

SPRAWOZDANIE

z realizacji zadania nr 15 na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej

Tytuł zadania: Poszukiwanie markerów molekularnych genów utrzymania sterylności pyłku u pszenżyta z cms *Tt*.

Okres realizacji: 2014-2020

Kierownik zadania: prof. dr hab. Piotr Bednarek (p.bednarek@ihar.edu.pl)

Wykonawcy: dr hab. Agnieszka Niedziela, mgr Marzena Wasiak, Hodowla Roślin Strzelce Sp. z o.o. Grupa IHAR (Oddział Borowo), DANKO Hodowla Roślin Sp. z o.o. (Oddział Laski)

Cele projektu:

- Wyprowadzanie kolejnych pokoleń linii rekombinacyjnych (F5-F8) dla pięciu populacji mapujących – cel został osiągnięty
- Wyprowadzenie BC1S4 oraz BC1S8 celem określenia fenotypu linii S4 i S8 – cel został osiągnięty
- Opracowanie zagęszczonej mapy genetycznej pszenżyta w wykorzystaniem populacji mapujących RIL oraz markerów silicoDArT i SNP – cel został osiągnięty
- Mapowanie QTLi (ang. Quantitative Trait Locus) utrzymania sterylności pyłku u pszenżyta z CMS *Triticum timopheevii* (*Tt*) oraz identyfikacja markerów molekularnych DNA silnie sprzężonych oraz asocjowanych z cechą – cel został osiągnięty
- Określenie wkładu genów identyfikowanych w rejonie QTLi do zmienności fenotypowej cechy – cel został osiągnięty
- Testowanie markerów silicoDArT i SNP na szerszej populacji genotypów – cel został osiągnięty
- Opracowanie zestawu markerów genów utrzymania sterylności pyłku u pszenżyta z cms *Tt* – cel został osiągnięty

Materiały:

Populacje mapujące RILs (ang. Recombinant Inbred Lines) prowadzone do poziomu pokolenia F8:

DB1 x RB1 - 250 linii; DANKO Hodowla Roślin Sp. z o.o., Oddział Laski

DB2 x RB2 - 250 linii; DANKO Hodowla Roślin Sp. z o.o., Oddział Laski

MS114: [MS 114(5)-2-1 dop. x Borwo] - 250 linii; Hodowla Roślin Strzelce Sp. z o.o. Grupa IHAR, Oddział Borowo.

MS112: [MS 112(15)-2-1 dop. x Borwo] - 250 linii; Hodowla Roślin Strzelce Sp. z o.o. Grupa IHAR, Oddział Borowo

HT352: [MS HT 352 dop. x Borwo] - 250 linii; Hodowla Roślin Strzelce Sp. z o.o. Grupa IHAR, Oddział Borowo

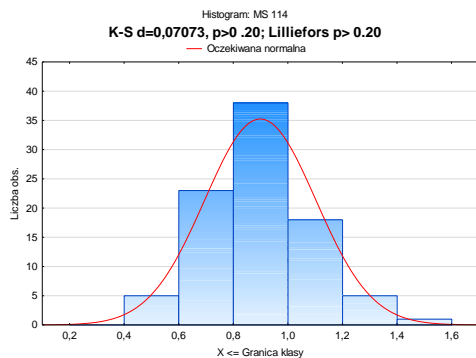
Metody:

