

BADANIA PODSTAWOWE NA RZECZ POSTĘPU BIOLOGICZNEGO W PRODUKCJI ROŚLINNEJ.

*Wyniki badań uzyskane w 2011 roku w tematach szczegółowych wg
Załącznika nr 14 Rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia
13 kwietnia 2007r. (Dz.U.Nr 67, poz. 446, z 2008r. Nr 102 poz. 654 i Nr 146
poz. 930, z 2009r. Nr 76, poz. 648 oraz z 2010r. Nr 91 poz. 595 i Nr 259 poz.
1772)*

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 3.

Tytuł projektu: Badania nad zwiększeniem odporności pszenicy i obniżeniem skażenia ziarna mikotoksynami fuzaryjnymi poprzez identyfikację i wykorzystanie genetycznych źródeł odporności na fuzariozę kłosów.

Kierownik projektu: *dr T. Góral*

Materiały:

- 132 genotypy pszenicy ozimej o zróżnicowanym podłożu genetycznym
- wzorce: wysoko plonujące odmiany KWS Ozon (średnio podatna), Muszelka (podatna), Tonacja (odporna)
- 35 genotypów pszenicy ozimej wybranych z doświadczeń prowadzonych w latach 2007–2010.

Metodyka:

Obiekty wysiane zostały w trzech powtórzeniach w dwóch doświadczeniach polowych w Radzikowie. Materiałem infekcyjnym była mieszanina 3 izolatów *Fusarium culmorum*, wytwarzających deoksyniwalenol, niwalenol oraz zearalenon. Pszenica inokulowana była przez oprysk kłosów zawiesiną zarodników o stężeniu ok. 5×10^5 zarodników/ml w okresie pełni kwitnienia. Wykonano 3 inokulacje wszystkich obiektów w odstępach 2-dniowych. Po około 3 tygodniach od inokulacji przeprowadzono ocenę nasilenia fuzariozy kłosów. Określano występowanie fuzariozy kłosów (liczba kłosów porażonych na poletku) oraz porażenie kłosa. Mierniki te posłużyły do wyliczenia indeksu fuzariozy kłosów (IFK) oznaczającego udział porażonych kłosków w ogólnej liczbie kłosków na poletku. Wykonano pomiary wysokości roślin. Po zbiorze kłosów oznaczono stopień uszkodzenia ziarniaków przez *Fusarium* (FDK).

Analizowano zawartość mikotoksyn fuzaryjnych w ziarnie. Zearalenon (ZEA) oznaczano za pomocą ilościowego testu immunoenzymatycznego AgraQuant® ZON. Trichoteceny grupy B (deoksyniwalenol [DON], 3-acetyldeoksyniwalenol [3AcDON], 15-acetyl deoksyniwalenol [15AcDON], niwalenol [NIV]) były analizowane przy wykorzystaniu techniki chromatografii gazowej.

Wyniki:

Doświadczenie infekcyjne w IHAR Radzików

Średnie nasilenie fuzariozy kłosów badanych genotypów pszenicy ozimej wynosiło 19,1%. Zakres zmienności cechy mieścił się w granicach 3,0-40,0%. W pierwszym doświadczeniu było to średnio 20,3% (zakres zmienności cechy 6,7-40,0%), w drugim doświadczeniu 17,9% (zakres zmienności cechy 3,0–37,3). Do grupy najbardziej odpornych na porażenie kłosa należało 6 genotypów. Najbardziej podatne było 5 genotypów i odmiana Muszelka.

W ziarnie badanych genotypów stwierdzono znaczne ilości zearalenonu (ZEA). Średnio było to 923 ppb (około 1 mg/kg), czyli 10 razy więcej niż najwyższy dopuszczalny poziom (100 ppb). Zmienność zawartości ZEA był duża, w zakresie od 100 ppb do 3588 ppb.

