**WYNIKI**

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

**Badania wewnętrznej struktury genetycznej odmian żyta oraz dziedzicznego podłoża efektu heterozji**

Temat badawczy 1

Ocena przydatności odmian populacyjnych do zasilania heterotycznych pul genetycznych dla przyszłych komponentów matecznych i ojcowskich

Oceną fenotypową objęto 80 linii pokolenia S1, które otrzymano z mieszańców między czterema liniami hodowlanymi, a pojedynczymi roślinami z pięciu odmian populacyjnych żyta. Po 20 linii miało w rodowodzie (po stronie matecznej) każdą z czterech linii hodowlanych użytych do krzyżowań. Na poziomie S1 nie obserwowano jeszcze wyraźnych objawów depresji wsobnej, ale linie były na ogół mało wyrównane.

Pierwsza z ocenionych cech to krzewienie produkcyjne. Jest to cecha, która na ogół charakteryzuje się dużą zmiennością środowiskową. Wśród ocenionych roślin były takie, które nie krzewiły się wcale (jedna z roślin linii 216), ale były też pojedynki bardzo silnie rozkrzewione z dwudziestoma kłosami na roślinie (pojedyncze rośliny linii 227 i 235). Średni poziom rozkrzewienia roślin u badanych linii przeważnie mieścił się w granicach od 5 do 10, ale zmienność mierzona współczynnikiem zmienności (W%) była bardzo znacząca – prawie zawsze przekraczała 10%, a nierzadko wartości współczynnika były większe od 40%. Genotyp wyjściowej linii matecznej użytej do tworzenia nowych odmian nie miał zauważalnego wpływu na poziom rozkrzewienia roślin.

Wysokość badanych roślin charakteryzowała się dość dużym zróżnicowaniem. Linią o najmniejszej średniej wysokości była 251 (niespełna 100 cm), ale charakteryzowała ją duża zmienność wewnętrzna (ponad 26%). Linia 208 miała średnią wysokość równą 109cm, przy współczynniku zmienności poniżej 12%. Najwyższe linie (o numerach: 237, 257 i 271) miały średnio ponad 150cm i były względnie wyrównane jak na tak wczesny etap chowu wsobnego.

Długość kłosa u badanych linii była zróżnicowana. U większości linii pojawiały się rośliny z kłosami krótkimi (poniżej 8cm) oraz z długimi (powyżej 10cm). Wewnątrzliniowa zmienność na ogół przekraczała 10%, ale tylko w dwóch przypadkach była większa niż 20%. Najwyższe wartości współczynników zmienności otrzymano u linii, u których pojawiły się rośliny z krótkimi i słabo wykształconymi kłosami (linie 207, 277, 287), co może być objawem depresji wsobnej. Dwie z wymienionych linii (207 i 287) miały w rodowodzie po stronie ojcowskiej tą samą roślinę pochodzącą z odmiany Poznańskie (P5/86/1), a po stronie matecznej dwie linie z puli „restorer”.

Liczba kłosków w kłosie wykazywała podobny charakter zmienności, jak długość kłosa. Jest to naturalną konsekwencją wysokiego poziomu korelacji pomiędzy tymi dwiema cechami, ale poziom zmienności liczby kłosków w kłosie był nieco mniejszy niż to miało miejsce przy ocenie długości kłosa. Największy poziom zmienności wewnątrzliniowej wykazywały te same genotypy (207, 277 i 287) i wynikało to z obecności pojedynczych roślin z kłosami słabo rozwiniętymi, o małym potencjale produkcyjnym. Takie kłosy są częstym objawem depresji wsobnej u żyta. Z drugiej strony, często spotykane były u badanych linii rośliny z kłosami liczącymi ponad 40 kłosków, których potencjał produkcyjny jest porównywalny z formami uprawnymi żyta.

Liczba ziaren w izolowanych kłosach była cechą wysoce zmienną – zarówno przy porównaniach między liniami, jak i pomiędzy roślinami wewnątrz linii. U roślin pochodzących z kilkunastu linii zaobserwowano całkowity brak nasion w zaizolowanych kłosach. Wśród linii, u których odnotowano problem z reprodukcją nasion w ścisłym chowie wsobnym było sześć linii mających w rodowodzie po stronie matecznej genotyp S13, trzy linie wywodzące się od S76, cztery linie potomne S237 i aż osiem linii pochodzących od S81. Każda z linii, u których były rośliny nietworzące nasion w chowie wsobnym, zawierała też pojedynki wiążące ziarna w izolowanych kłosach, ale w niektórych przypadkach były one tylko nieliczne (linie 223 i 257). Słabe wiązanie nasion w izolowanych kłosach może wpływać na wypadanie linii z kolekcji przy kontynuowaniu chowu wsobnego. Znacząca część badanych linii zawierała jednak rośliny o dobrej zdolności do zawiązywania ziaren w izolowanych kłosach (liczby uzyskanych nasion często przekraczały 50).

