

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: 2024 r., 12 miesięcy

Prof. dr hab. Kamila Nowosad

Prof. dr hab. Henryk Bujak

Dr inż. Bartosz Kozak

Dr Kamil Kostyn

Zespół badawczy:

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Katedra Genetyki, Hodowli Roślin i Nasiennictwa

50-363 Wrocław

Cele projektów w ramach poszczególnych zadań

Lp.	Zadanie	Status
1	Genotypowanie populacji mapującej F ₂ Techniką target GBS	ZREALIZOWANO
2	Konwersja opracowanych markerów do markerów MAS	W TRAKCIE REALIZACJI

Temat badawczy nr 1:

Genotypowanie populacji mapującej F2

Cel	Materiał i metody	Wyniki
<p>Uzyskanie informacji o genotypie osobników populacji F2 niezbędnych do utworzenia zagęszczonej mapy genetycznej.</p>	<p>Badania przeprowadzono na populacji F₂. Genotypowanie markerów SNP zrealizowano przy użyciu sekwencjonowania całogenomowego (WGS) o niskim pokryciu (3x). Odczyty o długości 100 pz w układzie PE poddano analizie bioinformatycznej zgodnie z najlepszymi praktykami GATK, obejmującej mapowanie, identyfikację i filtrację markerów SNP. Dane genotypowe zostały skonwertowane na allele A, B, H, a następnie wykorzystane do konstrukcji mapy genetycznej w pakiecie ASMap.</p>	<p>W przeprowadzonych badaniach uzyskano 3457 markerów SNP, zidentyfikowanych na podstawie danych sekwencjonowania całogenomowego (WGS) o niskim pokryciu. Zastosowane podejście umożliwiło stworzenie mapy genetycznej o długości 4469 cM, która równomiernie pokrywa wszystkie chromosomy żyta (1R-7R). Średnie odległości między markerami wynosiły od 3 do 6,4 cM, co świadczy o wysokiej gęstości mapy. Analizy wartości LOD i współczynników rekombinacji potwierdziły poprawność przypisania markerów do grup sprzężeniowych, a proporcje alleli A, B i H były zgodne z teoretycznym rozkładem 1:2:1. Opracowana mapa genetyczna stanowi solidną podstawę do dalszych analiz, takich jak identyfikacja loci QTL oraz badania zmienności genetycznej populacji.</p>

1R

Table with 2 columns: marker ID (e.g., AX-99797704, c14973_704) and frequency (e.g., 0, 38.6, 45.5).

2R

Table with 2 columns: marker ID (e.g., KukuR_c51453_406, wrnp_Ra_c5680_60407020) and frequency (e.g., 0, 52.0, 62.2).

3R

Table with 2 columns: marker ID (e.g., c5683_1624, c5683_2243) and frequency (e.g., 0, 23.0, 24.0).

4R

Table with 2 columns: marker ID (e.g., AX-99428892 (1 more), c20441_199) and frequency (e.g., 0, 23.0, 24.0).

