyzji: HOR hn- 801- PB- 22/15, zadanie nr 3

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

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

Zastosowanie w hodowli nowoczesnych technologii, w tym metod otrzymywania form haploidalnych pszenicy, umożliwia skrócenie cyklu hodowlanego oraz zwiększenie efektywności selekcji, a tym samym obniżenie kosztów wyhodowania nowych odmian. Celem badań wieloletnich jest stwierdzenie, czy obecne w niektórych odmianach (rodach) pszenicy translokacje 1B/1R mają wpływ 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.

W roku 2016 badania prowadzono w ramach dwóch tematów: 1. Określenie efektywności uzyskiwania form haploidalnych pszenicy na drodze krzyżowania z kukurydzą z mieszańców zróżnicowanych pod względem translokacji 1B/1R i składu białek gluteninowych 2. Określenie wpływu translokacji 1B/1R na prawidłowość zachodzenia segregacji alleli w populacjach linii DH i SSD

Celem tematu 1. było określenie wpływu translokacji pszenno-żytnich występujących w formach heterozygotycznych na zdolność do krzyżowania pszenicy z kukurydzą, mierzoną częstością wykształcania zarodków i ich zdolnością do rozwoju w kulturze *in vitro*, w zróżnicowanym genetycznie materiale, w tym pod względem występowania translokacji. Materiał do badań stanowiły mieszańce pokolenia F₁ 15 kombinacji krzyżówkowych pszenicy, uzyskane ze skrzyżowania form rodzicielskich w układzie: (1) forma translokowana x translokowana, (2) forma translokowana x forma bez translokacji, (3) forma bez translokacji x forma bez translokacji. Dla określenia wpływu cytoplazmy na efektywność uzyskiwania haploidów krzyżowania wykonano dwukierunkowo, to jest w układzie AxB i BxA.

Wykastrowane kłosa pszenicy zapyłano pyłkiem pobranym z wybranych odmian kukurydzy cukrowej. Kultura *in vitro* niedojrzałych zarodków prowadzono zgodnie z instrukcją wdrożeniową „Otrzymywanie linii podwojonych haploidów u zbóż (Adamski i in. 2011, IGR PAN). Określono wpływ translokacji na zdolność do wytwarzania i rozwoju zarodków haploidalnych. Uzyskane wyniki opracowano statystycznie. Przeprowadzono analizę wariancji oraz dokonano podziału kombinacji krzyżówkowych na grupy jednorodne pod względem każdej z analizowanych cech metodą analizy skupień (Caliński i Corsten,

1985). Dokonano także weryfikacji hipotez szczegółowych dotyczących kontrastów między badanymi grupami form. Podobieństwo badanych mieszańców pod względem wszystkich cech łącznie przedstawiono graficznie w odpowiednich układach współrzędnych stosując analizę zmiennych kanonicznych (Calinski i Kaczmarek, 1973; Calinski i in., 1975).

Liczba rozrośniętych zalążni /100 zapyłonych kwiatków w zależności od kombinacji krzyżówkowej mieściła się w granicach od 26,6 do 83,43. Procent uzyskanych zarodków w stosunku do liczby zapyłonych kwiatków wynosił 3,59 -11,23, natomiast do rozrośniętych zalążni 4,83-20,48. Liczba uzyskanych roślin haploidalnych/100 zarodków kształtowała się w przedziale 46,7-84,87%.

Wyniki analizy efektywności otrzymywania haploidów z mieszańców między formami bez translokacji między sobą lub z formami posiadającymi translokacje wykazały pozytywny wpływ translokacji 1B/1R zarówno na procent zawiązanych zarodków jak i otrzymywanych roślin haploidalnych. Tym samym potwierdzono wyniki, uzyskane w ramach projektu w 2015 r. wskazujące, że translokacje nie obniżają efektywności, a w niektórych przypadkach mogą ją zwiększać. Wykazano także, że kierunek krzyżowania nie wpływa istotnie na odsetek wykształczanych zarodków, co oznacza brak efektów matecznych. Uzyskane wyniki potwierdziły także, że wpływ translokacji jest zależny od tła genetycznego.

