

Tytuł zadania:

Analiza genetycznych uwarunkowań związanych z efektem heterozji oraz odpornością na fuzarium u kukurydzy (*Zea mays* L.).

Numer zadania:

16 (w załączniku nr 8 do rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 29 lipca 2015 w sprawie stawek dotacji przedmiotowych dla różnych podmiotów wykonujących zadania na rzecz rolnictwa Dz. U. z 2015 r. poz. 1170 oraz Dz. U. z 2016 r. poz. 1614)

Okres realizacji zadania:

01 stycznia 2023 r. – 31 grudnia 2023 r.

Planowane nakłady w zł:

492 000,00

Zespół Badawczy:

Kierownik:

Prof. UPP dr hab. Agnieszka Tomkowiak

Wykonawcy:

Prof. UPP dr hab. Michał Kwiatek

Prof. UPP dr hab. Jan Bocianowski

Prof. UPP dr hab. Łukasz Wolko

Prof. UPP dr hab. Janetta Niemann

Prof. UPP dr hab. Tomasz Kosiada

Prof. UPP dr hab. Danuta Kurasiak - Popowska

dr hab. Dorota Weigt

dr inż. Sylwia Mikołajczyk

dr Sandra Rychel – Bielska

mgr Aleksandra Sobiech



Kontakt:

Prof. UPP dr hab. Agnieszka Tomkowiak

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Katedra Genetyki i Hodowli Roślin

ul. Dojazd 11, 60-632 Poznań

Tel. 61 848 76 80

e-mail: agnieszka.tomkowiak@up.poznan.pl

Osoba do kontaktu w razie nieobecności kierownika:

Prof. UPP dr hab. Kurasiak - Popowska

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Katedra Genetyki i Hodowli Roślin

ul. Dojazd 11, 60-632 Poznań

Tel. 61 848 76 70

e-mail: danuta.kurasiak-popowska@up.poznan.p



Prace zostały wykonane w ramach badań podstawowych na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej na podstawie decyzji Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi nr HOR.hn.803.5.202



Cele zadania w 2022 roku

Hipoteza badawcza: Identyfikacja nowych markerów molekularnych (związanych z cechami struktury plonu i odpornością roślin na fuzarium) w oparciu o wyniki mapowania asocjacyjnego i fizycznego może wpłynąć na skrócenie cyklu hodowlanego i obniżenie kosztów hodowli



Temat badawczy	Cel badań	Termin rozpoczęcia – zakończenia realizacji tematu badawczego w miesiącach od rozpoczęcia realizacji zadania	Koszty realizacji tematu badawczego	Czy cel został zrealizowany (tak/nie/częściowo ¹)
1.	Celem tematu badawczego 1 jest identyfikacja nowych markerów sprzężonych z genami warunkującymi plon ziarna dzięki wykorzystaniu sekwencjonowania nowej generacji, mapowania asocjacyjnego i fizycznego oraz optymalizacja procedur diagnostycznych, służących do identyfikacji 20 markerów molekularnych wytypowanych w 2022 roku, sprzężonych z cechami struktury plonu.	1 - 12	340 000, 00	Całkowicie
2.	Celem tematu badawczego 2 jest identyfikacja nowych markerów sprzężonych z genami warunkującymi odpornością roślin kukurydzy na fuzarium dzięki wykorzystaniu sekwencjonowania nowej generacji, mapowania asocjacyjnego i fizycznego oraz optymalizacja procedur diagnostycznych, służących do identyfikacji 10 markerów molekularnych wytypowanych w 2022	1 - 12	152 000,00	Całkowicie



Temat badawczy 1



Temat badawczy 2

Materiał i Metody Materiał roślinny

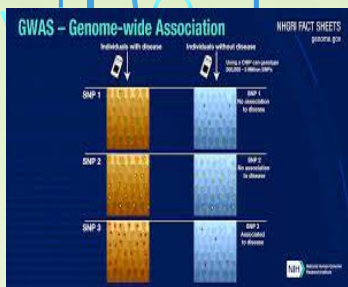
Materiał i Metody Materiał roślinny

Materiał roślinny w temacie badawczym 1 stanowiło 500 mieszańców pokolenia F1 oraz 20 genotypów referencyjnych pochodzących z Hodowli Roślin Smolice Sp. z o. o. Grupa IHAR oraz Małopolskiej Hodowli Roślin Sp. z o.o. Mieszańce (500) zostały wysiane w trzech powtórzeniach, w dwóch miejscowościach i były poddawane obserwacjom w warunkach polowych. Genotypy referencyjne (20) zostały wysiane w szklarni należącej do Katedry Genetyki i Hodowli Roślin. W 2023 roku do sekwencjonowania nowej generacji zostało przesłanych 188 kolejnych mieszańców F1 wybranych losowo z pozostałych 378 (pierwsze 122 mieszańce sekwencjonowane były w roku 2022). Pozostałe 190 mieszańców sekwencjonowaniu i mapowaniu asocjacyjnemu poddane zostanie w kolejnych latach badań. Jest to podyktowane wymogami dotyczącymi równomiernego rozłożenia środków finansowych w poszczególnych latach badań.

W obu zadaniach badawczych (1 i 2) będzie analizowany ten sam materiał roślinny pod kątem różnych cech, w różnych terminach. W temacie pierwszym analizowane będą cechy struktury plonu oraz plon, natomiast w temacie 2 odporność roślin kukurydzy na fuzarium.

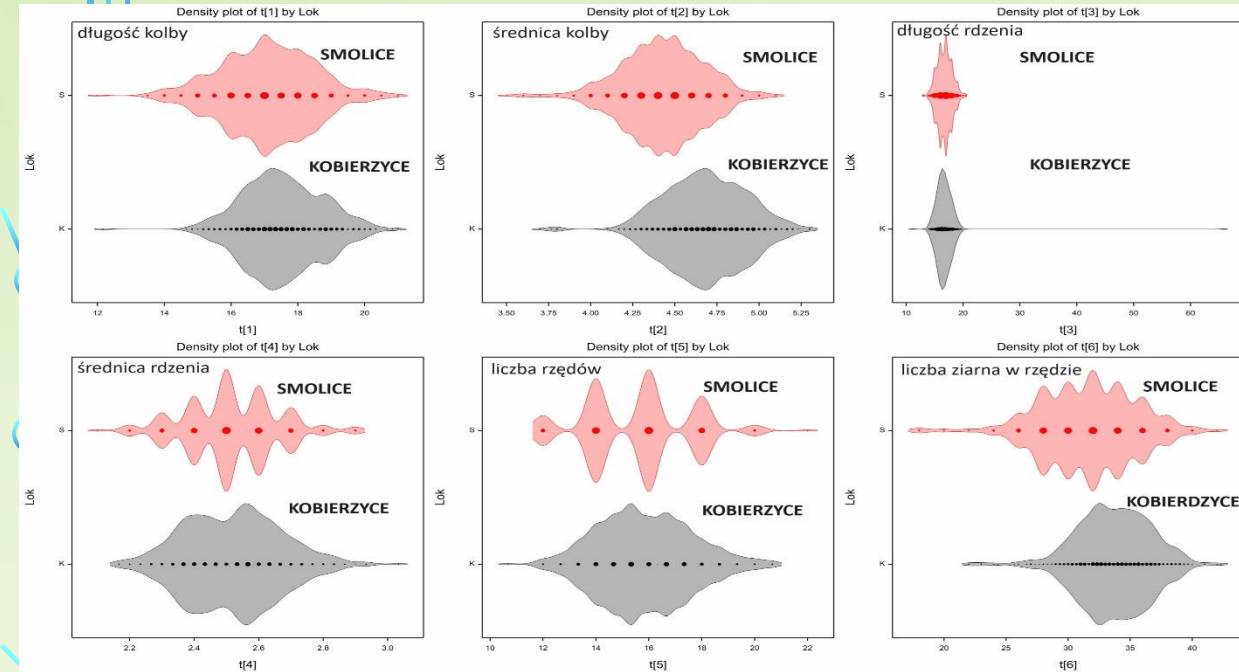
Metody wspólne dla obu tematów badawczych

1. **Doświadczenie polowe** – założone w dwóch miejscowościach (Smolice, Kobierzyce) na poletkach 10m²
2. **Izolacja DNA** – wykonana przy użyciu aparatu Maxwell i kitu z firmy Promega
3. **Genotypowanie** – z wykorzystaniem techniki DArTseq. Usługa wykonana w Diversity Arrays Technology
4. **Mapowanie asocjacyjne** – z wykorzystaniem analizy GWAS
5. **Mapowanie fizyczne** – z wykorzystaniem narzędzia bioinformatycznego Basic Local Alignment Search Tool
6. **Analiza funkcjonalna sekwencji genów** – z wykorzystaniem narzędzia Blast2Go
7. **Projektowanie starterów** – z wykorzystaniem programu Primer 3 Plus
8. **Łącuchowa reakcja polimerazy** – identyfikacja genów odporności na fuzarium oraz genów związanych z wielkością plonu u 15 odpornych i wrażliwych oraz 15 dobrze i słabo plonujących genotypów kukurydzy została przeprowadzona z wykorzystaniem zaprojektowanych, specyficznych starterów
9. **Elektroforeza** – prowadzona była w 2% żelu agarozowym, w buforze 1x TBE, pod napięciem 120 V przez – 1,5h