- **Analiza fenotypowa populacji RIL** - krzyżowanie wsteczne poszczególnych linii z linią mateczną, ocena zawiązywania ziarniaków roślin **BC1F1**
- **Izolacja DNA z liści poszczególnych linii rekombinacyjnych** - zestaw do izolacji DNeasy Plant Mini Kit 250 (Qiagen)
- **Genotypowanie materiału roślinnego** - technologia DArTseq (markery SNP oraz silicoDArT)
- **Konstrukcja map genetycznych dla populacji mapujących RIL** - programy MultiPoint Ultra Dense oraz JoinMap5
- **Identyfikacja QTLi utrzymania sterylności pyłku** - programy WinQTL Cartographer oraz MapQTL, mapowanie kompozytowe (CIM, ang. Composite Interval Mapping)
- **Identyfikacja markerów utrzymania sterylności pyłku oraz określenie wkładu genów identyfikowanych w rejonie QTLi do zmienności fenotypowej cechy** - na podstawie wyników mapowania kompozytowego oraz asocjacyjnego (program TASSEL)
- **Analiza bioinformatyczna sekwencji markerów sprzężonych i asocjowanych z cechą** - baza danych NCBI (The National Centre for Biotechnology Information), algorytm BLASTn oraz baza danych IPK Rye Blast Server (<https://webblast.ipk-gatersleben.de/ryeselect/>)
- **Konwersja markerów SNP i SilicoDArT do warunków specyficznego PCR** - projektowanie starterów na podstawie sekwencji homologicznych do sekwencji markerów SNP i SilicoDArT, m. in. z uwzględnieniem miejsc restrykcji dla enzymu PstI (program CLC Workbench). Dobór temperatury powielania markerów w termocyklerze z gradientem temperatur oraz testowanie ich powielania na populacjach mapujących RIL
- **Testowanie konwertowanych markerów na szerszej populacji genotypów oraz selekcja genotypów o pożądanym kombinacjach genów utrzymania sterylności pyłku** - analiza PCR

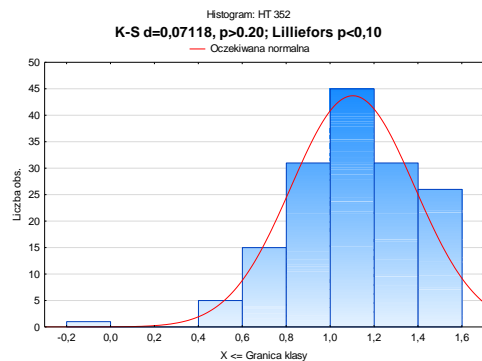
Fenotypowanie roślin uzyskanych w wyniku krzyżowań wstecznych z formą mateczną

Rysunek 1. Ilustracja rozkładu normalnego zawiązywania ziaren opracowana na bazie wyników dla populacji BC1F(4-6)13

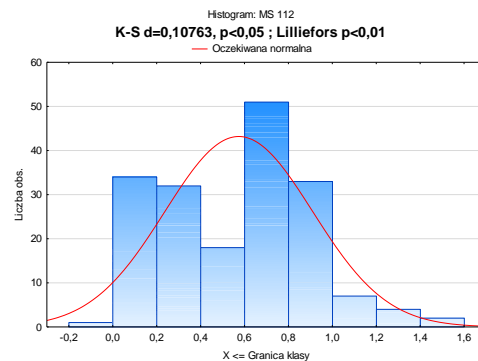
BC1F4: MS 114(5)-2-1 cms Tt x [RIL4: MS 114(5)-2-1dop. x Borwo].



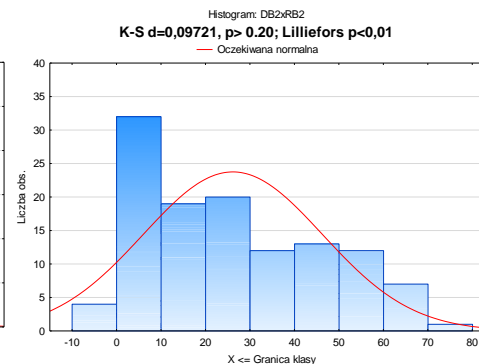
BC1F6: MS HT 352 cms Tt x [RIL6: MS HT 352 dop. x Borwo]



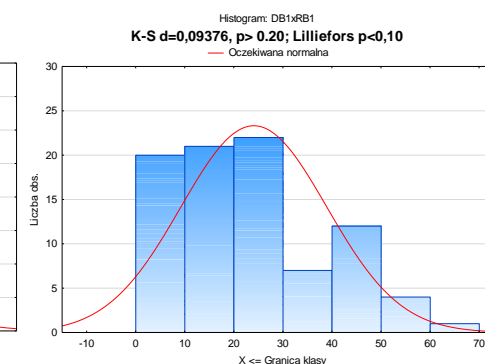
BC1F6: MS 112(15)-2-1 cms Tt x [RIL6: MS 112 (15)-2-1 dop x Borwo]



BC1F5: DB2 x [RIL5: DB2 x RB2]



BC1F5: DB1 x [RIL5: DB1 x RB1]



- Dla każdej populacji mapującej cecha charakteryzowała się rozkładem normalnym lub zbliżonym do normalnego (populacja MS 112) co jest warunkiem koniecznym do poprawnego wykonania analizy QTL (Rysunek 1).