Termin kwitnienia nie korelował z nasileniem fuzariozy kłosów. Zmienność tej cechy była niska. Większość genotypów osiągała pełnię kwitnienia w przeciągu 3 dni (5-7 czerwca). Współczynnik korelacji wysokości roślin i nasilenia fuzariozy kłosów były istotny i przyjmował wartość ujemną. Współczynnik determinacji ($R^2 = 8,8\%$) był jednakże niski. Wyróżniały się genotypy o wysokości poniżej 74 cm, dla których nasilenie fuzariozy kłosów wynosiło powyżej 20%. Dla pozostałych genotypów zmienność fuzariozy kłosów mieściła się w szerokim zakresie od 3,0 do 40,0%. Zawartość zearalenonu w ziarnie istotnie korelowała z nasileniem fuzariozy kłosów. Część genotypów pomimo silnego porażenia kłosa akumulowała małe ilości ZEA.

Doświadczenia infekcyjne w kilku lokalizacjach

Odporność 138 genotypów pszenicy ozimej badano dodatkowo w doświadczeniach polowych w 6 punktach doświadczalnych: Dębina (woj. pomorskie), Kobierzycy (woj. dolnośląskie), Nagradowice (woj. wielkopolskie), Smolice (woj. wielkopolskie), Strzelce (woj. łódzkie), Szelejewo (woj. wielkopolskie). Zastosowano ten sam zestaw izolatów *F. culmorum* co w Radzikowie. Metodyka inokulacji była zbliżona. Określano procentowy indeks fuzariozy kłosów (Dębina, Strzelce) lub odporność w skali 9° (Kobierzycy Nagradowice, Szelejewo Smolice). Wyniki w skali 9° zostały przetransformowane do skali procentowej.

Średnie nasilenie fuzariozy kłosów wyniosło w Szelejewie 7,5%; w Dębiniu 18,2%; w Kobierzycach 25,1%, w Strzelcach 23,9%, w Nagradowicach 29,3%; w Smolicach 41,6%. Stwierdzono duże zróżnicowanie podatności badanych genotypów. Znalaziono genotypy odporne o stabilnej reakcji we wszystkich (lub większości) lokalizacjach. Obserwowano również stabilną podatność niektórych genotypów. Mimo znacznych różnic warunków pogodowych, w których prowadzono doświadczenia stwierdzono dużą zgodność uzyskanych wyników. Najwyższe współczynniki uzyskano dla korelacji wyników z Radzikowa z wynikami z Dębiny i Strzelce. Najslabsza zależność wystąpiła między wynikami z Radzikowa i wynikami z Nagradowic i Szelejewa. Poza tym wysokie były współczynniki korelacji między Kobierzycami i Szelejewem oraz Nagradowicami. Najslabiej korelowały z pozostałymi wyniki z Nagradowic i Szelejewa, gdzie wystąpiły w największym nasileniu problemy z suszą i nierównomiernymi opadami.

Wybór genotypów o najwyższej odporności do badań szczegółowych

Na podstawie zestandaryzowanych wyników oceny fuzariozy kłosów w 8 punktach doświadczalnych oraz danych dotyczących plonowania wybrano 30 genotypów do analiz zawartości mikotoksyn. Genotypy te wykazywały wysoką stabilność reakcji w wszystkich środowiskach. Dołączono do badań 3 odmiany wzorcowe (KWS Ozon, Muszelka, Tonacja) oraz dwa genotypy o najwyższej podatności.

Analizy komponentów (typów) odporności wybranych genotypów

Fuzarioza kłosów wybranych 35 genotypów wynosiła średnio 15,2% (bez wzorców i 2 genotypów podatnych – 13,6%). Zakres zmienności od 3,0% do 34,7% (bez wzorców i 2 genotypów podatnych – od 3,0% do 21,0%). Uszkodzenie ziarniaków przez *Fusarium* wyniosło średnio 38,2%. Zakres zmienności cechy 17,5–62,0%. Zmienność ta była niższa niż dla fuzariozy kłosów (współczynniki zmienności odpowiednio 41,8% i 25,8%). Część genotypów o wysokiej odporności typów 1+2 wykazała silne uszkodzenie ziarniaków (niska odporność typu 3).

Analiza chromatograficzna trichotecen B wykazała niską zawartość DON w ziarnie (średnio 0,755 ppm). Wyższa była zawartość NIV – średnio 0,996 ppm. Stwierdzono jedynie śladową obecność acetylowych pochodnych DON – 3AcDON, 15AcDON.