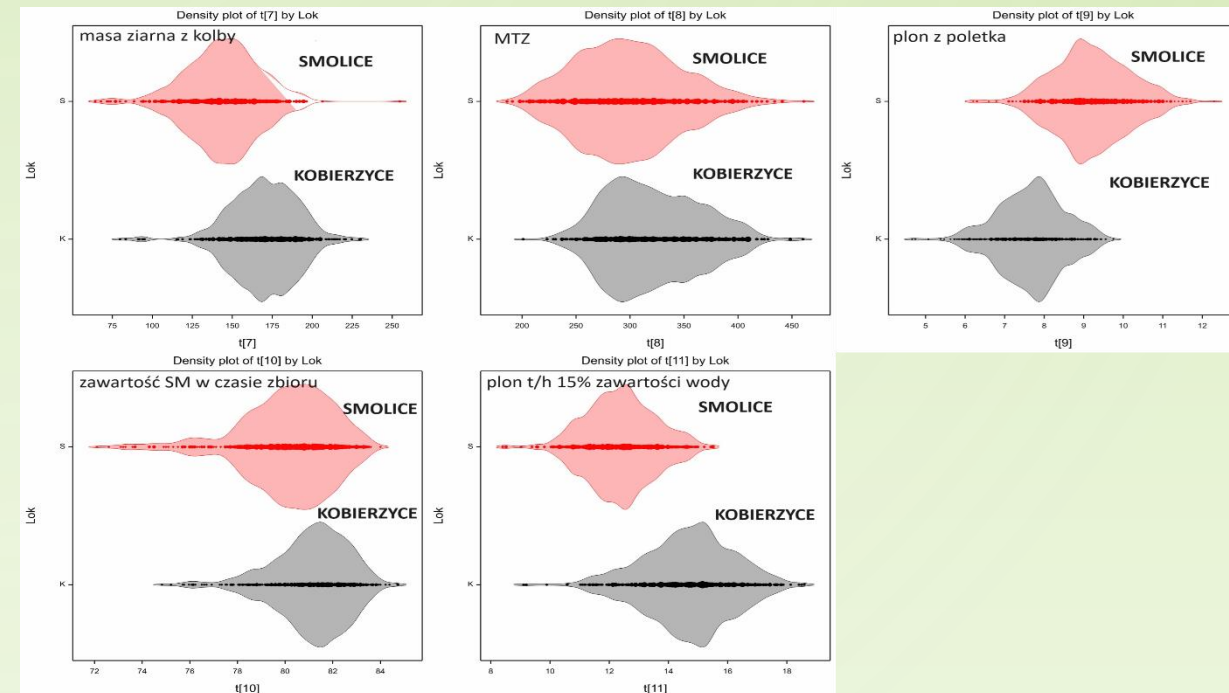


Wyniki i Wnioski – temat badawczy 1 Zadanie nr 16. Analiza genetycznych uwarunkowań związanych z efektem heterozji oraz odpornością na fuzarium u kukurydzy (*Zea mays* L.).

Doświadczenie polowe założone było w dwóch miejscowościach: Smolice 51° 42' 58.904" N 17° 13' 29.13" E oraz Kobierzyce 50° 58' 19.411" N 16° 55' 47.323" E, umożliwiło ono wykonanie i analizę pomiarów biometrycznych 500 mieszańców F₁. Pomiarów te zostały wykorzystane do mapowania asocjacyjnego. Po zbiorach prowadzone były obserwacje następujących cech struktury plonu: długość kolby, średnica kolby, długość rdzenia, średnica rdzenia, liczba rzędów, liczba ziarna w rzędzie, masa ziarna z kolby, MTZ, plon z poletka, zawartość SM w czasie zbioru, plon t/h przy 15% zawartości wody. W celu zbadania rozkładu wszystkich analizowanych zmiennych w obu miejscowościach wykonano wykresy gęstości (Rys.1, Rys. 2). Figury na zamieszczonych wykresach gęstości obrazują, w jakich przedziałach skoncentrowane są wartości analizowanych cech np. długość kolby u większości analizowanych genotypów, w obu miejscowościach (Smolice, Kobierzyce) znajduje się w przedziale 16cm – 18cm, średnica kolby u większości analizowanych genotypów dla Smolic znajduje się w przedziale 4,25cm – 4,50cm a dla Kobierzyc 4,5cm – 4,75cm. (Rys. 1). Jak widać na załączonych wykresach rozkład analizowanych zmiennych różnił się pomiędzy miejscowościami dla: średnicy rdzenia, liczby rzędów, liczby ziarna w rzędzie, masy ziarna z kolby, plonu z poletka oraz plonu t/h przy 15% zawartości wody (Rys. 1 i Rys.2).



Rys. 1. Wykresy gęstości obrazujące rozkład analizowanych zmiennych dla cech: długość kolby, średnica kolby, długość rdzenia, średnica rdzenia, liczba rzędów i liczba ziarna w rzędzie.



Rys. 2. Wykresy gęstości obrazujące rozkład analizowanych zmiennych dla cech: masa ziarna z kolby, MTZ, plon z poletka, zawartość SM w czasie zbioru i plon t/h przy 15% zawartości wody.

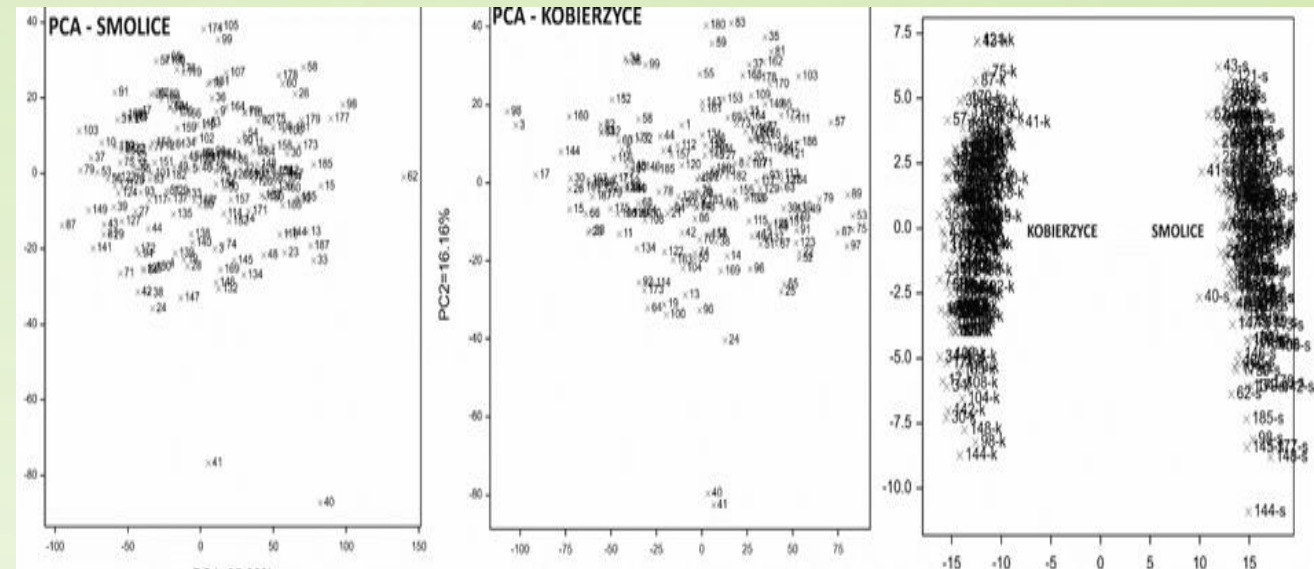
Wyniki i Wnioski – temat badawczy 1 Zadanie nr 16. Analiza genetycznych uwarunkowań związanych z efektem heterozji oraz odpornością na fuzarium u kukurydzy (*Zea mays* L.).

Przeprowadzono analizę wariancji pod kątem obserwowanych cech pomiędzy genotypami. Dla wszystkich cech zaobserwowano istotne zróżnicowanie pomiędzy genotypami. Analiza wariancji wykazała również istotne statystycznie zróżnicowanie dla wszystkich obserwowanych cech pomiędzy miejscowościami, w których było założone doświadczenie polowe (Tab. 4).