W ramach tematu 2. analizowano poprawność zachodzenia segregacji markerów molekularnych w czterech populacjach linii DH pszenicy (SM/TB/1, SM/TB/2, KBP/TB3 NK/TB/4) oraz jednej populacji RIL (uzyskanej techniką pojedynczego ziarna, SSD) wyprowadzonych z mieszańców F1 form rodzicielskich zróżnicowanych pod względem obecności translokacji pszenno-żytniej. Materiał roślinny analizowano z wykorzystaniem markerów *Scm9*, *Pin-b*, *Xgwm261* oraz zestawem markerów pozwalających na określenie składu HMW (*UMN19*, *Ax2**, *bx7-f/r*, *ZSBy8F5/R5*, *ZSBy9aF1/R3*, *UMN25*, *Dx5*, *UMN26*). DNA do analizy z użyciem markerów molekularnych izolowano za pomocą zestawu Wizard Genomic DNA Purification Kit firmy PROMEGA zgodnie z protokołem producenta.

Prawidłowość segregacji alleli w badanych loci określono poprzez porównanie oczekiwanych i obserwowanych liczebności linii z poszczególnymi allelami za pomocą testu chi-kwadrat. Analizę segregacji alleli w loci *Glu-1* prowadzono na 360 liniach DH oraz 55 liniach RIL otrzymanych w 2015 i 2016 r., natomiast dla pozostałych markerów na 134 liniach otrzymanych w roku sprawozdawczym.

Częstość alleli segregujących w loci *Glu-A1*, *Glu-B1* i *Glu-D1* odpowiadała we wszystkich populacjach oczekiwanemu stosunkowi 1:1, na co wskazują nieistotne wartości statystyki chi-kwadrat zastosowanej dla testowania różnic między oczekiwaną a obserwowaną liczbą linii zawierających odpowiedni allel. Nieistotne wartości testu chi-kwadrat stwierdzono także dla stosunku rozszczepień alleli markera *Xgwm261*, segregujących tylko w populacji linii DH NK/TB4. W przypadku alleli markera *Pin-b* obserwowano zdecydowaną, istotną statystycznie przewagę liczebną linii posiadających allel *Pinb-D1a* nad liniami z allelem *Pinb-D1b*. We wszystkich kombinacjach wartości testu chi-kwadrat były istotne statystycznie. Interesujące wyniki uzyskano dla segregacji linii w odniesieniu do obecności translokacji 1B/1R. W liniach DH otrzymanych z mieszańców F1 stosunek liczby linii z translokacją do liczby linii bez translokacji był zgodny z oczekiwanym stosunkiem 1:1, natomiast w populacji

RIL liczba linii bez translokacji okazała się istotnie większa od linii z translokacją – wartość testu chi-kwadrat była wysoce istotna ($P < 0,01$).

W badanej populacji RIL otrzymanej techniką SSD z mieszańców heterozygotycznych pod względem translokacji, prowadzoną do pokolenia F6, uwagę zwraca mała liczebność linii posiadających translokację. Należy zaznaczyć, że badane linie RIL reprezentują zmienność wynikającą z 6 rund rekombinacji, natomiast zmienność linii DH wyprowadzonych z mieszańców F1 wynika tylko z jednej rundy rekombinacji zachodzącej podczas gametogenezy w roślinach F1. Większa liczba rund zwiększa prawdopodobieństwo przerwania sprzężeń genów w wyniku zachodzącego kilkakrotnie crossing-over. Mogło to doprowadzić do rekombinacji we fragmencie chromosomu zawierającego translokację identyfikowaną markerem Scm 9. Obserwacje innych populacji linii RIL, które są obecnie wytwarzane, pozwolą na zweryfikowanie wyników uzyskanych w kolejnym roku sprawozdawczym.

Uzyskane w 2016 r. wyniki przedstawiono na 20th Eucarpia General Congress, Plant Breeding: the Art of Breeding Science to Life, Zurych, Szwajcaria, 29 sierpnia – 1 września 2016.

Streszczenie prezentacji pt. 1BL/1RS translocation effects on efficiency of wheats DH lines production zostało opublikowane w Book of abstracts, str. 179