Zawartość DON była niższa niż dopuszczalny limit dla infekcji naturalnej wynoszący 1,250 ppm. Wartość tą przekroczyły jedynie 3 genotypy. Dwa pierwsze charakteryzowały się silnym uszkodzeniem ziarniaków, natomiast trzeci wykazywał się odpornością zarówno typów 1+2 oraz typu 3. Może to wskazywać na wysoką odporność typ 4 (tolerancja na fuzariozę kłosów lub na DON) u tego genotypu. Podobną odporność można zaobserwować u 3 innych genotypów (wysoka zawartość NIV). Wyniki badań (Lemmens i in., Cereal Res. Commun. 2008) wskazują, że NIV ma podobny udział w patogenezie fuzariozy kłosów jak DON. Można, więc obie toksyny rozpatrywać łącznie jako sumę trichotecen. Istnienie odporności typu 4 jest cechą niekorzystną, ponieważ stwarza zagrożenie skażeniem ziarna DON-em mimo braku objawów silnego porażenia kłosów i ziarniaków lub spadków plonu. Przeciwnie zjawisko obserwowano u 4 innych genotypów, które mimo silnego uszkodzenia ziarniaków (niska odporność typu 3) akumulowały małe ilości trichotecen. Genotypom tym można przypisać odporność typu 5, czyli odporność na akumulację DON (NIV). Odporność ta zabezpiecza przed skażeniem ziarna mikotoksynami, jednakże przy silniejszej infekcji może mieć niekorzystny wpływ na wielkość i jakość (duża liczba uszkodzonych ziarniaków) plonu ziarna. Małe ilości trichotecen akumulowały 4 genotypy. Równocześnie charakteryzowały się one wysoką odpornością na infekcję kłosa i uszkodzenie ziarniaków. Dwa inne genotypy również akumulowały małe ilości trichotecen, jednakże miały mniejszą odporność na porażenie kłosa (pierwszy) i ziarniaków (oba).

Analiza testem AgraQuant wykazała wysoką zawartość ZEA w ziarnie badanych genotypów. Średnio było to 888 ppb. Zakres zmienności cechy od 111 ppb do 3006 ppb. Dopuszczalny limit ZEA w przypadku infekcji naturalnych wynosi 100 ppb. Spośród genotypów o niskiej akumulacji trichotecen najmniej ZEA akumulowało 7 genotypów. Znaczne ilości ZEA akumulowały natomiast 2 genotypy odporne na akumulację trichotecen.

Ze względu na złożoność odporności na fuzariozę kłosów uzyskane wyniki poddano statystycznej analizie składowych głównych. Pozwoliło to na wyróżnienie genotypów kumulujących wysoką odporność wszystkich typów.

Nasilenie fuzariozy kłosów korelowało istotnie dodatnio z uszkodzeniem ziarniaków. Brak było korelacji z zawartością trichotecen (DON, NIV) w ziarnie. Istotny był natomiast współczynnik korelacji fuzariozy kłosów z zawartością ZEA. Uszkodzenie ziarniaków nie korelowało z zawartością DON. Współczynnik korelacji z zawartością NIV był istotny. Uszkodzenie ziarniaków (FDK) korelowało istotnie z zawartością ZEA, jednakże wartość współczynnik była niższa niż dla fuzariozy kłosów. Może to wynikać z różnic w metabolizmie trichotecen i zearalenonu, który nie ma bezpośredniego udziału w patogenezie fuzariozy kłosów. Brak korelacji FDK vs. DON wynikał z nietypowej reakcji kilku genotypów, które akumulowały niskie ilości DON mimo silnego uszkodzenia ziarna lub duże ilości DON mimo słabego uszkodzenia ziarniaków.

Bardzo niska ogólna zawartość DON w ziarnie pszenicy mogła wiązać się z występowaniem bardzo intensywnych krótkotrwałych opadów deszczu, przeplatanych okresami suszy przed zbiorami kłosów. Opady te mogły spowodować wypłukiwanie rozpuszczalnego w wodzie DON-u z kłosów. Jest to jedynie hipoteza, jednakże znajduje poparcie w opublikowanych ostatnio wynikach badań (Gautam i Dill-Macky, Mycotoxin Research 2011).

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 4.

Tytuł projektu: Poszukiwanie, tworzenie, ocena i gromadzenie źródeł odporności na septoriozę liści i plew u pszenicy (czynnik *Stagonospora nodorum*).