Tabela 4. Analiza wariancji dla analizowanych cech struktury plonu

Źródło zmienności	Genotyp	Lokalizacja	GenotypxLokalizacja	Pozostałe
d.f.	187	1	187	752
długość kolby [cm]	5.4058 ***	58.4023 ***	2.1837 ***	0,621
średnica kolby [cm]	0.2193 ***	18.20469 ***	0.04986 ***	0,02294
długość rdzenia [cm]	7.823 ***	0,309	2,879	2,804
średnica rdzenia [cm]	0.079895 ***	0,007456	0.016372 ***	0,00808
liczba rzędów	14.398 ***	19.331 ***	1,6	1,336
liczba ziaren w rzędzie	41.364 ***	1246.982 ***	11.366 ***	4,896
masa ziarna z kolby [g]	1371.7 ***	180892.6 ***	658.3 ***	250,8
MTZ [g]	9191.3 ***	149820.4 ***	1333 ***	608,4
plon z poletka [kg]	2.8523 ***	670.0084 ***	0.6886 ***	0,3397
zawartość SM w czasie zbioru [%]	15.8267 ***	284.7869 ***	2.0063 ***	0,4414
plon t/ha 15% zawartość wody	5.8006 ***	1483.3051 ***	1.8015 ***	0,8988

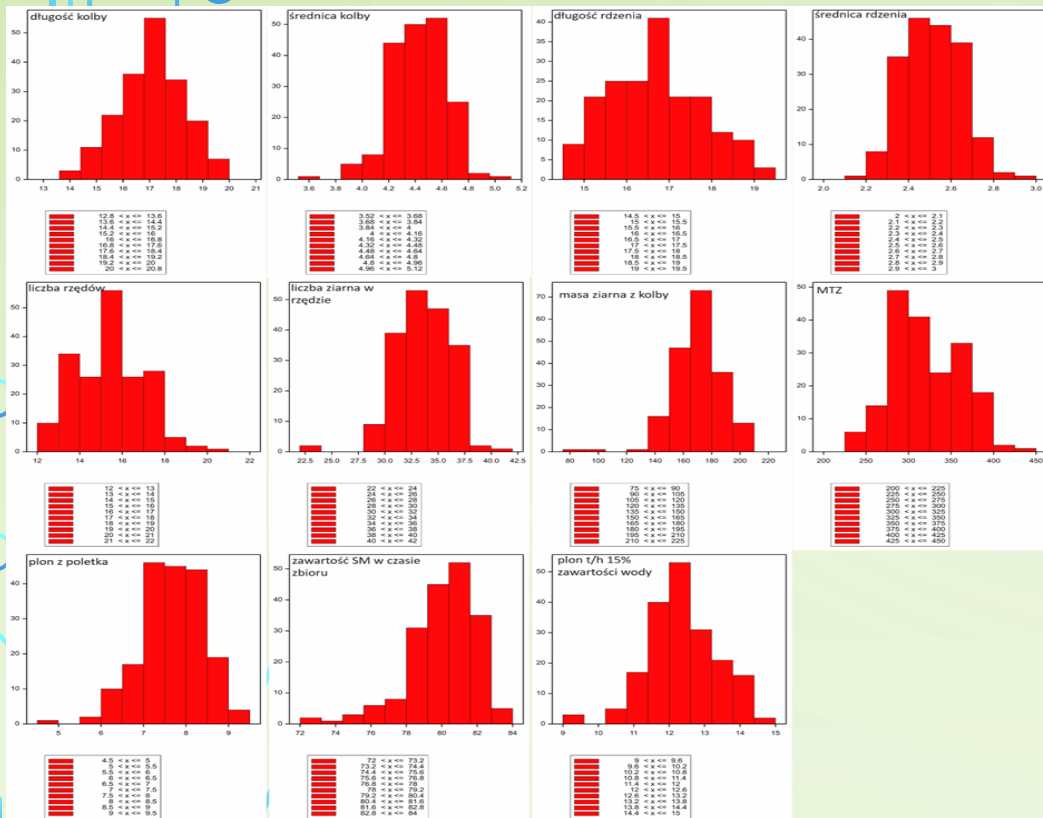
Aby określić relacje pomiędzy grupami zmiennych w zbiorze danych czyli obserwacji wielkości cech struktury plonu oraz plonu z poletka w obu miejscowościach zastosowano technikę wielowymiarową czyli analizę zmiennych kanonicznych. Wszystkie obserwowane cechy charakteryzowały się rozkładem normalnym. Można zauważyć pogrupowanie genotypów w zależności od pochodzenia. Genotypy pochodzące z Hodowli Roślin Smolice grupują się razem podobnie jak genotypy pochodzące z Małopolskiej Hodowli Roślin (Rys. 3).



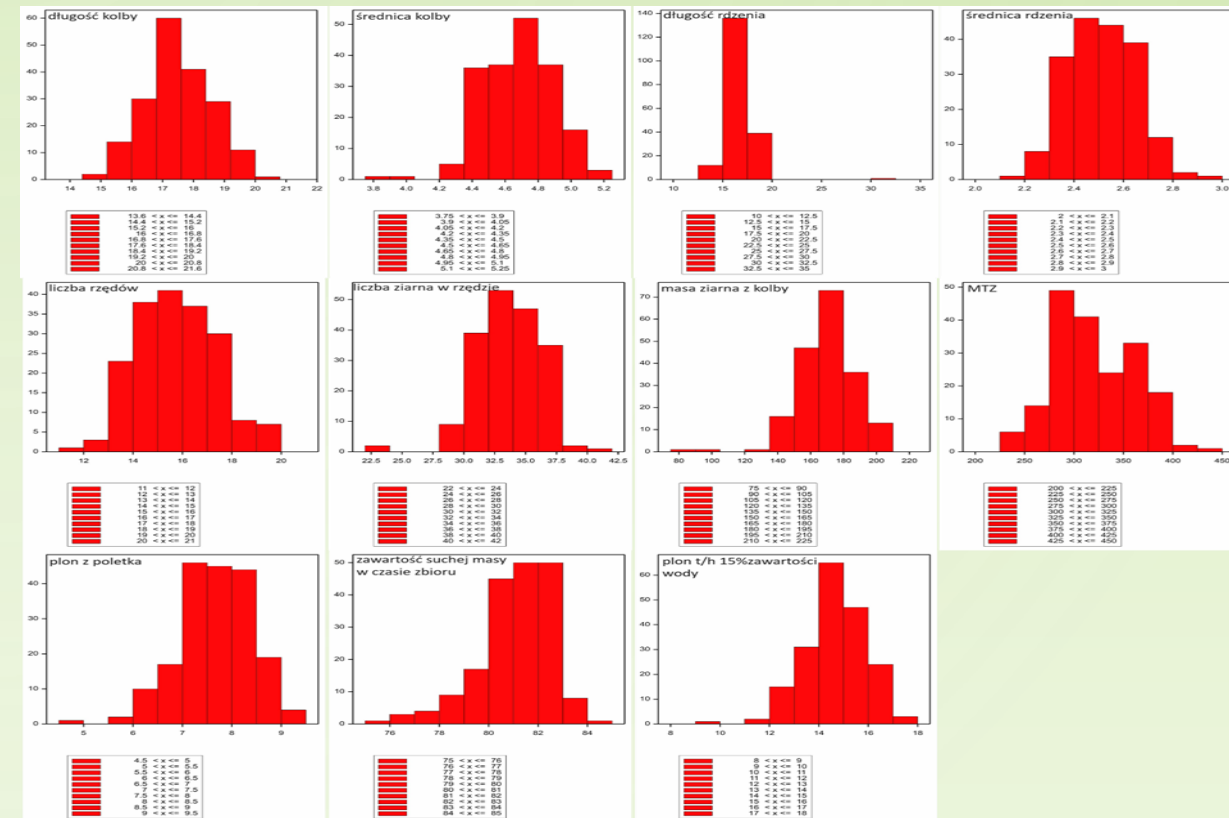
Rys. 3. Analiza zmiennych kanonicznych dla badanych cech.

Wyniki i Wnioski – temat badawczy 1 Zadanie nr 16. Analiza genetycznych uwarunkowań związanych z efektem heterozji oraz odpornością na fuzarium u kukurydzy (*Zea mays* L.).

Wykorzystując dane z doświadczenia polowego prowadzonego niezależnie w obu miejscowościach (Smolice i Kobierzyce) sprawdzono jaki jest rozkład analizowanych cech w obrębie badanej populacji. Analizy statystyczne wykazały, że dla wszystkich analizowanych cech w obu miejscowościach rozkład cech przyjmuje symetryczny kształt dzwonu, średnia i mediana były sobie równe (obie miary zlokalizowane były w środku rozkładu), 68% danych znajdowało się w przedziale do 1 odchylenia standardowego od średniej, 95% danych znajdowało się w przedziale do 2 odchylenia standardowych od średniej, 99% danych znajdowało się w przedziale do 3 odchylenia standardowych od średniej. Wobec powyższego można wywnioskować, że cechy charakteryzują się rozkładem normalnym a analizowanej populacji (Rys. 4 i Rys. 5).