Genotypowanie populacji RIL

Liczba markerów generowana dla populacji mapujących z wykorzystaniem usługi Diversity Arrays Technology Pty Ltd. :

- SNP – 20 000 (MS112) - 30 500 (MS114)
- SilicoDArT – 58 900 (MS114) - 92 200 (HT352)

- Technologia DArTseq umożliwiła identyfikację ponad 50 tys. powtarzalnych markerów SNP i silicoDArT w obrębie analizowanych populacji. Liczba markerów jest wystarczająca by uzyskać zagęszczoną mapę genetyczną użyteczną do lokalizowania obszarów genomu odpowiedzialnych za kodowanie genów przywracania płodności pyłku u żyta z CMS Pampa

Mapowanie genetyczne – charakterystyka grup sprzężeń

Tabela 1. Charakterystyka grup sprzężeń populacji mapujących pszenżyta.

	Chromosom	1A	1B	1R	2A	2B	2R	3A	3B	3R	4A	4B	4R	5A	5B	5R	6A	6B	6R	7A	7B	7R	Razem	Średnio
MS 112	Liczba markerów S	41	63	66	66	59	40	61	69	79	32	34	28	61	71	60	63	32	87	80	23	55	1170	55.7
	Długość LG (cM)	82.2	119.6	76.0	140.6	60.96	59.89	135.0	137.6	141.6	106.7	92.72	108.0	156.8	111.9	78.9	107.4	83.4	178.7	153.9	77.67	83.47	2293.0	-
	Wysycenie markerami (cM)	2.00	1.89	1.15	2.12	1.03	1.49	2.21	1.99	1.79	3.33	2.72	3.85	2.5	1.57	1.31	1.70	2.60	2.05	1.92	3.37	1.52	-	2.10
MS 114	Liczba markerów S	47	60	24	67	81	45	40	39	15	19	18	17	52	46	57	16	48	21	60	42	35	849	40.4
	Długość LG (cM)	129.1	141.4	88.6	124.4	174.8	83.9	167.2	103.4	66.9	76.8	96.3	51.57	170.9	156.0	110.7	45.6	108.4	35.7	161.6	74.2	103.1	2270	-
	Wysycenie markerami (cM)	2.75	2.36	3.7	1.86	2.16	1.87	4.18	2.65	4.47	4.04	5.35	3.03	3.29	3.39	1.94	2.85	2.26	1.7	2.69	1.77	2.95	-	2.91
HT 352	Liczba markerów S	19	109	63	99	110	47	79	117	75	50	42	73	105	102	97	70	82	109	107	61	84	1700	81
	Długość LG (cM)	89.6	122.4	72.9	154.7	156.4	90.2	148.6	157.1	69.9	112.4	108.6	65.7	178.8	166.1	77.2	183.5	130.3	102.1	148.1	131.2	83.2	2549	-
	Wysycenie markerami (cM)	4.72	1.12	1.16	1.56	1.42	1.92	1.88	1.34	0.93	2.25	2.59	0.93	1.70	1.63	0.80	2.62	1.59	0.94	1.38	2.15	0.99	-	1.69
DB1xRB1	Liczba markerów S	17	47	18	21	42	26	28	43	5	39	5	19	43	22	33	19	47	33	35	65	8	615	29.3
	Długość LG (cM)	56.65	94.65	20.78	45.94	90.71	77.8	61.63	114.1	10.86	72.7	4.32	27.33	66.11	54.15	56.72	55.58	135.3	55.63	81.61	182.3	16.71	1381.6	-
	Wysycenie markerami (cM)	3.33	2.01	1.15	2.19	2.16	2.99	2.20	2.65	2.17	1.86	0.86	1.44	1.54	2.46	1.72	2.93	2.88	1.69	2.33	2.80	2.09	-	2.16
DB2xRB2	Liczba markerów S	47	60	24	67	81	45	40	39	15	19	18	17	52	46	57	16	48	21	60	42	35	849	-
	Długość LG (cM)	129.1	141.4	88.7	124.4	174.7	83.9	167.2	103.4	66.99	76.8	96.3	51.6	170.9	156.0	110.7	45.5	108.4	35.7	161.6	74.2	103.1	2270.7	-
	Wysycenie markerami (cM)	2.75	2.36	3.7	1.86	2.16	1.87	4.18	2.65	4.47	4.04	5.35	3.03	3.29	3.39	1.94	2.85	2.26	1.7	2.69	1.77	2.95	-	2.91