Kierownik projektu: prof. dr hab. E. Arseniuk

Prace realizowano w laboratoriach i na polach Pracowni Hodowli Odpornościowej IHAR w Radzikowie, a także w trzech punktach doświadczalnych w terenie.

Materiałami roślinnymi użytymi do wytworzenia linii DH pokoleń R₀–R₃ w 2011 r. było 160 rekombinacyjnych linii mieszańców F₁ pszenicy. Z pośród linii DH, z których uzyskano powyżej 100 ziarniaków, 90 ziarniaków pozostawiono w PHR Zakładu Fitopatologii IHAR-Radzików i wysiano jesienią 2010r. Doświadczenie wykonano w czterech powtórzeniach. Poletka inokulowano 3-krotnie w ciągu sezonu zawiesiną zarodników *S. nodorum*. Poletka kontrolne chroniono Tiltiem 250 EC (0,1% s.a. – propikonazol). Cechy oceniane w doświadczeniu to: wczesność roślin, wysokość roślin oraz wielkość porażenia w skali od 1 do 9 (gdzie 1 oznacza rośliny podatne, a 9 odporne). Stopień porażenia liści oceniano sześciokrotnie natomiast plew kłosów pięciokrotnie w tygodniowych odstępach czasu aż do zamierania roślin.

Wyniki fenotypowej analizy odporności badanych obiektów pszenicy ozimej na *S. nodorum*:

W żadnym z doświadczeń nie znaleziono linii charakteryzujących się skrajnymi reakcjami, tj. całkowitą odpornością, bądź podatnością na porażenie patogenem, zarówno w przypadku liści jak i plew.

Wyniki fenotypowej analizy odporności doświadczenia wstępnego pszenicy pierwszej serii:

W opisie wyników doświadczenia wstępnego z rodami pszenicy ozimej zakwalifikowanymi do **serii I** należy podkreślić, że wśród testowanych rodów nie zidentyfikowano żadnego, który odpornością liści przewyższałby najodporniejszą odmianę wzorcową (w tym przypadku TONACJA), aczkolwiek jeden z rodów osiągnął ocenę równorzędną. Z kolei dwadzieścia osiem rodów charakteryzowało się odpornością plew istotnie wyższą od odmiany wzorcowej TONACJA.

Wyniki fenotypowej analizy odporności doświadczenia wstępnego pszenicy drugiej serii:

W opisie wyników doświadczenia wstępnego z rodami pszenicy ozimej zakwalifikowanymi do **serii II** należy podkreślić, że zidentyfikowano 10 rodów charakteryzujących się odpornością liści wyższą w porównaniu z odmianami wzorcowymi. Podobnie, siedemnaście rodów wykazało odporność plew wyższą od wzorców.

Wyniki fenotypowej analizy odporności linii DH pokolenia R₁ (I rok doświadczenia):

Jedna z linii DH (DH420/22/2) pokolenia R₁ charakteryzowała się wyższą odpornością liści w porównaniu z odmianami wzorcowymi, dwie linie DH wykazały odporność liści na poziomie wzorca Muszelka. Osiem linii DH charakteryzowało się odpornością plew wyższą od odmian wzorcowych.

Wyniki fenotypowej analizy odporności linii DH pokolenia R₂ (II rok doświadczenia):

Pod względem porażenia liści przez *S. nodorum* żadna z linii DH pokolenia R₂ nie okazała się istotnie odporniejsza od odmian wzorcowych. Osiem linii charakteryzowało się odpornością plew wyższą niż odmiany wzorcowe.

Wyniki fenotypowej analizy odporności linii DH pokolenia R₃ (III rok doświadczenia):

Z pośród badanych linii DH pokolenia R₃, żadna linia nie okazała się odporniejsza na *S. nodorum* niż odmiany wzorcowe, zarówno pod względem odporności liści jak i odporności kłosów.

Wyniki fenotypowej analizy odporności linii DH pokolenia R₀ z wysiewu ręcznego:

Z pośród badanych linii DH pokolenia R₀ trzy linie charakteryzowały się odpornością liści równorzędną odmianom wzorcowym. Dwie linie DH charakteryzowały się odpornością plew

nieznacznie wyższą od odmiany wzorcowej TONACJA.