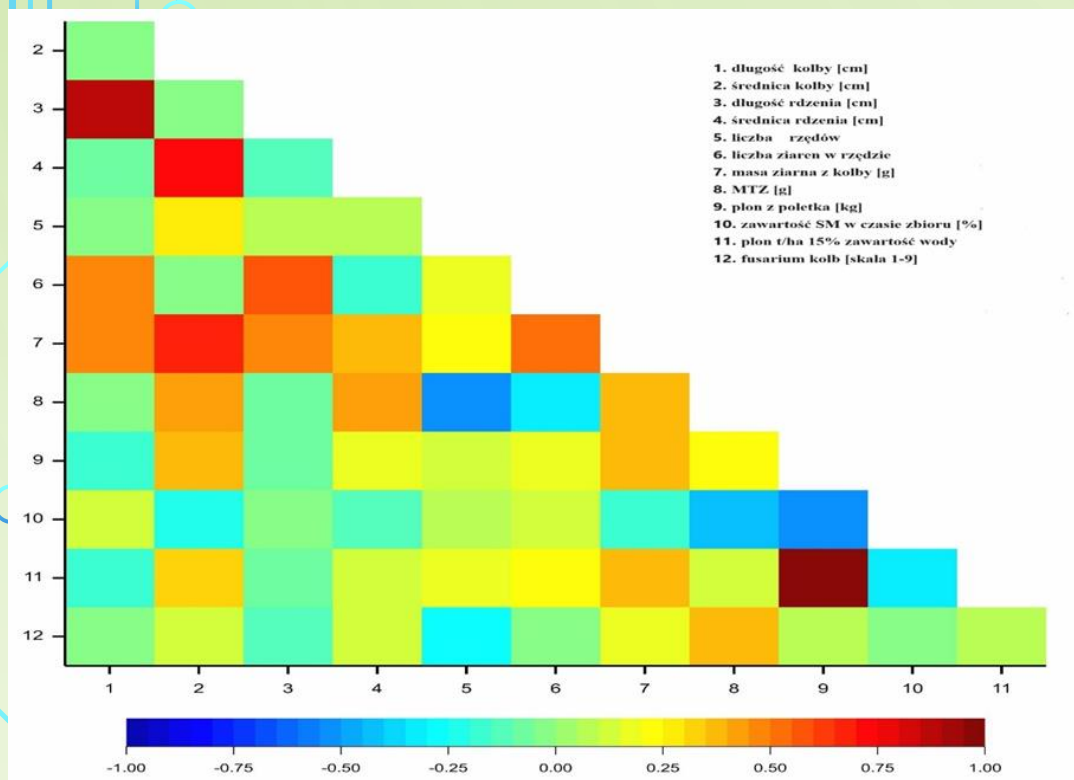
Rys. 4. Rozkład poszczególnych cech analizowanych w miejscowości Smolice.



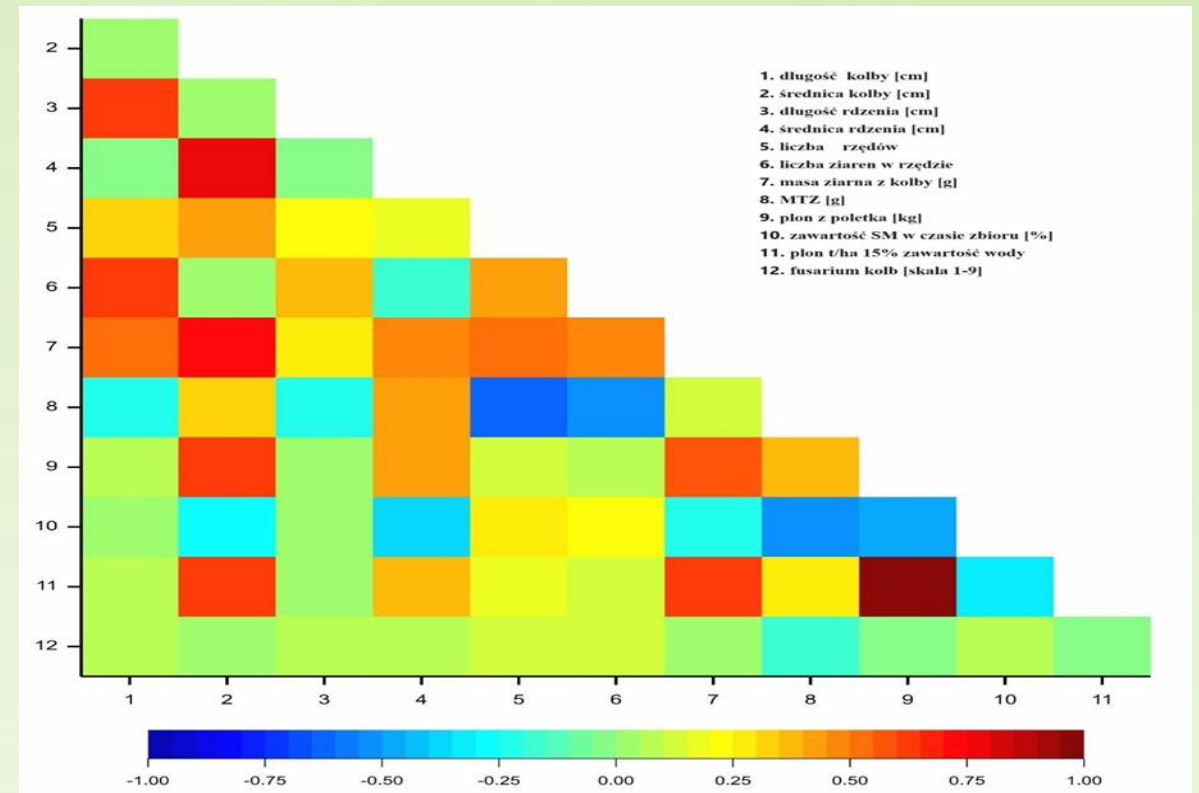
Rys. 5. Rozkład poszczególnych cech analizowanych w miejscowości Kobierzyce.

Wyniki i Wnioski – temat badawczy 1 Zadanie nr 16. Analiza genetycznych uwarunkowań związanych z efektem heterozji oraz odpornością na fuzarium u kukurydzy (*Zea mays* L.).

W przypadku obu miejscowości (Smolice, Kobierzycy) analizowano korelacje pomiędzy obserwowanymi cechami. Wykazano, że w Smolicach najsilniej dodatnio skorelowane były ze sobą: plon z poletka i plon z hektara (96%), długość kolby i długość rdzenia (86%), średnica kolby i średnica rdzenia (74%), średnica kolby i masa ziarna z kolby masa ziarna z kolby (Rys. 6 i Tab. 5). W przypadku Kobierzycy silnie dodatnio skorelowane były: plon z poletka i plon z hektara (98%), średnia kolby i średnica rdzenia (76%), średnica kolby i masa ziarna z kolby (74%) oraz długość kolby i długość rdzenia (62%) (Rys. 7 i Tab. 6).



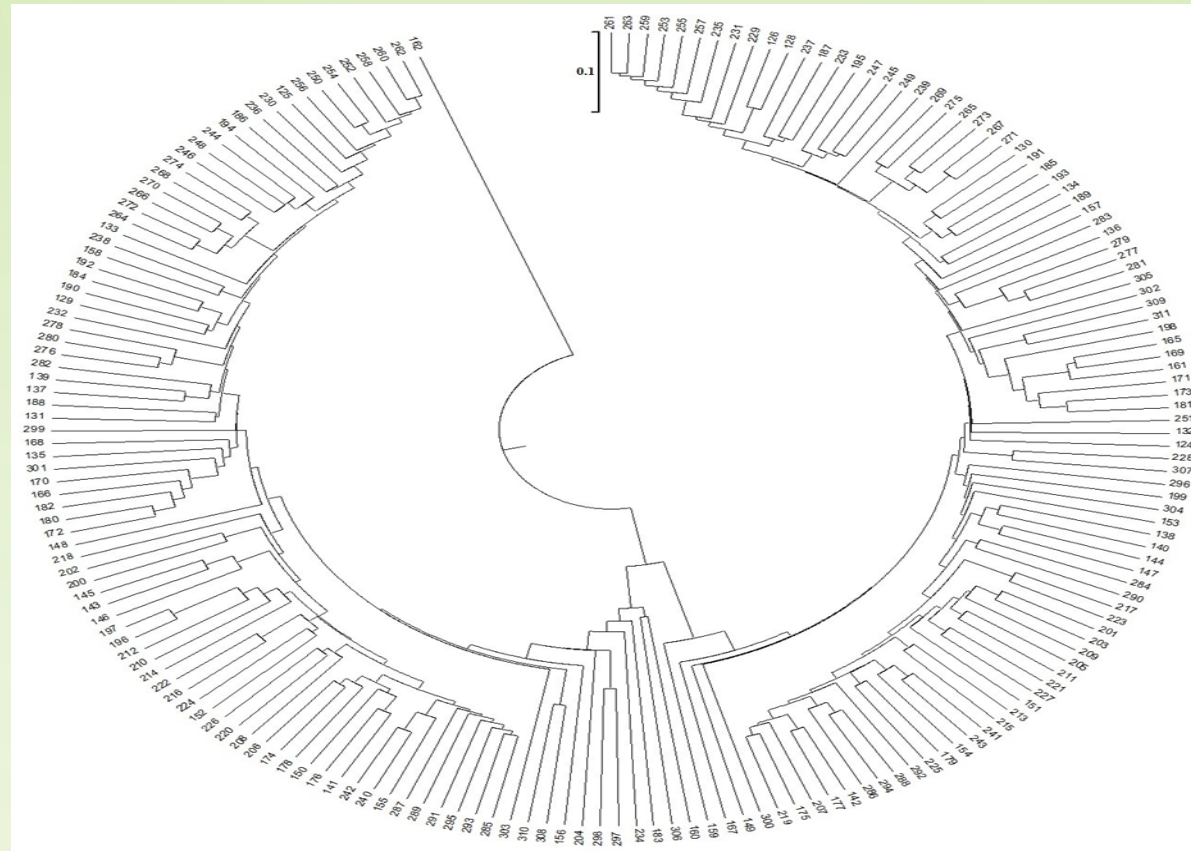
Rys. 6. Mapa ciepła przedstawiająca korelacje pomiędzy analizowanymi cechami struktury plonu w Smolicach



Rys.7. Mapa ciepła przedstawiająca korelacje pomiędzy analizowanymi cechami struktury plonu w Kobierzycach.

