

Zadanie nr 37:

Charakterystyka determinant genetycznych dla wybranych cech związanych z biologią kwitnienia u buraka ćwikłowego

Okres realizacji: **48 miesięcy (lata 2021-2024)**

Zespół wykonawców projektu:

Dr hab. Marek Szklarczyk, prof. URK – kierownik; e-mail: marek.szklarczyk@urk.edu.pl

MSc Ajeeth Prakash Vairamuthu

Prof. dr hab. inż. Stefan Stojałowski

Dr hab. Hieronim Golczyk, prof. KUL

Cele projektu w 2024 r.

W temacie badawczym 1 (Opracowanie markerów DNA dla alleli locus restorera X ($Rf1$)):

- opracowanie markerów PCR do wnioskowania o składzie allelicznym locus X/x ($Rf1/rf1$)

W temacie badawczym 2 (Analizy bioinformatyczne wyników GBS):

- identyfikacja polimorfizmów sekwencyjnych z chromosomu 4 wykazujących sprzężenie z cechą jednonasienności
- wskazanie genów kandydujących, które mogą odpowiadać genowi jednonasienności (m)

W temacie badawczym 3 (Opracowanie markerów DNA dla genu jednonasienności):

- opracowanie markerów PCR dla cechy jednonasienności

Cele zostały zrealizowane (opracowanie części wyników jest w toku).

Materiały i metody

W temacie badawczym 1 (Opracowanie markerów DNA dla alleli locus restorera *X (Rf1)*):

Materiały roślinne

- populacje 506 i 740 segregujące na rośliny męskosterylne i męskopłodne.

Metody

- markery SCAR i CAPS

W temacie badawczym 2 (Analizy bioinformatyczne wyników GBS):

Materiały roślinne

- populacje 593a i 593b segregujące na rośliny jedno- i wielokwiatowe

Metody

- Identyfikacja polimorfizmów sekwencyjnych (program VCFtools; program VCFtools; skrypt napisany w języku Awk; program Excel (MS Office 2007)).
- Mapowanie odczytów sekwencyjnych do sekwencji chromosomu 4 buraka (program BWA).
- Mapowanie genetyczne (JoinMap).

W temacie badawczym 3 (Opracowanie markerów DNA dla genu jednonasienności):