5R

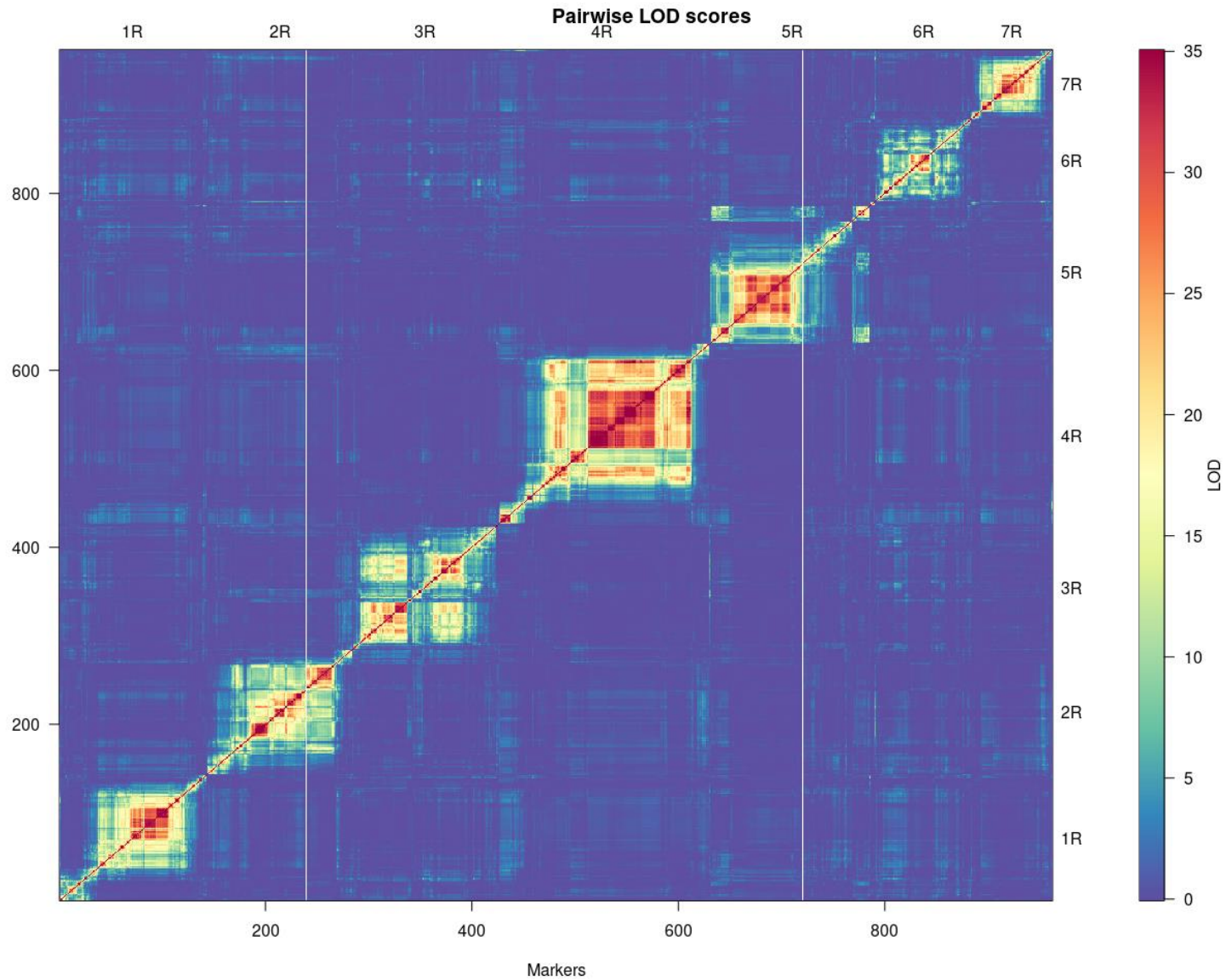
Table with 2 columns: marker ID (e.g., Tdum_corteg11121_739, D_F5X2D1F01EL249_220) and frequency (e.g., 0, 19.4, 19.4).