Wyniki i Wnioski – temat badawczy 1 Zadanie nr 16. Analiza genetycznych uwarunkowań związanych z efektem heterozji oraz odpornością na fuzarium u kukurydzy (*Zea mays* L.).

W oparciu o zidentyfikowane markery molekularne SNP i SilicoDArT wykonano dendrogram podobieństwa genetycznego pomiędzy 188 analizowanymi genotypami (Rys. 8). Na dendrogramie bardzo wyraźnie widać dwie wyodrębnione grupy podobieństwa. W skład pierwszej grupy wchodzi mieszańce pochodzące z MHR w Koberzycech, w skład drugiej grupy wchodzi mieszańce pochodzące z HR w Smolicach. Tak idealne pogrupowanie świadczy o użyteczności markerów SNP i Silico DArT do grupowania genotypów pod kątem podobieństwa genetycznego.



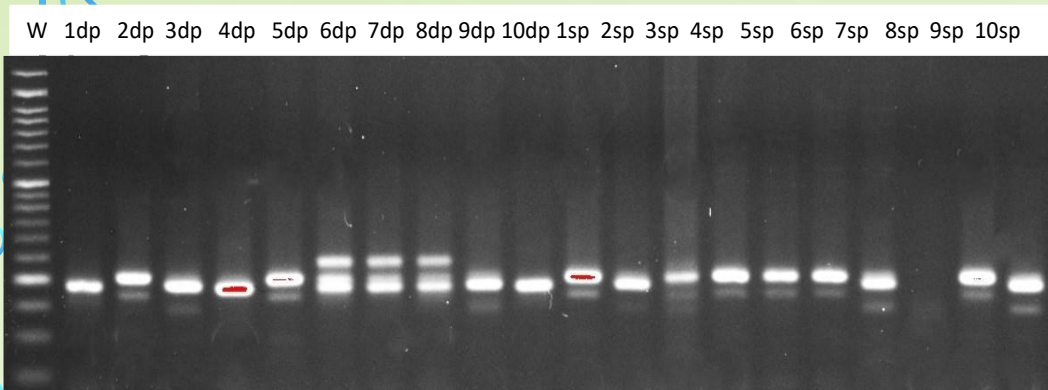
Rys 8. Dendrogram przedstawiający podobieństwo genetyczne pomiędzy analizowanymi genotypami

Wyniki i Wnioski – temat badawczy 1 Zadanie nr 16. Analiza genetycznych uwarunkowań związanych z efektem heterozji oraz odpornością na fuzarium u kukurydzy (*Zea mays* L.).

Przykładowe obrazy elektroforez

Marker SNP 31977 (produkt o wielkości 207pz)

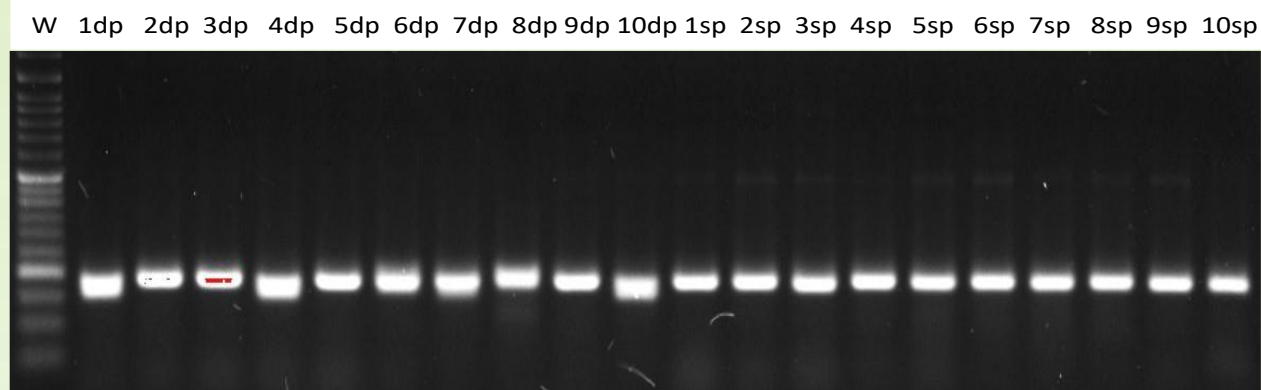
Analiza markera numer 31977 wykazała, że specyficzny produkt o wielkości 207pz pojawił się u 5 genotypów dobrze plonujących (2dp, 5dp, 6dp, 7dp, i 8dp) oraz 6 genotypów słabo plonujących (1sp, 3sp, 4sp, 5sp, 6sp, oraz 9sp). W przypadku pozostałych genotypów pojawiły się niespecyficzne produkty amplifikacji (Fot. 7).



Fot. 7. Elektroforogram przedstawiający produkty amplifikacji o wielkości 207pz charakterystyczne dla markera SNP 31977

12. Marker SNP 28639 (produkt o wielkości 189pz)

Analiza markera numer 28639 wykazała, że specyficzny produkt o wielkości 189pz pojawił się u trzech genotypów dobrze plonujących (1dp, 4dp oraz 10dp). W przypadku pozostałych genotypów pojawił się niespecyficzny produkt reakcji PCR (Fot. 12).



Fot. 12. Elektroforogram przedstawiający produkty amplifikacji o wielkości 189pz charakterystyczne dla markera SNP 28639.

Wyniki i Wnioski – temat badawczy 1 Zadanie nr 16. Analiza genetycznych uwarunkowań związanych z efektem heterozji oraz odpornością na fuzarium u kukurydzy (*Zea mays* L.).

Wnioski (opisać jak w publikacji)

