

Identyfikacja mechanizmu molekularnego odporności żyta ozimego na rdzę brunatną.

Numer zadania 11 *(w załączniku nr 8 do rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 29 lipca 2015 r. w sprawie stawek dotacji przedmiotowych dla różnych podmiotów wykonujących zadania na rzecz rolnictwa; Dz. U. poz. 1170, z późn. zm.)*

Okres realizacji: 2022 r., 12 miesięcy

Zespół badawczy:

dr hab. Kamila Nowosad prof. uczelni

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

prof. dr hab. Henryk Bujak

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

dr Kamil Kostyn

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

mgr Jakub Matkowski

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Cele projektów w ramach poszczególnych zadań

Lp.	Zadanie	Status
1	Ocena podatności genotypów żyta ozimego na porażenie przez rdzę brunatną w warunkach sztucznej inokulacji.	ZREALIZOWANO
2	Wytworzenie populacji mapującej żyta ozimego.	ZREALIZOWANO
3	Identyfikacja markerów użytecznych w genotypowaniu populacji mapującej.	ZREALIZOWANO

Temat badawczy nr 1:

Ocena podatności genotypów żyta ozimego na porażenie przez rdzę brunatną w warunkach sztucznej inokulacji.

Cel	Materiał i metody	Wyniki
<p>Wytypowanie genotypów żyta o największej tolerancji lub całkowitej odporności na porażenie rdzą brunatną (<i>Puccinia recondita</i>).</p>	<p>Materiał badawczy stanowiły przekazane przez hodowców materiały wyjściowe do hodowli nowych odmian żyta ozimego, linie wsobne z kolekcji oraz zarejestrowane odmiany, łącznie 170 genotypów żyta ozimego. Ocenę podatności genotypów żyta na porażenie przez rdzę brunatną (<i>Puccinia recondita</i>) wykonano metodą laboratoryjną. Oceny porażenia wykonano po dziesięciu dniach od inokulacji, w skali czterostopniowej, gdzie 1 – brak porażenia, a 4 - silne objawy porażenia rdzą brunatną na liściu.</p>	<p>Analizy wyników oceny porażenia genotypów żyta przez rdzę brunatną (<i>Puccinia recondita</i>) w wyniku sztucznej inokulacji wykazały, że istnieją genotypy wysoce tolerancyjne na tego patogena, które można polecić do programów hodowli odpornościowej. 36 genotypów spośród przebadanych można uznać za odporne na porażenie przez tego patogena: SO 204 R/20, UPWR121, UPWR150, HRSM 623-4R, HRSM 624-4R, HRSM 652 - 3R, SO 229 R/20, S 53 IV, SO 231 R/20, SO 280 R/20, SO 285 R/20, LS 545 N2, LS 549 N22, HRSM 773 – R, S72 IV, S 89 IV, S 93 IV, S 97 IV</p>

Temat badawczy 2: Wytworzenie populacji mapującej żyta ozimego.

Cel	Materiał i metody	Wyniki
Uzyskanie mieszańców F_2 żyta jako populacji mapującej.	<p>Układ badań obejmował rozmnożenie na drodze samozapylenia osobników pokolenia F_1 otrzymanego na drodze krzyżowań linii podatnych krzyżowanych w układach w obie strony z linią odporna RB1.</p> <p>Efekty samozapylenia były zadowalające pod względem otrzymanej liczby ziarniaków mieszańcowych F_2</p>	<p>Zastosowanie różnych kombinacji linii wsobnych stanowiło dobre rozwiązanie u roślin żyta ozimego. Wybrane kombinacje linii wsobnych żyta ozimego pozwoliły na wytworzenie populacji F_2. Ziarniaki mieszańców zostały wysiane w celu uzyskania populacji mapującej do dalszych analiz. Nasiona wysiewano punktowo w rozstawie 20 x 5 na poletkach czterorzędowych. Wysiane populacje zostaną poddane ocenie po przezimowaniu. Wybrana zostanie jedna populacja F_2</p>

Temat badawczy 3: Identyfikacja markerów użytecznych w genotypowaniu populacji mapującej.

Cel	Materiał i metody	Wyniki
Identyfikacja markerów użytecznych w genotypowaniu populacji mapującej.	Materiał do analiz WGS stanowiło całkowite DNA wyizolowane z młodych liści genotypów żyta. Sekwencjonowanie genomu wykonano w technologii Illumina 150 PE. Analiza bioinformatyczna wykonana została w oparciu o standardowy protokół analityczny z wykorzystaniem narzędzi: bowtie2, samtools, Picard oraz haplotypecaller	W wyniku analiz bioinformatycznych uzyskano pliki VCF zawierające informacje o lokalizacji wykrytych polimorfizmów SNP. Po filtracji wyników (niska wiarygodność, brak polimorfizmu między PI oraz PII) uzyskano łącznie (wyniki DNA oraz RNA), ponad 802 tyś. unikalnych polimorfizmów SNP (745 760 dane WGS oraz 56 989 dane RNAseq). Markery te są równomiernie rozmieszczone w genomie referencyjnym i nadają się do genotypowania populacji mapującej oraz konstrukcji mapy genetycznej w kolejnych etapach projektu