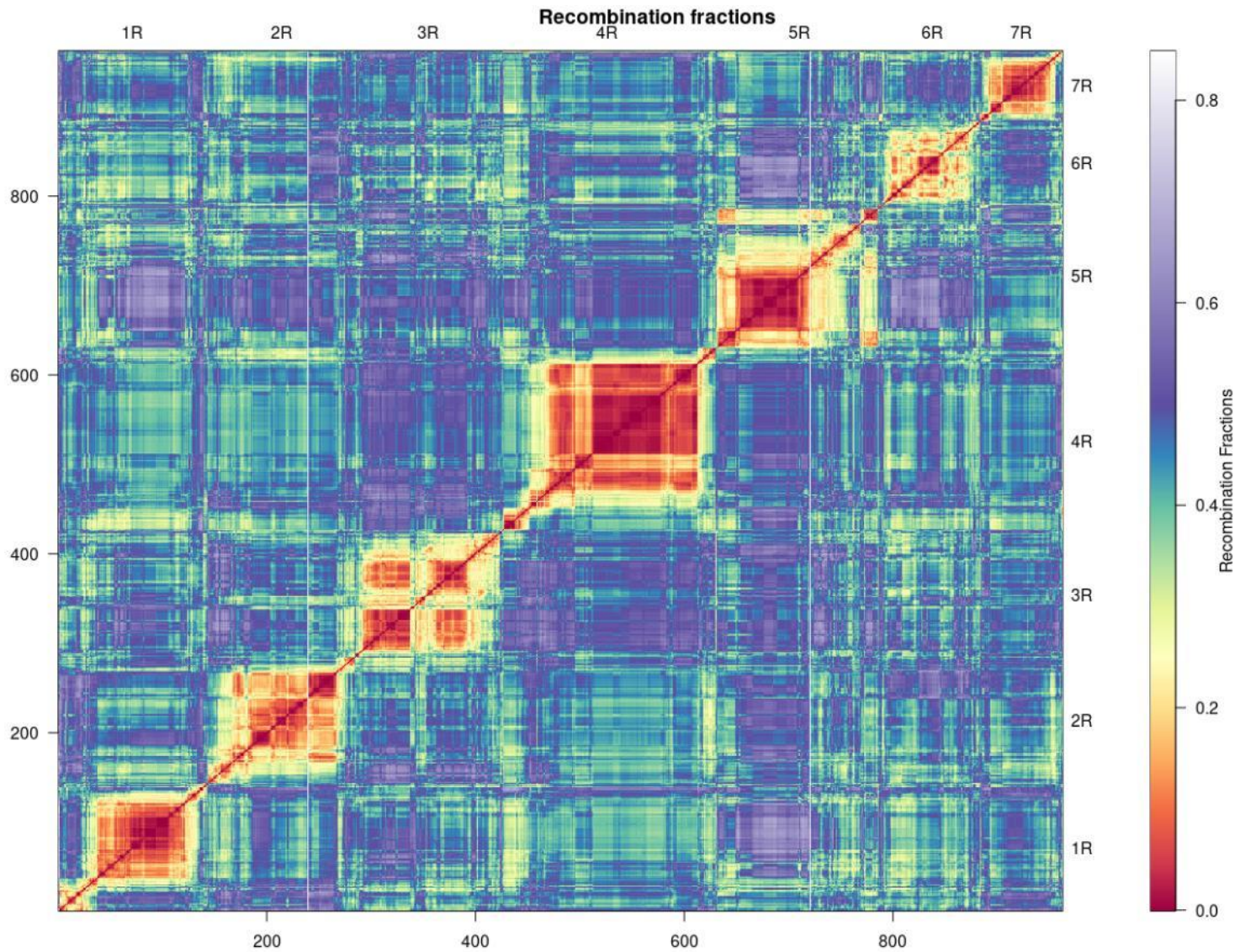
6R

Table with 2 columns: marker ID (e.g., c9044_447, c9044_122) and frequency (e.g., 0, 19.4, 19.4).

7R

Table with 2 columns: marker ID (e.g., AX-94721128, c9340_122) and frequency (e.g., 0, 19.4, 19.4).





Temat badawczy 2:

Konwersja opracowanych markerów do markerów MAS

Cel	Materiał i metody	Wyniki
<p>Konwersja opracowanych markerów SNP w poprzednich latach badań w markery MAS przydatne do selekcji genotypów odpornych na rdzę brunatną.</p>	<p>Do identyfikacji markerów SNP związanych z odpornością na rdzę brunatną wykorzystano dane genotypowe z wcześniejszych etapów projektu oraz populacji F₂ z roku 2024. Na tej podstawie wybrano markery SNP najbardziej wiarygodnie korelujące z odpornością, które następnie skonwertowano do formatów HRM i KASP. Startery HRM zaprojektowano przy użyciu oprogramowania primer3Plus i sekwencji referencyjnych, a syntezę oligonukleotydów zlecono zewnętrznej firmie, podobnie jak projektowanie starterów KASP. Walidację przeprowadzono na liniach hodowlanych o zróżnicowanej odporności, wykorzystując reakcje HRM i KASP, które optymalizowano w przypadku niejednoznacznych wyników. Na podstawie przeprowadzonej analizy oceniono skuteczność markerów w identyfikacji odpornych linii, wskazując najbardziej przydatne narzędzia do hodowli żyta o zwiększonej odporności na rdzę brunatną.</p>	<p>Wyniki w trakcie opracowywania</p>

Podsumowanie

- Mimo niskiego pokrycia sekwencjonowania (3x), zastosowane podejście pozwoliło na uzyskanie 3457 wiarygodnych markerów SNP, co wskazuje, że odpowiednia analiza bioinformatyczna i filtracja mogą skutecznie kompensować ograniczenia techniczne, zapewniając wysoką jakość danych genotypowych.
- Opracowana mapa genetyczna o długości 4469 cM i równomiernym rozmieszczeniu markerów na chromosomach żyta (1R-7R) odzwierciedla rzeczywistą strukturę genetyczną populacji F2. Zmapowane loci wykazały proporcje alleli zgodne z teoretycznym rozkładem 1:2:1, co świadczy o poprawnej konstrukcji mapy.
- Mapa genetyczna stanowi solidną podstawę do dalszych analiz, takich jak identyfikacja loci QTL, analiza zmienności genetycznej oraz badania asocjacyjne. Jej wysoka jakość i dokładność zwiększają wiarygodność przyszłych wyników, szczególnie w kontekście cech o znaczeniu hodowlanym.
- Obecność obszarów bez markerów (np. przerwa 81,2 cM na chromosomie 5R) wskazuje na potencjalne wyzwania w regionach o niskiej zmienności lub wysokiej złożoności genomu. Przyszłe badania mogą skupić się na identyfikacji dodatkowych markerów w tych regionach za pomocą bardziej zaawansowanych metod, takich jak sekwencjonowanie o większym pokryciu lub techniki wzbogacania regionów genowych.