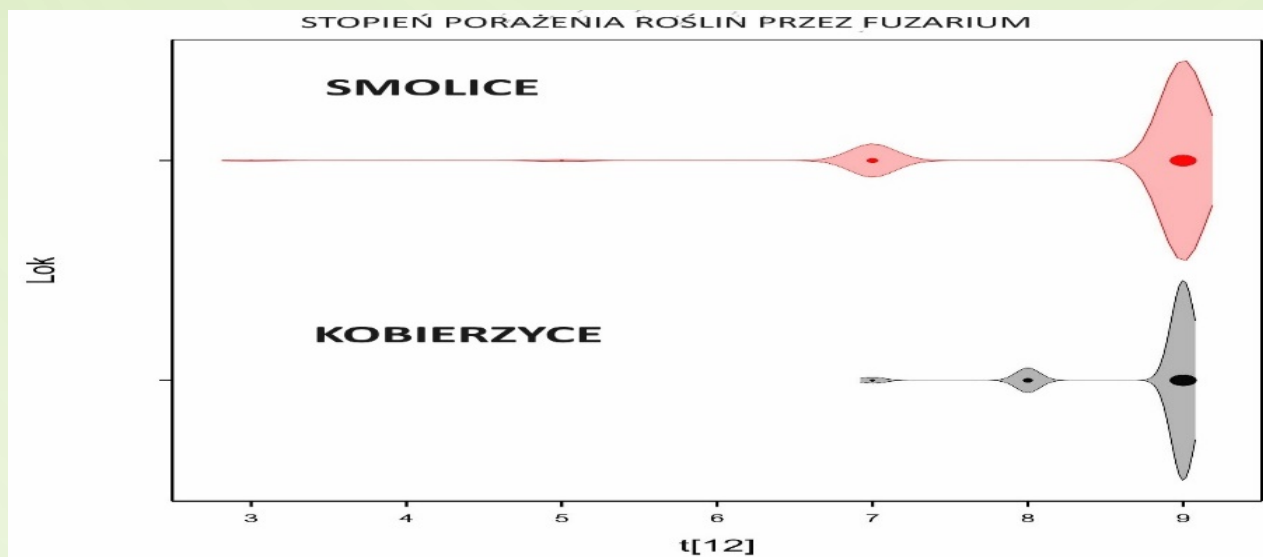
1. W celu zbadania rozkładu wszystkich analizowanych zmiennych w obu miejscowościach wykonano wykresy gęstości. Figury na zamieszczonych wykresach gęstości przedstawione w rozdziale „Wyniki” obrazują, w jakich przedziałach skoncentrowane są wartości analizowanych cech np. długość kolby u większości analizowanych genotypów, w obu miejscowościach (Smolice, Kobierzyce) znajduje się w przedziale 16cm – 18cm, średnica kolby u większości analizowanych genotypów dla Smolic znajduje się w przedziale 4,25cm – 4,50cm a dla Kobierzyc 4,5cm – 4,75cm. Rozkład analizowanych zmiennych różnił się pomiędzy miejscowościami dla: średnicy rdzenia, liczby rzędów, liczby ziarna w rzędzie, masy ziarna z kolby, plonu z poletka oraz plonu t/h przy 15% zawartości wody.
2. Analiza wariancji wykazała, że dla wszystkich cech zaobserwowano istotne zróżnicowanie pomiędzy genotypami. Analiza wariancji wykazała również istotne statystycznie zróżnicowanie dla wszystkich obserwowanych cech pomiędzy miejscowościami, w których było założone doświadczenie polowe.
3. Aby określić relacje pomiędzy grupami zmiennych w zbiorze danych czyli obserwacji wielkości cech struktury plonu oraz plonu z poletka w obu miejscowościach zastosowano technikę wielowymiarową czyli analizę zmiennych kanonicznych. Wszystkie obserwowane cechy charakteryzowały się rozkładem normalnym. Można zauważyć pogrupowanie genotypów w zależności od pochodzenia. Genotypy pochodzące z Hodowli Roślin Smolice grupują się razem podobnie jak genotypy pochodzące z Małopolskiej Hodowli Roślin.
4. Analizy statystyczne wykazały, że dla wszystkich analizowanych cech w obu miejscowościach rozkład cech przyjmuje symetryczny kształt dzwonu, średnia i mediana były sobie równe (obie miary zlokalizowane były w środku rozkładu), 68% danych znajdowało się w przedziale do 1 odchylenia standardowego od średniej, 95% danych znajdowało się w przedziale do 2 odchylenia standardowych od średniej, 99% danych znajdowało się w przedziale do 3 odchylenia standardowych od średniej. Wobec powyższego można wywnioskować, że cechy charakteryzują się rozkładem normalnym a analizowanej populacji
5. W przypadku obu miejscowości (Smolice, Kobierzyce) analizowano korelacje pomiędzy obserwowanymi cechami. Wykazano, że w Smolicach najsilniej dodatnio skorelowane były ze sobą: plon z poletka i plon z hektara (96%), długość kolby i długość rdzenia (86%), średnica kolby i średnica rdzenia (74%), średnica kolby i masa ziarna z kolby masa ziarna z kolby. W przypadku Kobierzyc silnie dodatnio skorelowane były: plon z poletka i plon z hektara (98%), średnia kolby i średnica rdzenia (76%), średnica kolby i masa ziarna z kolby (74%) oraz długość kolby i długość rdzenia (62%).
6. W oparciu o zidentyfikowane markery molekularne SNP i SilicoDArT wykonano dendrogram podobieństwa genetycznego pomiędzy 188 analizowanymi genotypami. Na dendrogramie wyodrębniono dwie grupy podobieństwa. W skład pierwszej grupy wchodzi mieszańce pochodzące z MHR w Kobierzycech, w skład drugiej grupy wchodzi mieszańce pochodzące z HR w Smolicach. Tak idealne pogrupowanie świadczy o użyteczności markerów SNP i Silico DArT do grupowania genotypów pod kątem podobieństwa genetycznego.
7. W roku 2023 najwyższą ekspresją charakteryzowały się geny: Transporter sacharozy oraz polimeraza RNA koaktywator transkrypcji KELP. W przypadku obu genów obserwowano zdecydowanie niższą ekspresję tych genów dla genotypów słabo plonujących. Analizując pozostałe geny nie stwierdzono istotnych różnic w ich ekspresji pomiędzy genotypami słabi i dobrze plonującymi

MIERNIKI DLA TEMATU BADAWCZEGO 1

Lp.	Miernik ²	Wartość miernika podana w opisie zadania	Wartość miernika zrealizowana
1.	Liczba genotypów, na których były prowadzone obserwacje polowe dotyczące następujących cech struktury plonu: dł. kolby, średnica kolby, dł. rdzenia, średnica rdzenia, ilość rzędów, ilość ziarniaków w rzędzie, MTN. Analizowany był również plon.	500	500
2.	Liczba analizowanych cech struktury plonu (dł. kolby, średnica kolby, dł. rdzenia, średnica rdzenia, ilość rzędów, ilość ziarniaków w rzędzie, MTN. Analizowany był również plon).	8	8
3.	Liczba mieszańców F1 poddanych sekwencjonowaniu nowej generacji, z którego wyniki zostały wykorzystane do mapowania asocjacyjnego i fizycznego (w roku 2022 do sekwencjonowania i analiz molekularnych wybrano 64 linie rodzicielskie, które nie były analizowane w 2021 roku, 2 linie wymagające powtórzenia oraz 122 mieszańce F ₁ spośród 500). W roku 2023 analizowano pod kątem molekularnym kolejne 188 mieszańców. W kolejnych latach analizowane będą pozostałe mieszańce F1. Zostało to podyktowane wymogami dotyczącymi równomiernego rozłożenia środków finansowych na poszczególne lata badań.	188	188
4.	Liczba wyselekcjonowanych w 2022 roku markerów związanych z cechami struktury plonu, dla których w 2023 roku podjęto próby opracowania warunków PCR i multiplex PCR.	20	20
5.	Liczba genotypów referencyjnych, na których były testowane nowo zidentyfikowane w 2021 roku markery SilicoDArT związane z cechami struktury plonu.	20	20

Wyniki i Wnioski – temat badawczy 2 Zadanie nr 16. Analiza genetycznych uwarunkowań związanych z efektem heterozji oraz odpornością na fuzarium u kukurydzy (*Zea mays* L.).

Doświadczenie polowe założone było w dwóch miejscowościach: Smolice 51° 42' 58.904" N 17° 13' 29.13" E oraz Kobierzycy 50° 58' 19.411" N 16° 55' 47.323" E, umożliwiło ono wykonanie obserwacji stopnia porażenia roślin kukurydzy przez fuzarium. Obserwacje te zostały wykorzystane do mapowania asocjacyjnego. W celu analizy badanej zmiennej w obu miejscowościach wykonano wykresy gęstości (Rys.1). Figury na zamieszczonych wykresach gęstości obrazują, w jakich przedziałach skoncentrowane są wartości analizowanej cechy. W Smolicach najczęściej genotypów posiada odporność na poziomie 7 i 9 (w skali 9°; 1 – wrażliwe, 9 – odporne) natomiast w Kobierzycach najczęściej genotypów charakteryzuje się odpornością na poziomie 8 i 9 (Rys. 1).



Rys. 1. Wykresy gęstości obrazujące rozkład analizowanej zmiennej (stopień odporności roślin kukurydzy na fuzarium).

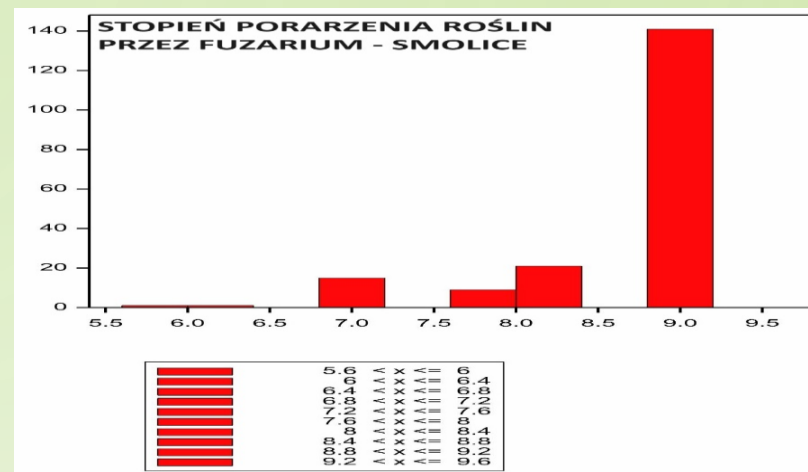
Wyniki i Wnioski – temat badawczy 2 Zadanie nr 16. Analiza genetycznych uwarunkowań związanych z efektem heterozji oraz odpornością na fuzarium u kukurydzy (*Zea mays* L.).

Wykorzystując dane z doświadczenia polowego prowadzonego niezależnie w obu miejscowościach (Smolice i Kobierzyce) sprawdzono jaki jest rozkład stopnia porażenia roślin kukurydzy przez fuzarium w obrębie badanej populacji. Analizy statystyczne wykazały, że w przypadku tej cechy mamy do czynienia z rozkładem Poissona odwróconym (Rys. 4 i Rys. 5).

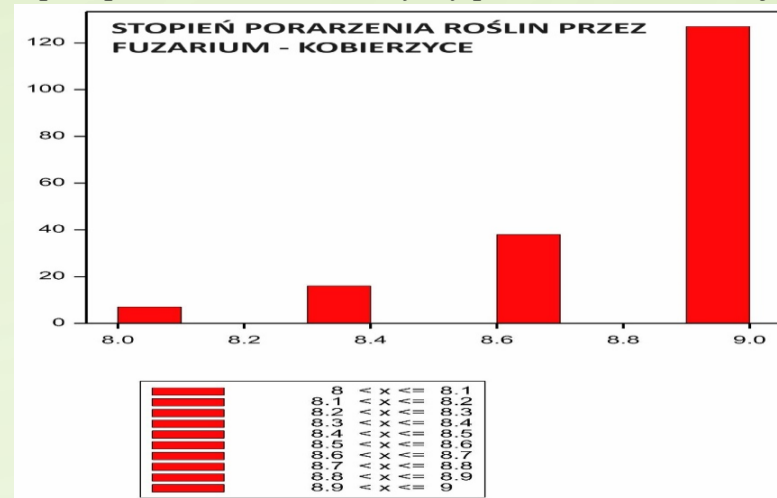
Przeprowadzono analizę wariancji pod kątem stopnia porażenia roślin kukurydzy przez fuzarium. Zaobserwowano istotne zróżnicowanie pomiędzy analizowanymi genotypami. Analiza wariancji wykazała również istotne statystycznie zróżnicowanie pomiędzy miejscowościami, w których było założone doświadczenie polowe (Tab. 4).