S-markery szkieletowe; LG – grupa sprzężeń (ang. Linkage group) -> grupy sprzężeń zostały przypisane do chromosomów pszenicy (genom A i B) na podstawie adnotacji Diversity Arrays Technology Pty Ltd. (Canberra, Australia) natomiast do chromosomów żyta (genom R) na podstawie homologii sekwencji markerów do kontigów żyta L7 (WGS contigs v2 database (<https://webblast.ipk-gatersleben.de/ryeselect/>))

- Mapowanie genetyczne poszczególnych populacji RIL z wykorzystaniem markerów silicoDARt i SNP umożliwiło konstrukcję grup sprzężeń reprezentujących poszczególne chromosomy pszenżyta.
- Długość otrzymanych map wahała się od 1381 cM (DB1xRB1) do 2549 cM (HT 352), a ich wysycenie od 1.69 markera/cM (HT 352) do 2.91 markera/cM (MS 114 i DB2xRB2).
- Biorąc pod uwagę, że opracowano mapy genetyczne uwzględniające każdy z chromosomów pszenżyta oraz odpowiednie wysycenie map, a także prawidłowy rozkład cechy w danej populacji możliwe było zlokalizowanie QTLi odpowiedzialnych za utrzymanie sterylności pyłku u pszenżyta z CMS *Tt*.

Charakterystyka QTL (ang. Quantitative Trait Loci) utrzymania sterylności pyłku u pszenżyta z CMS Tt

Rysunek 1. Wynik mapowania kompozytowego (CIM) ilustrujący występowanie QTLi w obrębie chromosomów pszenżyta populacji MS112 i HT352.

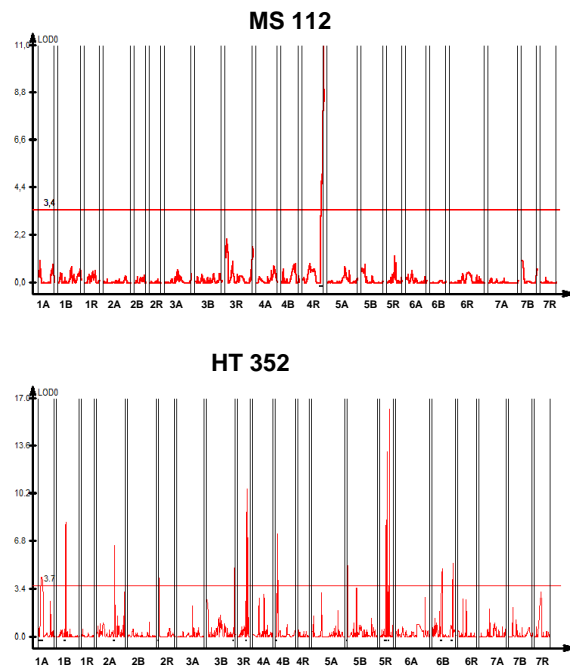


Tabela 2. Charakterystyka loci odpowiedzialnych za utrzymanie sterylności pyłku u pszenżyta.