Masa ziaren z izolowanych kłosów była ściśle skorelowana z liczbą ziaren w kłosie i charakteryzowała się wysokim poziomem zmienności między liniami i wewnątrz linii. Zerowe wartości cechy odnotowano u roślin pochodzących z linii wykazujących niezdolność do tworzenia ziaren w warunkach ścisłego chowu wsobnego. Z drugiej strony, z niektórych kłosów zbierano dużą liczbę dobrze wykształconych ziaren, dzięki czemu masy ziarna odnotowane dla pojedynczych roślin linii 211, 212, 221, 237, 261 i 264 przekraczały 2g. Wartości współczynników zmienności wewnątrz-liniowej były przy ocenie masy ziaren z kłosa bardzo wysokie i prawie zawsze przekraczały 20% (nierzadko osiągając wartości trzy-cyfrowe).

Analiza korelacji pomiędzy badanymi cechami pozwoliła na stwierdzenie, że większość z nich nie wykazywała zależności. Najściślej skorelowane okazały się długość kłosa z liczbą kłosków w kłosie oraz liczba ziaren w izolowanych kłosach z masą ziarna z kłosa. Istotny statystycznie, ale dużo słabszy od wcześniej wymienionych, był związek między długością kłosa i liczbą ziaren w kłosie oraz masą ziarna z kłosa. Istotny statystycznie, ale na najniższym poziomie istotności, okazał się współczynnik korelacji między liczbą kłosków w kłosie i liczbą ziaren w kłosie pod izolatorem.

Temat badawczy 2

Ocena plonowania populacji syntetycznych o zróżnicowanej strukturze genetycznej.

Wyniki oceny genetycznej linii rodzicielskich oparte o dane z dwóch lat badań, wskazują że wartości współczynników podobieństwa między każdą parą były na zbliżonym poziomie. Nie zauważono znacząco niższych wartości współczynników podobieństwa dla linii należących do przeciwstawnych pul heterotycznych (non-restorer vs. restorer), nawet gdy pochodziły z tej samej hodowli. Analiza tych samych genotypów w dwóch niezależnie wykonanych analizach DArTseq (w roku 2019 i w 2020) wskazuje na powtarzalność metody. Pojedyncze rośliny z populacji syntetycznych badane dwukrotnie wykazywały podobieństwo na poziomie 0,99. Podobny poziom podobieństwa uzyskano dla dwóch prób linii S210, a nieco niższy (0,94) dla drugiej z badanych linii non-restorer: S55. Lokalizacja obiektów będących powtórzeniami genotypów na drzewie podobieńśtwa genetycznego była zgodna z oczekiwaniami.

Analiza genetyczna populacji syntetycznych była wykonana w celu poznania zakresu zmienności genetycznej w ich obrębie, ale też dla sprawdzenia, czy w tych populacjach znaczącą część stanowią oryginalne linie wsobne, które mogły tworzyć nasiona na drodze samozapylenia. W tym ostatnim przypadku należało oczekiwać obecności w populacjach roślin genetycznie tożsamych z jedną z linii rodzicielskich. Dlatego w analizach dotyczących każdej populacji uwzględniano linie rodzicielskie użyte do ich wytworzenia. Dendrogramy ilustrujące relacje podobieństwa w obrębie populacji syntetycznych potwierdzały odrębność genetyczną linii rodzicielskich,