Tabela 4. Analiza wariancji dla stopnia porażenia roślin kukurydzy przez fuzarium

Źródło zmienności	d.f.	Fusarium kolb [skala 1-9]
Genotyp	187	0,7423 ***
Lokalizacja	1	8,0009 ***
GenotypxLokalizacja	187	0,8066 ***
Pozostałe	752	0,2757



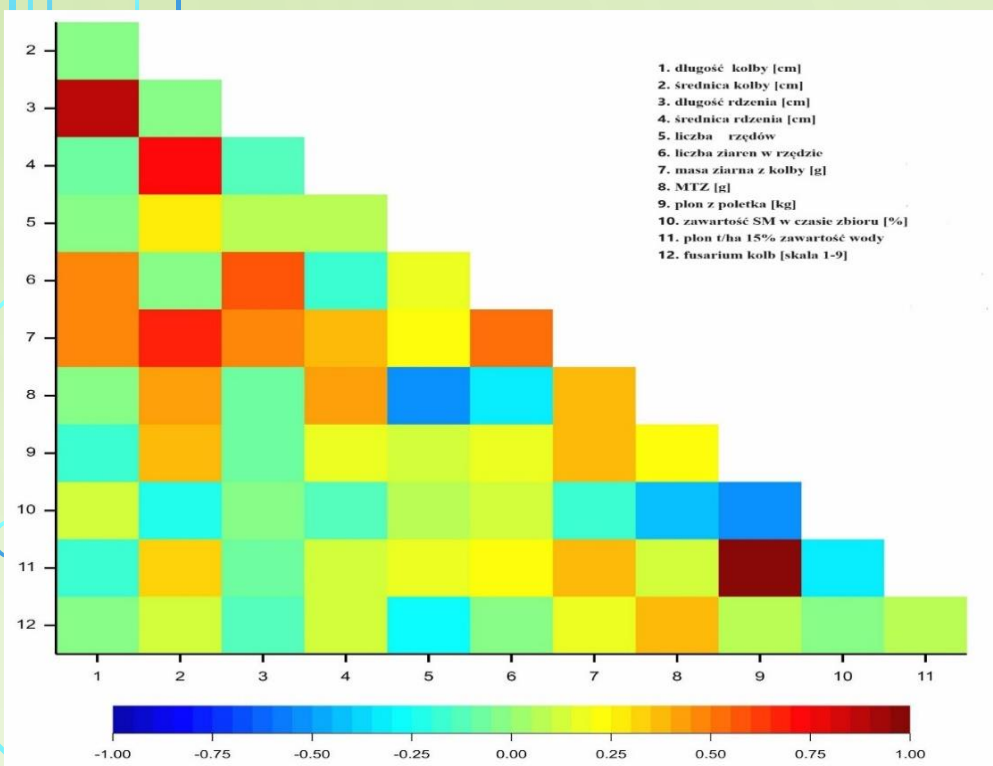
Rys. 4. Rozkład stopnia porażenia roślin kukurydzy przez fuzarium w miejscowości Smolice.



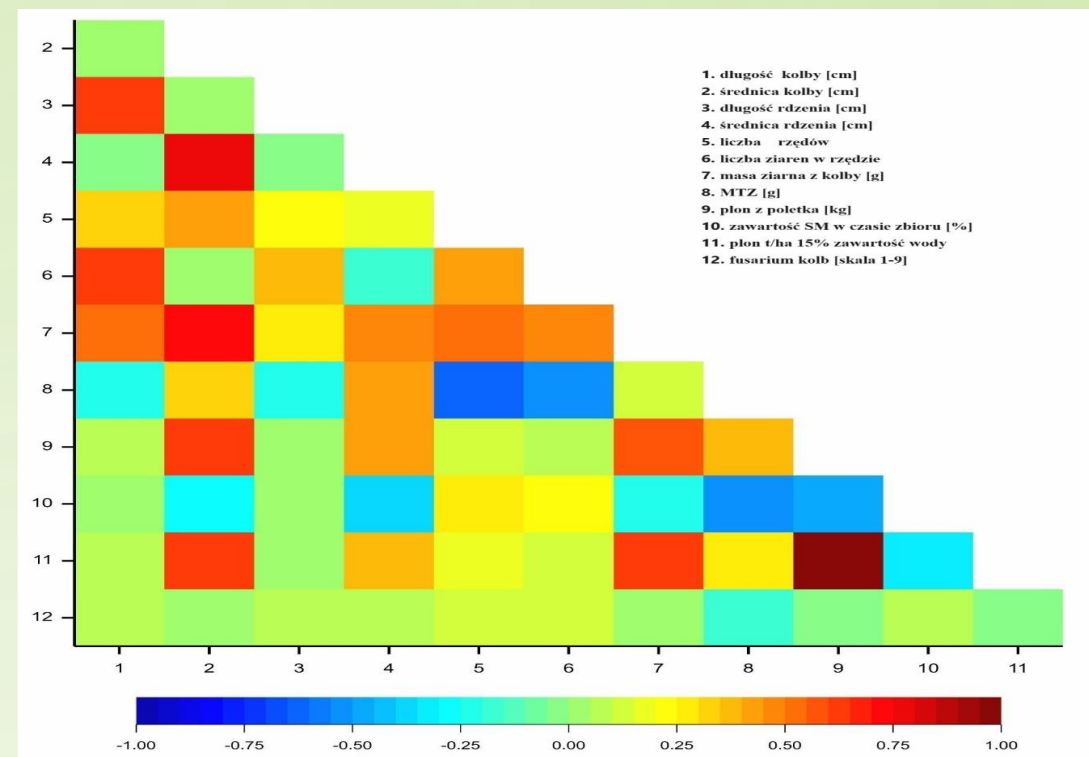
Rys. 5. Rozkład stopnia porażenia roślin kukurydzy przez fuzarium w miejscowości Kobierzyce.

Wyniki i Wnioski – temat badawczy 2 Zadanie nr 16. Analiza genetycznych uwarunkowań związanych z efektem heterozji oraz odpornością na fuzarium u kukurydzy (*Zea mays* L.).

W przypadku obu miejscowości (Smolice, Koberzyce) analizowano korelacje pomiędzy obserwowanymi cechami struktury plonu i plonem a stopniem porażenia roślin przez fuzarium. Wykazano, że w Smolicach najsilniej dodatnio skorelowane z porażeniem roślin przez fuzarium były MTZ (36%) oraz masa ziarna z kolby (15%) (Rys. 6, Tab. 5). W przypadku Koberzyc silnie dodatnio skorelowane z porażeniem roślin przez fuzarium były liczba rzędów (10%) oraz liczna ziaren w rzędzie (12%) (Rys. 7 i Tab. 6).



Rys. 6. Mapa ciepła przedstawiająca korelacje pomiędzy analizowanymi cechami struktury plonu w Smolicach



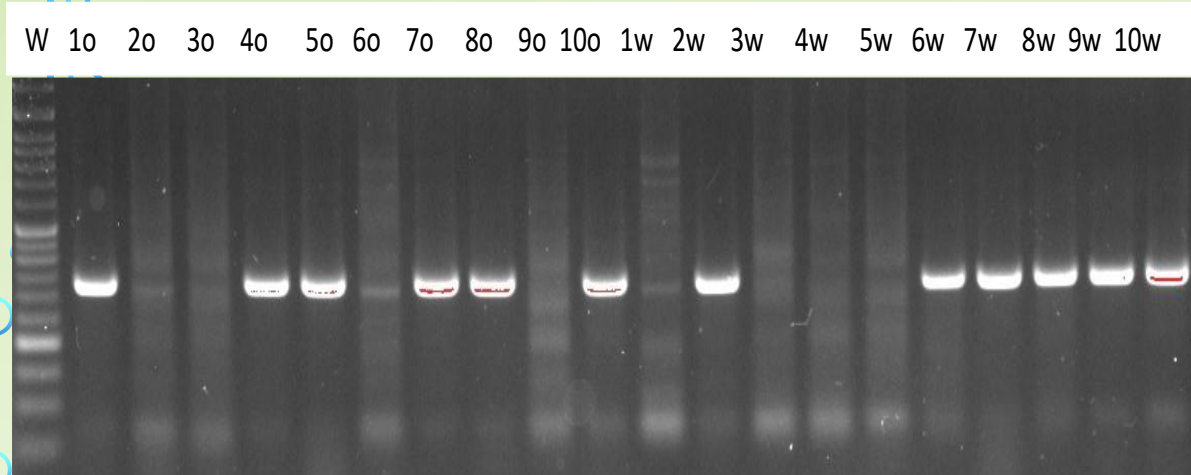
Rys.7. Mapa ciepła przedstawiająca korelacje pomiędzy analizowanymi cechami struktury plonu w Koberzycach.