Populacja	Chr	Pozycja max. LOD (cM)	Wartość max. LOD	R ² (%)	Wartość efektu addytywnego	Markery najsilniej sprzężone z cechą	Odległość markera od max. LOD (cM)
MS 112	4R	104.0	10.9	21.0	9.387	4347233	0.43
MS 114	2A	16.9	7.6	9.5	-7.897	10518139TG26	2.02
	2A	75.3	10.8	15.3	6.484	3047474CT52	1.00
	2A	110	5.6	6.8	-4.502	3045188TC18	0.10
	3B	94.8	15.4	32.2	-8.709	4351470	0.02
	4A	71.9	5.6	7.1	-4.481	3609786	1.99
	5A	95.2	11.7	19.2	6.911	3605158	0.02
	7A	7.3	4.3	4.9	3.515	3607641	0.00
	7R	33.9	5.0	5.9	-4.099	3612947AG6	0.04
HT 352	1A	15	4.2	8.8	-0.089	4544759	4.22
	1B	47.4	8.2	6.6	-0.077	4253609	0.02
	2A	94.9	6.5	5.5	-0.074	5041728GA50	0.03
	2R	0.0	4.2	3.2	0.053	10597858	0.01
	3B	148.7	4.9	3.8	0.097	8550565	0.03
	3R	48.2	10.5	8.8	-0.143	4342600	0.05
	4B	8.2	7.3	6.7	-0.157	33907924	0.03
	5B	1.0	5.0	17.8	0.138	5607554	1.00
	5R	32.8	8.4	6.8	0.150	3605423	0.03
	5R	37.9	13.3	11.6	-0.216	2359223	0.01
	5R	50.8	16.3	15.1	0.137	4220579	0.00
	6B	53.8	4.8	4.2	0.063	5619416	0.92
6B	110.8	5.3	11.7	0.100	3203353	2.19	
DB1xRB1	4A	20.5	6.2	32	-11.455	3610112TC11	0.20
DB2xRB2	1B	88.2	15.7	28	-12.810	3045331AG50	0.80
	6A	16.2	19.0	41	13,120	4205623	0.22

LOD – (ang. Logarithm of odds) test logarytmiczny określający pewność lokalizacji QTL w danym miejscu na chromosomie; R² (%) –procentowa wartość wytłumaczonej zmienności cechy

- Mapowanie kompozytowe utrzymania sterylności pyłku u pszenżyta wykazało obecność od jednego (MS 112 i DB1xRB1) do trzynastu (HT 352) loci odpowiedzialnych za ekspresję cechy w zależności od badanej populacji mapującej.
- Identyfikowane loci miały w większości niewielki udział w ekspresji cechy. Najwyższe wartości procentowe wytłumaczonej wariancji cechy odnotowano dla QTLi zlokalizowanych na chromosomach 4R (populacja MS112), 3B i 5A (populacja MS114), 5B (populacja HT352), 4A (populacja DB1xRB1) oraz 1B i 6A (populacja RB2xDB2).
- Otrzymane wyniki świadczą o silnym rozdrobieniu cechy, co może mieć negatywny wpływ na dobór markerów do jej selekcji. Dodatkowym utrudnieniem jest lokalizacja loci na różnych chromosomach w obrębie badanych populacji mapujących.

Mapowanie asocjacyjne

- Mapowanie asocjacyjne z zastosowaniem ogólnego modelu liniowego (GLM, ang. General Linear Model) umożliwiło identyfikację markerów SNP i silicoDArT, których stopień asocjacji z cechą utrzymania sterylności pyłku u pszenżyta z CMS *Tt* określany za pomocą współczynnika determinacji (R^2) dochodził do 0.232, 0.390 i 0.512 odpowiednio dla populacji MS112, HT352 oraz DB1xRB1.
- Nie stwierdzono istotnych asocjacji markerów z cechą w obrębie populacji MS114 i DB2xRB2.

Analiza bioinformatyczna sekwencji markerów sprzężonych i asocjowanych z cechą

- Analiza bioinformatyczna sekwencji markerów DNA sprzężonych i/lub asocjowanych z genami utrzymania sterylności pyłku u pszenżyta z CMS *Tt* wykazała, że przynajmniej część z sekwencji markerowych jest homologiczna do sekwencji genów.
- Najbardziej interesujące homologie odnotowano dla markerów sprzężonych z QTL zidentyfikowanym na chromosomie 4R w populacji MS112. Lokalizacja tego QTL oraz homologie sekwencji markerów zlokalizowanych w jego obrębie do sekwencji locus *Rfm1* (marker 8509657GC16) odpowiedzialnego za ekspresję cechy u jęczmienia oraz czynnika terminacji transkrypcji MTERF (3609466, 3611527, 4212596GC13, 4367303GA9, 10524573CT34, 4203434TC34) identyfikowanego u żyta i jęczmienia obok genów *Rf* (ang. Restoration of fertility) może świadczyć o obecności tożsamego locus w tej populacji pszenżyta.
- Liczne markery zlokalizowane w obrębie chromosomów 1B i 5R populacji HT352 (15996308_1B, 3608787_1B, 4356365_1B, 4368308_1B, 4217779_5R, 3606113_5R, 3613036_5R, 3608787_5R, 3614850CT23_5R) oraz 7A populacji MS114 (3607641, 3048200GC53, 3042068, 4218925) wykazywały homologie sekwencji z sekwencjami białek pełniących funkcje związane z sygnalingiem w ochronie roślin przed patogenami, jak również stresami abiotycznymi. Dodatkowo w obrębie QTL na chromosomie 5R identyfikowano cztery markery (4218144, 8521441, 10495679, 4217051) o sekwencjach homologicznych z sekwencją białka F-box biorącego udział w zamykaniu aparatów szparkowych. Rola tych genów w utrzymaniu sterylności pyłku u pszenżyta z CMS *Tt* nie jest znana.