Wyniki sekwencjonowania WGS form rodzicielskich populacji mapującej

PI

- 70,537,620 odczytów
- 10,651,180,620 odczytanych zasad
- Q30 – 90%
- Q20 – 95%

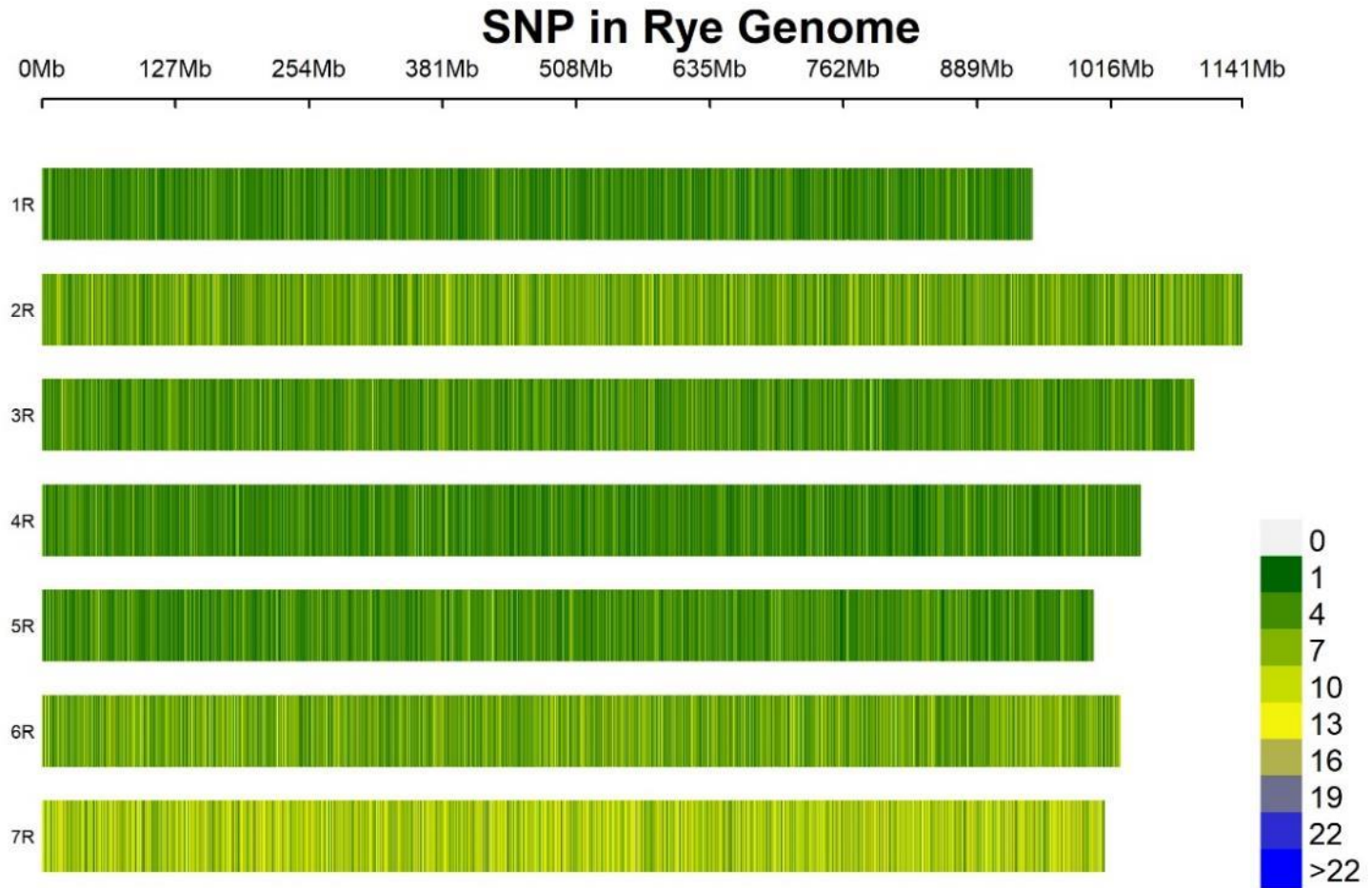
PII

- 70,537,620 odczytów
- 10,618,230,306 odczytanych zasad
- Q30 – 90%
- Q20 – 95%

Zestawienie zidentyfikowanych markerów SNP w poszczególnych chromosomach żyta.

Chromosom	Długość chromosomu [pz]	Liczba markerów WGS	Liczba markerów RNAseq
1R	940967580	66918	7051
2R	1140537383	132183	11013
3R	1094844215	91689	8944
4R	1043784930	74507	3414
5R	998909251	77350	8190
6R	1024471612	121741	6454
7R	1009674611	181372	11922

Rozmieszczenie zidentyfikowanych markerów SNP w genomie żyta



Podsumowanie

- Analizy wyników oceny porażenia genotypów żyta przez rdzę brunatną (*Puccinia recondita*) w wyniku sztucznej inokulacji wykazały, że istnieją genotypy odporne lub wysoce tolerancyjne na tego patogena, które można polecić do programów hodowli odpornościowej.
- Udało się znaleźć stosunkowo nieliczną grupę genotypów bez śladów zarodników rdzy brunatnej na liściach (17 genotypów), które można uznać za odporne na porażenie przez tego patogena.
- Genotypy odporne mogą zostać wykorzystane do założenia przez hodowców szkółek rozmnożeniowych i selekcyjnych w celu uzyskania z nich nowych cennych linii o kompleksowej odporności.
- Wybrane kombinacje linii wsobnych po samozapyleniu pozwoliły na wytworzenie populacji F2.
- Wysiane populacje zostaną poddane ocenie po przezimowaniu. Wybrana zostanie jedna najliczniejsza populacja F2, która stanowić będzie populację mapującą F2.
- Przeprowadzone sekwencjonowanie genomowego DNA form rodzicielskich populacji mapującej, pozwoliło na identyfikację 802 tys wiarygodnych markerów SNP, równomiernie rozmieszczonych w genomie referencyjnym żyta