W podsumowaniu badań linii DH pszenicy ozimej należy wskazać na niskie wartości współczynników korelacji Pearsona. Istotność statystyczna tych czynników wynika z wysokiej liczby stopni swobody. Niemniej jednak należy zauważyć zarysowującą się zależność odporności plew na *S. nodorum* od wysokości rośliny.

Obserwacje wykonane w ramach obcych usług badawczych.

Wyniki fenotypowej analizy odporności obiektów pszenicy ozimej z DW I i II serii:

Szereg linii charakteryzowało się wyższą odpornością liści w porównaniu z odmianami wzorcowymi. Współczynniki korelacji Pearsona dają podstawę do stwierdzenia, że warunki środowiska istotnie modyfikowały odporność badanych obiektów na *S. nodorum*.

Wnioski:

- Wśród testowanych, licznych obiektów doświadczenia wstępnego oraz linii DH pszenicy ozimej tylko nieliczne dorównywały odpornością odmianom wzorcowym, a pojedyncze na poziomie statystycznie istotnym przekraczały próg odporności najodporniejszego wzorca.
- Uzyskano linie pszenicy ozimej odporniejsze na *S. nodorum* pod względem odporności liści i plew od krótkosłomej wzorcowej odmiany Muszelka, a także dwóch pozostałych wzorców Tonacja i KWS Ozon. Niemniej, uzyskanie linii o podwyższonej odporności na *S. nodorum* zarówno w hodowli rekombinacyjnej, jak i z wykorzystaniem androgenezy wymaga ciągłej pracy wynikającej także z faktu wprowadzania nowych, uszlachetnionych genetycznie, odporniejszych na choroby, w tym na septoriozę liści i plew wzorców.
- Uzyskane wyniki potwierdzają że wprowadzenie techniki podwojonych haploidów rozszerza zmienność genetyczną, a tym samym zwiększa szanse uzyskania linii o wyższej odporności na *S. nodorum* w porównaniu z hodowlą prowadzoną tradycyjnymi metodami.
- Prowadzenie obserwacji w różnych punktach doświadczalnych na terenie kraju, ujawniło wpływ warunków środowiska na poziom odporności testowanych obiektów na *S. nodorum*.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 5.

Tytuł projektu: Piramidowanie efektywności genów odporności na mączniaka prawdziwego (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*) i rdzę brunatną (*Puccinia tritici*) w pszenicy ozimej.

Kierownik projektu: prof. dr hab. H.J. Czembor

ZADANIE 1. Piramidowanie efektywnych genów odporności.

Zakres prac realizowanych w bieżącym roku roku:

Identyfikowanie łączne czterech genów odporności, w następujących połączeniach: (Lr41 + Pm21 + Lr47) oraz (Lr41 + Pm21 + Pm37).

Materiały i metody:

Jako źródło odporności na rdzę brunatną wykorzystano linię KS90WGRC10 z dominującym genem Lr41 pochodzącym z diploidalnej dzikiej pszenicy *Triticum tauschii* (syn. *Aegilops tauschii*, *Aegilops squarrosa*). Linia KS90WGRC10 została wyprowadzona przez Uniwersytet w Kansas (Wheat Genetic and Genomic Resources Center).

Drugie źródło odporności na rdzę brunatną stanowiła linia HRS Yecora Rojo (linia UC996610010) – Lr47 pochodzącą z *Triticum speltoides* z rodzaju kozieniec. Linia została

wyprowadzona przez Uniwersytet w Kalifornii (Department of Agronomy and Range Science University of California).

Jako źródło odporności na mączniaka zastosowano linię translokowaną 6VS/6AL Yangmai5 z dominującym genem Pm21 pochodzącym od *Dasyphyrum villosum* (syn. *Haynaldia villosa*). Linia Yangmai5 została wyprowadzona przez Uniwersytet w Kansas (Wheat Genetic and Genomic Resources Center).

Drugie źródło odporności na mączniaka prawdziwego stanowiła linia wyprowadzona przez USDA (United States Department of Agriculture) z genem odporności na mączniaka prawdziwego Pm37 pochodzącym z *Triticum timopheevii* subsp. *armeniacum*.