Analizy DArTseq w wariancie SNP dostarczają informacji o obecności heterozygot w badanym materiale. Ogółem z dwóch lat badań (2019 i 2020) otrzymano dane o 61830 markerach SNP. Dla każdego genotypu analizowanego metodami masowymi takimi jak DArTseq, część oznaczeń nie daje jednoznacznego wyniku. W przypadku linii rodzicielskich liczebności takich brakujących wyników były dość zróżnicowane – od niespełna 8 tysięcy do ponad 23 tysięcy. Dane informatywne o markerach otrzymanych w 2019 i 2020 roku użyto do oszacowania częstotliwości występowania heterozygot w liniach. Uzyskane dane wskazują, że trzy linie użyte do tworzenia syntetyków nie były w pełni homozygotyczne (a co za tym, również nie w pełni homogeniczne). Jedynie jedna linia miała 1-2% heterozygot w obu latach badań. Heterozygotyczność linii rodzicielskich tłumaczy w dużym stopniu obserwowaną dość dużą zmienność genetyczną między osobnikami wewnątrz populacji syntetycznych. Szczególnie w syntetykach dwuliniowych można było oczekiwać znacznie większej liczby roślin podobnych do siebie, gdyby komponenty rodzicielskie były bardziej homogeniczne. W populacjach syntetycznych oszacowano poziom heterozygotyczności uwzględniając zarówno rośliny badane w bieżącym roku, jak i te poddane analizom w roku 2019. W sumie każda z badanych populacji syntetycznych liczyła ponad 90 roślin. Średni poziom heterozygotyczności wszystkich populacji był dość podobny. Najniższa wartość średnia dotyczyła populacji SYN3.

Temat badawczy 3

Wytworzenie i ocena zestawu linii introgresyjnych

U badanych linii zauważalne jest pogłębianie się depresji wsobnej. Żywotność nasion i kiełkujących z nich roślin była u niektórych genotypów bardzo słaba. Szczególnie wśród linii introgresyjnych serii InB (dla których głównym donorem genów była linia 541N) widoczne są efekty depresji wsobnej. Spora część tych linii była reprezentowana przez mniej niż 5 roślin, gdyż albo nie skiełkowały nasiona, albo rośliny wymarły w okresie jesienno-zimowym. Kondycja linii z serii InA (opartych na genotypie WM18R) była na ogół dużo lepsza. W efekcie, wśród linii, które udało się zreprodukować na 121 linii z serii InA przypadało tylko 59 linii InB (w przybliżeniu proporcja 2:1).

Średnia wysokość badanych linii była mocno zróżnicowana i wynosiła od 64 do 132 cm (tab.12). Linie z serii InA charakteryzowały się nieznacznie mniejszym zakresem zmienności (średnio od 75 do 128 cm). Mniej liczna grupa linii z serii InB zawierała zarówno genotypy o najmniejszych, jak i największych wartościch badanej cechy. Zbiorcza analiza danych z obu serii nie wykazywała jednak istotnych różnic między nimi.

Wysoki poziom wyrównania (współczynnik zmienności < 5%) odnotowano dla 30 linii introgresyjnych. Liczniejsza była grupa linii o wysokim poziomie wewnętrznej zmienności (powyżej 10%) – było takich obiektów aż 49. Trzy linie były reprezentowane przez pojedyncze rośliny (efekt depresji wsobnej), więc ich poziom wyrównania nie mógł być oceniony. Ponad połowa badanych linii (98 genotypów) charakteryzowało się umiarkowanym poziomem wyrównania (współczynniki zmienności od 5 do 10%). Największy poziom zmienności wewnątrz linii odnotowano dla genotypu InB062 – współczynnik zmienności przekroczył wartość 27%

Analizy PCR wykonano przy użyciu 20 markerów. Większość z nich miało charakter monomorficzny. Linie rodzicielskie były różnicowane przez pięć markerów. Użycie ich do analizy populacji liczącej w 2020 roku kolejne 90 linii introgresyjnych (76 linii InA i 14 linii InB) pozwoliło na potwierdzenie znacznego podobieństwa linii z serii InA do formy rodzicielskiej WM18R, a linii z serii InB do genotypu 541N. W każdej z serii linii introgresyjnych widoczne były pojedyncze genotypy zawierające dodane fragmenty genomu (introgresje) pochodzące od drugiego komponentu rodzicielskiego. Analizy DArTseq wykonano na tym samym zestawie 90 niebadanych wcześniej linii introgresyjnych (76 z serii InA i 14 z serii InB). Uzyskano dane o ponad 90 tysiącach markerów, które posłużyły do oceny zróżnicowania genetycznego między badanymi obiektami. Zgodnie z oczekiwaniami wszystkie linie serii InA wykazywały duże podobieństwo do siebie i do linii WM18R. Mniej liczna seria linii InB zawierała również genotypy podobne do siebie i jednocześnie zbliżone do linii 541N