Wyniki i Wnioski – temat badawczy 2 Zadanie nr 16. Analiza genetycznych uwarunkowań związanych z efektem heterozji oraz odpornością na fuzarium u kukurydzy (*Zea mays* L.).

Przykładowe obrazy elektroforez

Marker SilicoDArT 27435 (produkt o wielkości 333pz)

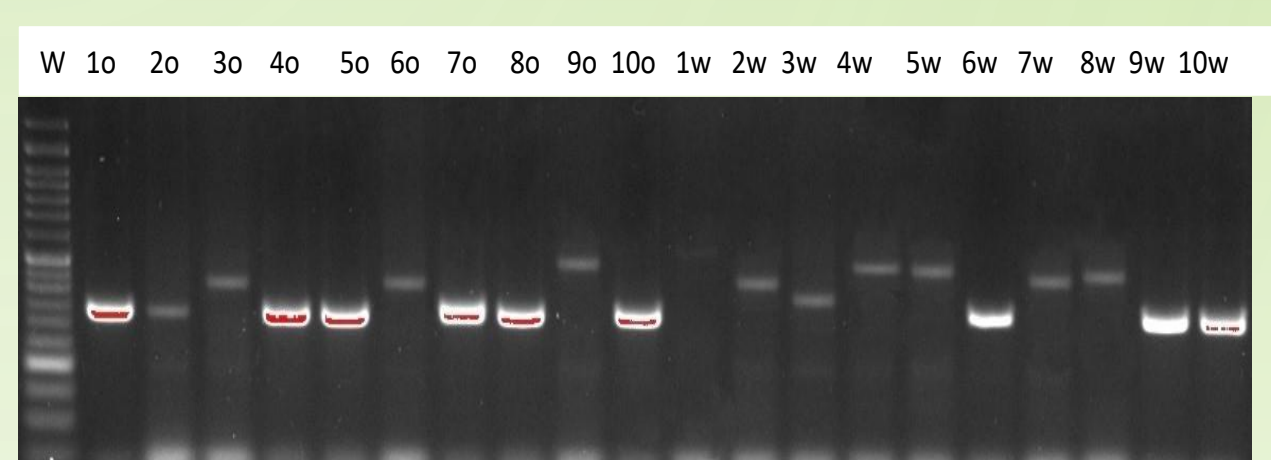
Analiza markera numer 27435 wykazała, że specyficzny produkt o wielkości 333pz pojawił się u sześciu genotypów odpornych (1o, 4o, 5o, 7o, 8o, 10o) oraz 6 genotypów wrażliwych (2w, 6w, 7w, 8w, 9w, 10w). W przypadku pozostałych genotypów pojawiły się niespecyficzne produkty amplifikacji (Fot. 4)



Fot. 4. Elektroforogram przedstawiający produkty amplifikacji o wielkości 333pz charakterystyczne dla markera SilicoDArT 27435

Marker SilicoDArT 24753 (produkt o wielkości 336pz)

Analiza markera numer 24753 wykazała, że specyficzny produkt o wielkości 336pz pojawił się u 7 genotypów odpornych (1o, 2o, 4o, 5o, 7o, 8o, 10o) oraz 3 genotypów wrażliwych (6w, 9w, 10w). W przypadku pozostałych genotypów pojawiły się niespecyficzne produkty amplifikacji (Fot. 7).



Fot. 7. Elektroforogram przedstawiający produkty amplifikacji o wielkości 336pz charakterystyczne dla markera SilicoDArT 24753

Wyniki i Wnioski – temat badawczy 2 Zadanie nr 16. Analiza genetycznych uwarunkowań związanych z efektem heterozji oraz odpornością na fuzarium u kukurydzy (*Zea mays* L.).

Wnioski (opisać jak w publikacji)

1. W celu analizy badanej zmiennej w obu miejscowościach wykonano wykresy gęstości. Figury na zamieszczonych w rozdziale „Wyniki” wykresach gęstości obrazują, w jakich przedziałach skoncentrowane są wartości analizowanej cechy. W Smolicach najwięcej genotypów posiada odporność na poziomie 7 i 9 (w skali 9^o; 1 – wrażliwe, 9 – odporne) natomiast w Kobierzycach najwięcej genotypów charakteryzuje się odpornością na poziomie 8 i 9.
2. Przeprowadzono analizę wariancji pod kątem stopnia porażenia roślin kukurydzy przez fuzarium. Zaobserwowano istotne zróżnicowanie pomiędzy analizowanymi genotypami. Analiza wariancji wykazała również istotne statystycznie zróżnicowanie pomiędzy miejscowościami, w których było założone doświadczenie polowe.
3. Wykorzystując dane z doświadczenia polowego prowadzonego niezależnie w obu miejscowościach (Smolice i Kobierzyce) sprawdzono jaki jest rozkład stopnia porażenia roślin kukurydzy przez fuzarium w obrębie badanej populacji. Analizy statystyczne wykazały, że w przypadku tej cechy mamy do czynienia z rozkładem Poissona odwróconym.
4. W przypadku obu miejscowości (Smolice, Kobierzyce) analizowano korelacje pomiędzy obserwowanymi cechami struktury plonu i plonem a stopniem porażenia roślin przez fuzarium. Wykazano, że w Smolicach najsilniej dodatnio skorelowane z porażeniem roślin przez fuzarium były MTZ (36%) oraz masa ziarna z kolby (15%). W przypadku Kobierzyc silnie dodatnio skorelowane z porażeniem roślin przez fuzarium były liczba rzędów (10%) oraz liczna ziaren w rzędzie (12%).
5. W oparciu o zidentyfikowane markery molekularne SNP i SilicoDArT wykonano dendrogram podobieństwa genetycznego pomiędzy 188 analizowanymi genotypami. Na dendrogramie bardzo wyraźnie widać dwie wyodrębnione grupy podobieństwa. W skład pierwszej grupy wchodzi mieszańce pochodzące z MHR w Kobierzycach, w skład drugiej grupy wchodzi mieszańce pochodzące z HR w Smolicach. Tak idealne pogrupowanie świadczy o użyteczności markerów SNP i Silico DArT do grupowania genotypów pod kątem podobieństwa genetycznego.

Wyniki i Wnioski – temat badawczy 2 Zadanie nr 16. Analiza genetycznych uwarunkowań związanych z efektem heterozji oraz odpornością na fuzarium u kukurydzy (*Zea mays* L.).

Publikacje dotyczące wyników z 2022 i 2023 roku

1.	<p>Sobiech A., Tomkowiak A., Bocianowski J., Szymańska G., Nowak M., Lenort M. 2023. Identification and Analysis of Candidate Genes Associated with Maize Fusarium Cob Resistance Using Next-Generation Sequencing Technology. <i>Int. J. Mol. Sci.</i> 2023, 24(23), 16712 https://doi.org/10.3390/ijms242316712</p> <p>TEMAT BADAWCZY 2</p> <p>Punktacja wg MNiSW: 140 IF: 5,6</p>	Publikacja oryginalna**	1
2.	<p>Nowak B., Tomkowiak A., Sobiech A., Bocianowski J., Kowalczewski P.Ł., Spychała J. 2023. Identification and analysis of candidate genes related to features of the yield structure and maize yield using next-generation sequencing technology. PUBLIKACJA W RECENZJI W GENES</p> <p>TEMAT BADAWCZY 1</p> <p>Punktacja wg MNiSW: 100 IF: 3,5</p>	Publikacja oryginalna**	1

MIERNIKI DLA TEMATU BADAWCZEGO 2

Lp.	Miernik	Wartość miernika podana w opisie zadania	Wartość miernika zrealizowana
1.	Liczba genotypów, na których były prowadzone obserwacje polowe, dotyczące stopnia porażenia roślin kukurydzy przez fuzarium.	500	500
2.	Liczba genotypów poddanych sekwencjonowaniu nowej generacji, z którego wyniki zostały wykorzystane do mapowania asocjacyjnego i fizycznego (w roku 2022 do sekwencjonowania i analiz molekularnych wybrano 64 linie rodzicielskich, które nie były analizowane w 2021 roku, 2 linie, które wymagały powtórzenia oraz 122 mieszańce F ₁ spośród 500). W roku 2023 analizowane były kolejne mieszańce (188). Pozostałe 190 mieszańców analizowane będzie w kolejnych latach. Zostało to podyktowane wymogami dotyczącymi równomiernego rozłożenia środków finansowych na poszczególne lata badań.	188	188
3.	Liczba wyselekcjonowanych w 2022 roku markerów związanych z odpornością roślin kukurydzy na fuzarium, dla których w 2023 roku były podjęte próby opracowania warunków PCR i multiplex PCR.	10	10
4.	Liczba genotypów referencyjnych, na których były testowane nowo zidentyfikowane w 2021 roku markery SilicoDArT i SNP związane z odpornością roślin kukurydzy na fuzarium. .	20	20