W 2011 prace badawcze prowadzono na czterech populacjach mieszańcowych:

- BIO2 {((Nadobna × Lr41) × (Nadobna × Pm21) × Nadobna) × Nadobna} × Lr47
- BIO4 {((Bogatka × Lr41) × (Bogatka × Pm21) × Bogatka) × RAH979} × Lr47
- BIO4 {((Bogatka × Lr41) × (Bogatka × Pm21) × Bogatka) × RAH979} × Pm37
- BIO8 {((Bogatka × Lr41) × (Bogatka × Pm21) × Lexus) × Meteor} × Pm37

Dawcami wysokiej wartości gospodarczej są odmiany pszenicy ozimej, jednak nadal podatne na populację rdzy brunatnej i mączniaka prawdziwego występujące w Polsce: Nadobna, Bogatka, Lexus, RAH979, Meteor. Badany materiał roślinny w 2011 roku uprawiano w warunkach kontrolowanych w szklarni oraz fitotronie.

Do selekcji materiału roślinnego pod kątem obecności wprowadzonych kombinacji genów odporności: (Lr41 + Pm21 + Lr47) oraz (Lr41 + Pm21 + Pm37) wykorzystano następujące markery molekularne:

- Gen Lr41: Gdm35, Gwm210, Barc124, Gwm261 oraz Gwm296.
- Gen Lr47: (PCAPSR+PS10L+PS10L2), Gwm60.
- Gen Pm21: NAU/xibao.
- Gen Pm37: Gwm332, Wmc790, STSBE406627.

Do oceny materiału roślinnego w teście fitopatologicznym pod kątem odporności na rdzę brunatną oraz mączniaka prawdziwego wykorzystano zestaw izolatów różnicujących.

Zakres oraz wyniki zrealizowanych prac w 2011 roku:

Wyniki dla populacji BIO2 {((Nadobna × Lr41) × (Nadobna × Pm21) × Nadobna) × Nadobna} były zamieszczone w sprawozdaniu w 2010 roku. Na podstawie otrzymanych wyników wybrano w 2011 roku trzy rośliny (nr 68, 70, 78) z (Lr41 + Pm21), które zostały skrzyżowane ze źródłem odporności na rdzę brunatną – linią z genem Lr47. Otrzymano F₁ {((Nadobna × Lr41) × (Nadobna × Pm21) × Nadobna) × Nadobna} × Lr47 w liczbie 62 roślin. Przeprowadzono ocenę fenotypową oraz molekularną. Do kolejnego etapu badań, wybrano rośliny, zawierające w jednym genomie następujący zestaw genów jednocześnie (Lr41 + Pm21 + Lr47) oraz według oceny fenotypowej były odporne. Na podstawie uzyskanych wyników ze wszystkich analizowanych roślin do kolejnego etapu badań wybrano 5 roślin.

Dla populacji BIO4 {((Bogatka × Lr41) × (Bogatka × Pm21) × Bogatka) × RAH979} przeprowadzono selekcję fenotypową oraz molekularną. Na podstawie otrzymanych wyników, do kolejnego etapu badań wyselekcjonowano trzy rośliny (1440, 1444, 1446) z (Lr41 + Pm21), które następnie skrzyżowano z liniami z genem Lr47 albo z genem Pm37. W wyniku tego krzyżowania otrzymano dwie populacje mieszańcowe: BIO4 {((Bogatka × Lr41) × (Bogatka × Pm21) × Bogatka) × RAH979} × Lr47 w liczbie 15 ziarniaków oraz BIO4 {((Bogatka × Lr41) × (Bogatka × Pm21) × Bogatka) × RAH979} × Pm37 w liczbie 115 ziarniaków. Dla populacji BIO4 × Lr47 przeprowadzono ocenę fitopatologiczną oraz ocenę molekularną. Natomiast dla populacji BIO4 × Pm37 przeprowadzono selekcję molekularną (test fitopatologiczny – zostanie zrealizowany w 2012 roku). Do kolejnego etapu badań, wybrano lub zostaną wybrane rośliny, zawierające jednocześnie w jednym genomie, następujący blok (segment) odpornościowy: (Lr41 + Pm21 + Lr47) oraz (Lr41 + Pm21

+ Pm37). Do kolejnego etapu badań dla populacji BIO4 × Lr47 wybrano 2 rośliny. Natomiast dla populacji BIO4 × Pm37 według oceny molekularnej blok odpornościowy (Lr41 + Pm21 + Pm37) ma 60 roślin.