Materiały roślinne

- populacje 593a i 593b segregujące na rośliny jedno- i wielokwiatowe

Metody

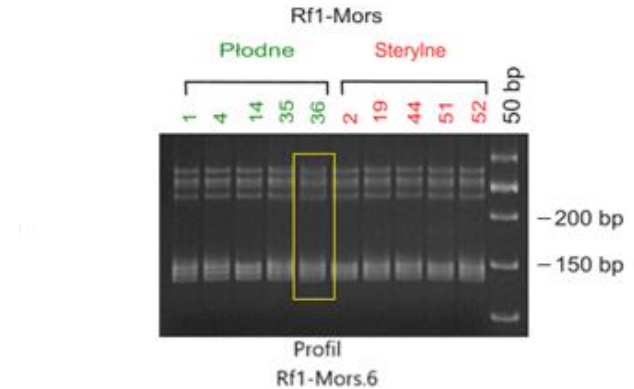
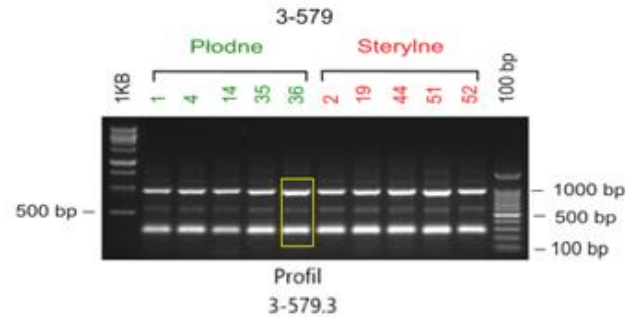
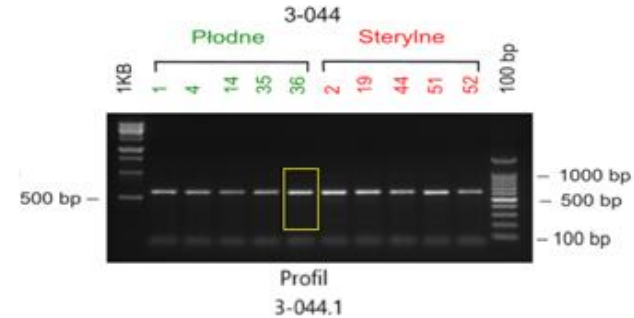
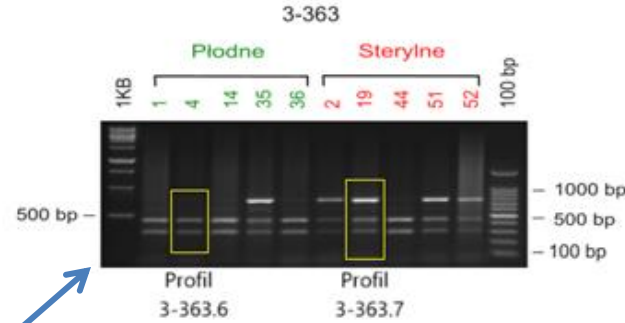
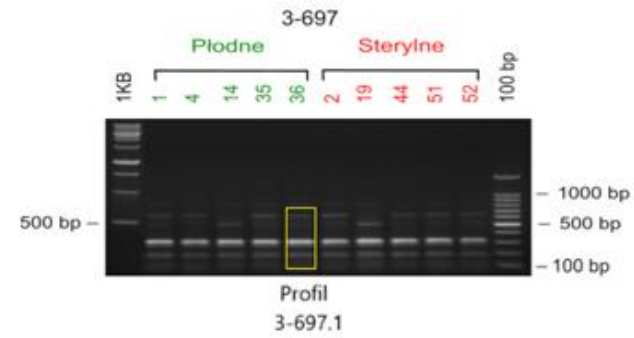
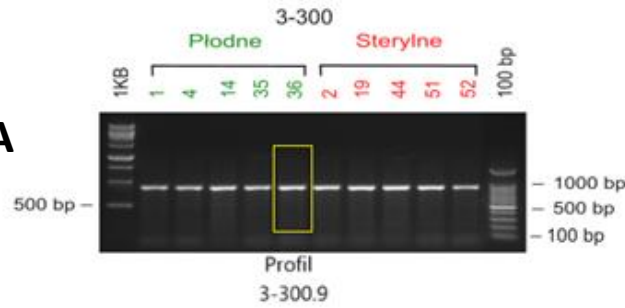
- markery SCAR i CAPS

Wyniki

Opracowanie markerów DNA dla genu *X/Rf1*

Typowanie informatywnych markerów

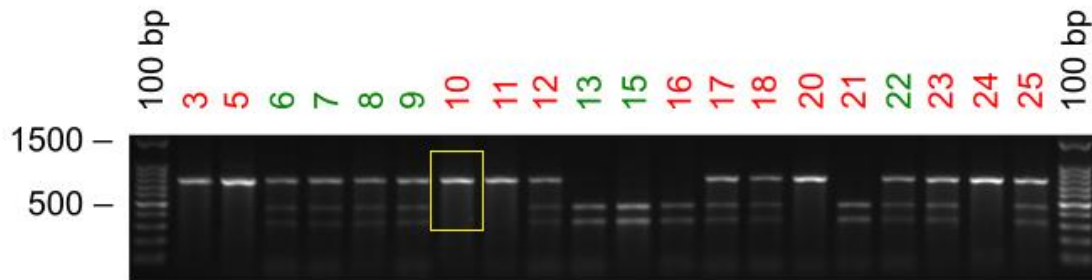
Polimorficzny marker 3-363/*TaqI*



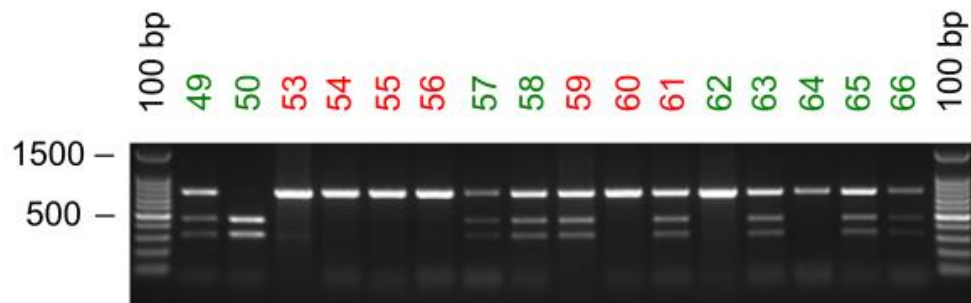
Populacja 506

Weryfikacja polimorficznych markerów

Polimorficzny marker 3-363/*TaqI*



Profil
3-363.9



- męskopłodne
- męskosterylne
- fenotyp nieznan

Populacja 506

kosegregacja [%]:

77,6

Analizy bioinformatyczne wyników GBS pod kątem mapowania genu jednonasienności *m*

Średnio dla pojedynczej rośliny z populacji 593a i 593b wygenerowano ponad 37 mln odczytów sekwencyjnych. Spośród nich 40,7 % zmapowano i prawidłowo sparowano w sekwencji chromosomu 4 buraka (NC_025815.2).

Statystyka mapowania odczytów do sekwencji referencyjnej (chromosomu 4) – wartości średnie dla roślin z obydwu populacji - 593a i 593b.

Parametr	Liczba	Procent
Wszystkie odczyty (<i>forward & reverse</i>)	37 303 684	100,0
Odczyty zmapowane	20 854 217	55,9
Odczyty zmapowane i sparowane	18 470 643	49,5
Odczyty niezmapowane	16 449 468	44,1
Odczyty prawidłowo sparowane	15 183 234	40,7

Na bazie tej frakcji przeprowadzono identyfikację polimorfizmów sekwencyjnych, których znaleziono ok. 2,72 mln. W tej puli ok. 20,6 % stanowiły polimorfizmy bialleliczne o wysokiej jakości, spośród których wybrano te, dla których liczba nieokreślonych genotypów (w analizowanej populacji) nie była wyższa od 5. Takie polimorfizmy stanowiły 6,5 % puli początkowej. Wśród nich 13 603 polimorfizmów (ok. 0,5 % puli początkowej) wykazywało segregację oczekiwaną dla badanej populacji (1 : 1).

Liczebność polimorfizmów sekwencyjnych z chromosomu 4 w populacjach 593a i 593b na różnych etapach filtracji.

Etap filtracji	Liczba polimorfizmów
Polimorfizmy wygenerowane przez program Platypus	2 720 886
Selekcja polimorfizmów wysokiej jakości	697 823
Selekcja polimorfizmów biallelicznych	560 110
Selekcja polimorfizmów posiadających maksymalnie 5 nieokreślonych genotypów	176 759
Selekcja polimorfizmów o właściwej segregacji (1 : 1)	13 603
Selekcja polimorfizmów znajdujących się w odległości większej niż 10 kb	selekcja w toku

Wnioski

W temacie badawczym 1 (Opracowanie markerów DNA dla alleli locus restorera *X (Rf1)*):

1. Większość analizowanych markerów z chromosomu 3 nie różnicowała roślin męskosterylnych i męskopłodnych z testowanych populacji. Dotyczyło to także markera Rf1-Mors zakotwiczonego w obrębie sekwencji kodujących białko OMA1.
2. Wyjątek stanowił marker 3-363 / *TaqI* u roślin z populacji 506, który wykazał prawie 78-procentową kosegregację z cechą przywracania płodności.
3. Uzyskane wyniki sugerują, iż w chromosomie 3 oprócz genu *X/Rf1* występuje dodatkowy restorer.

W temacie badawczym 2 (Analizy bioinformatyczne wyników GBS):

1. Do chromosomu 4 (w jego obrębie jest zlokalizowany gen jednonasienności *m*) zmapowano ponad 15 mln prawidłowo sparowanych odczytów sekwencyjnych.
2. Umożliwiło to identyfikację ponad 2,7 mln. polimorfizmów sekwencyjnych, z których po rygorystycznej selekcji pozostawiono 13 603, które nadają się do analizy sprzężeń.

W temacie badawczym 3 (Opracowanie markerów DNA dla genu jednonasienności):

Opracowanie wyników jest w toku.

Założone mierniki zostały zrealizowane.

Prezentacja wyników

Szklarczyk M., Wesołowski W., Ciepłak E., Domnicz B. New aspects of fertility restoration in beets; 13th International Conference for Plant Mitochondrial Biology (ICPMB 2024), 26-30 maj 2024 r., Saint-Malo, Francja; poster

Podziękowania

Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi – finansowanie
Plantico Zielonki Sp. z o.o. – materiały roślinne