Konwersja markerów SNP i SilicoDArT do warunków specyficznego PCR

- Analiza wyników mapowania genetycznego oraz asocjacyjnego cechy utrzymania sterylności pyłku u pszenżyta z CMS *Tt* pozwoliła na wybór markerów silnie sprzężonych lub asocjowanych z cechą, które po konwersji do warunków specyficznego PCR mogłyby być stosowane do wstępnej selekcji określonych QTLi. Wytypowano markery reprezentujące QTL zlokalizowane na chromosomach 4R (15) w populacji MS112, 2A (14), 5A (6), 7A (6) i 3B (12) w populacji MS114 oraz 1B (14) i 5R (12) w populacji HT352.
- We wstępnych badaniach mających na celu ustalenie temperatury przyłączania starterów do macierzowego DNA celem powielania markera w warunkach reakcji PCR (zakres temperatur 48-62°C) opracowano 6 markerów, które różnicowały po dwie linie populacji MS112 nie zawiązujące ziarniaków (sterylne) oraz zawiązujące ponad 70 ziarniaków w kłosie (płodne). Podobna analiza dla wybranych linii populacji HT352 pozwoliła na wytypowanie 4 markerów polimorficznych zlokalizowanych w obrębie QTL na chromosomie 1B i taką samą ilość dla QTL zlokalizowanego na chromosomie 5R.
- Analiza segregacji markerów zlokalizowanych na 4R w obrębie wszystkich linii populacji MS112 wykazała, że 3 markery (4558515c, 8510873c, 4349378c) segregują identycznie jak ich odpowiedniki przed konwersją. Żaden z markerów sprzężonych z QTLami lokalizowanymi na chromosomach 1B i 5R populacji HT352 nie powtarzał segregacji swojego odpowiednika przed konwersją.
- Ocena segregacji markerów zlokalizowanych na chromosomach 4R (MS112), 1B (HT352) i 5R (HT352) uzyskanych w wyniku konwersji do warunków specyficznego PCR w pozostałych populacjach mapujących wykazała, że jedynie marker 4558515c_4R segregował w obrębie populacji HT352. Nie wykazano jednak jego istotnej korelacji z cechą. Markery 8510873c_4R, 4349378c_4R oraz 3606113_5R generowały szereg trudnych do odczytania na żelach agarozowych sygnałów. Pozostałe markery generowały monomorficzne sygnały.
- Nie wykazano istotnych korelacji z cechą markerów 16330732, 10509016TG13, 4558515 oraz 4349378 generujących pojedyncze, polimorficzne sygnały w obrębie materiałów sterylnych i płodnych dostarczonych przez Hodowców. Taki wynik może być spowodowany brakiem odpowiednich alleli w obrębie materiałów roślinnych dostarczonych przez Hodowców.
- W przypadku populacji MS114 testy zostaną wykonane w drugiej połowie grudnia ze względu na opóźnienia syntezy starterów spowodowane COVID-19

Osiągnięcia projektu:

- Opracowano mapy genetyczne żyta, które mogą zostać wykorzystane do mapowania licznych cech użytkowych.
- Zidentyfikowano liczne QTL utrzymania sterylności pyłku u pszenżyta z CMS *Tt* lokalizujące się na różnych chromosomach gatunku. Występowanie poszczególnych QTLi było różne w obrębie badanych populacji mapujących. Najsilniejsze QTL lokalizowały się na chromosomach 4R (populacja MS112), 3B i 5A (populacja MS114), 5B (populacja HT352), 4A (populacja DB1xRB1) oraz 1B i 6A (populacja RB2xDB2). Mapowanie asocjacyjne potwierdziło obecność silnego QTLa cechy na chromosomach 4R w populacji MS112 oraz 4A w populacji DB1xRB1.
- Konwersja markerów silicoDArT i SNP do warunków specyficznego PCR umożliwiła opracowanie trzech markerów (4558515c, 8510873c, 4349378c) segregujących identycznie jak ich niekonwertowane odpowiedniki w obrębie populacji MS112. Markery te są sprzężone z QTL na chromosomie 4R. Markery względem QTL na 4R mogą być wykorzystane w selekcji wstecznej.
- W przypadku szerszej puli genowej konwertowane markery nie wykazywały korelacji z cechą. Może to sugerować, że identyfikowany w obrębie populacji MS112 allel występuje rzadko w puli genowej materiałów hodowlanych gatunku występujących w Polsce. Biorąc pod uwagę QTL na 4R, jego identyfikacja może mieć istotne znaczenie dla wyprowadzenia nowych form heterozyjnych gatunku.
- Na podstawie homologii sekwencji markerów zlokalizowanych w obrębie QTL na 4R w populacji MS112 zasugerowano, że może on być tożsamy z QTL przywracania płodności pyłku u żyta z CMS Pampa.
- Złożono projekt w ramach Postępu Biologicznego w Produkcji Roślinnej finansowanego przez MRiRW będący rozwinięciem dotychczasowych badań dotyczących wykorzystania cytoplazmatycznej męskiej sterylności u pszenżyta (ze skutkiem negatywnym).

Publikacje naukowe:

Wasiak M, Niedziela A, Woś H, Pojmaj M, Bednarek PT (2020) Genetic mapping of male sterility, pollen fertility QTLs in triticale with sterilizing *Triticum timopheevii* cytoplasm. Journal of Applied Genetics DOI: 10.1007/s13353-020-00595-z **IF = 2.027** (2019); **MEiN = 70 pkt**

Doniesienia konferencyjne:

Wasiak, M., Niedziela, A., Bednarek, P.T. „Molecular mapping of the sterility QTLs regions for Timopheevii cytoplasmic male sterility in triticale.” Global Conference on Plant Science and Microbial Ecology, 17-19.06.2019, Walencja, Hiszpania. Materiały konferencyjne: str. 13.

Szeląg, M., Niedziela, A., Bednarek, P.T., Woś, H., Woś, J. ”Genetic mapping and QTLs analysis of pollen sterility in triticale with *Triticum timopheevii* sterilizing cytoplasm.” International Association for Plant Biotechnology Congress, 19-24.08.2018, Dublin, Irlandia, In Vitro Cellular and Developmental Biology 54/1: S90/P89.

Szeląg, M., Grzesik, A., Woś, H., Mańkowski, D., Bednarek, P.T. „Genetic map of triticale based on DArTseq and silicoDArT markers and RIL6 mapping population.” 8th International Triticeae Symposium 2017, 12.06.2017-16.06.2017, Wernigerode, Niemcy. Materiały konferencyjne: str. 144.

Szeląg, M., Grzesik, A., Siekiera, A., Woś, H., Bednarek, P.T. „Putative pollen sterility QTLs in triticale with CMS Tt.” 8th International Triticeae Symposium 2017, 12.06.2017-16.06.2017, Wernigerode, Niemcy. Materiały konferencyjne: str. 146

Szeląg, M., Niedziela, A., Pojmaj, M., Bednarek, P.T. ”Markers towards pollen sterility genes in triticale with CMS Tt.” 9th International Triticale Symposium, 23-27.05.2016, Szeged, Węgry, Materiały konferencyjne: str. 28.

Jarska, W., Niedziela, A., Ogórek, K., Woś, H., Bednarek, P.T. ”Mapowanie ilościowe genów utrzymania sterylności pyłku u pszenżyta z cms Tt.” XII Ogólnopolska Konferencja Naukowa „Nauka dla hodowli i nasiennictwa roślin.”, 02-06.02.2015, Zakopane, Materiały konferencyjne: str. 182-183.

Bednarek, P.T., Niedziela, A., Jarska, W., Woś, H., Pojmaj, M. ”Genetic mapping of triticale with SNP markers.” International Conference EUCARPIA Cereals Section, “Cereals for Food, Feed and Fuel-Challenge for Global Improvement.”, 29.06-04.07.2014 Wernigerode, Niemcy, Materiały konferencyjne: str. 307.