Dla populacji BIO8 {((Bogatka × Lr41) × (Bogatka × Pm21) × Lexus) × Meteor} przeprowadzono selekcję fenotypową oraz molekularną. Na podstawie otrzymanych wyników, do kolejnego etapu badań wyselekcjonowano trzy rośliny (760, 761, 762) z (Lr41 + Pm21), które następnie skrzyżowano ze źródłem odporności na mączniaka prawdziwego - linią Pm37. W wyniku tego krzyżowania otrzymano populację mieszańcową BIO8 {((Bogatka × Lr41) × (Bogatka × Pm21) × Lexus) × Meteor} × Pm37 w liczbie 193 ziarniaków. Przeprowadzono selekcję molekularną, jednak na podstawie uzyskanych wyników nie wyselekcjonowano żadnych roślin zawierających jednocześnie w genomie segment odpornościowy: (Lr41 + Pm21 + Pm37). Prace będą kontynuowane.

Badany materiał roślinny uprawiano w 2011 roku w warunkach polowych na poletku doświadczalnym w Radzikowie (IHAR-PIB) oraz w warunkach kontrolowanych w fitotronie.

Dyskusja:

Proces wprowadzania kilku efektywnych genów odpornościowych do jednego genomu jest procesem długotrwałym. Piramidowanie genów odporności do jednego genotypu, w znaczącym stopniu przyczynia się do otrzymywania odmian o trwalszej w czasie odporności na szerokie spectrum ras patogena(ów). Kumulacja różnych, efektywnych genów odpornościowych na ważne z punktu widzenia rolniczego choroby jest obecnie metodą powszechnie stosowaną w programach hodowlanych. Stosując nowoczesne i szybkie metody selekcji materiału roślinnego (selekcja molekularna w połączeniu z selekcją molekularną) można skutecznie wzbogacić europejską plazmę zarodkową pszenic o nowe geny odporności na patogeny. Na podstawie przeprowadzonych badań, otrzymano rośliny zawierające segment odpornościowy składający się z czterech genów odpornościowych. W 2012 roku planuje się kontynuować rozpoczęte prace.

ZADANIE 2. Poszukiwanie nowych źródeł odporności.

W warunkach kontrolowanych oceniono odporność, wg. danych literaturowych nowego i efektywnego źródła odporności na mączniaka prawdziwego – genu Pm37.

Materiały i metody:

Materiał do badań stanowiły odmiany pszenicy ozimej, linie z genami Lr oraz linia Pm37 oraz linia z genem Pm21. Ocenę dokonano przy użyciu izolatów o różnym spektrum wirulencji na tle odmian oraz linii testowych. Przeprowadzono test fitopatologiczny. Na dwa użyte izolaty, o odmiennej patogeniczności: Bgt28 oraz Bgt12, linie z genem Pm37 oraz Pm21 wykazały wysoką odporność. Można wstępnie przyjąć, iż gen Pm37 oraz Pm21 mogą być wykorzystywane, jako źródła odporności na mączniaka prawdziwego w hodowli odpornościowej pszenicy.

Prace będą kontynuowane.

ZADANIE 3. Ocena linii w różnych środowiskach.

Materiały i metody:

Materiał badawczy stanowiły populacje mieszańcowe. Doświadczenie przeprowadzono w warunkach polowych na poletku doświadczalnym w Radzikowie.

Zakres zrealizowanych prac:

Na poletku doświadczalnym w Radzikowie, przeprowadzono selekcję materiału roślinnego pod kątem odporności na mączniaka prawdziwego i rdzę brunatną oraz pod kątem innych korzystnych cech z punktu widzenia rolniczego. Wzorce stanowiły dwie odmiany: Muszelka oraz Bagou.

Z 9 populacji mieszańcowych wyselekcjonowano linie pszenicy F5 (Lr41+ Pm21).

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 6.

Tytuł projektu: Badania nad przydatnością strategii opartej o markery molekularne do wprowadzenia *loci* cech ilościowych i jakościowych do pszenicy ozimej.

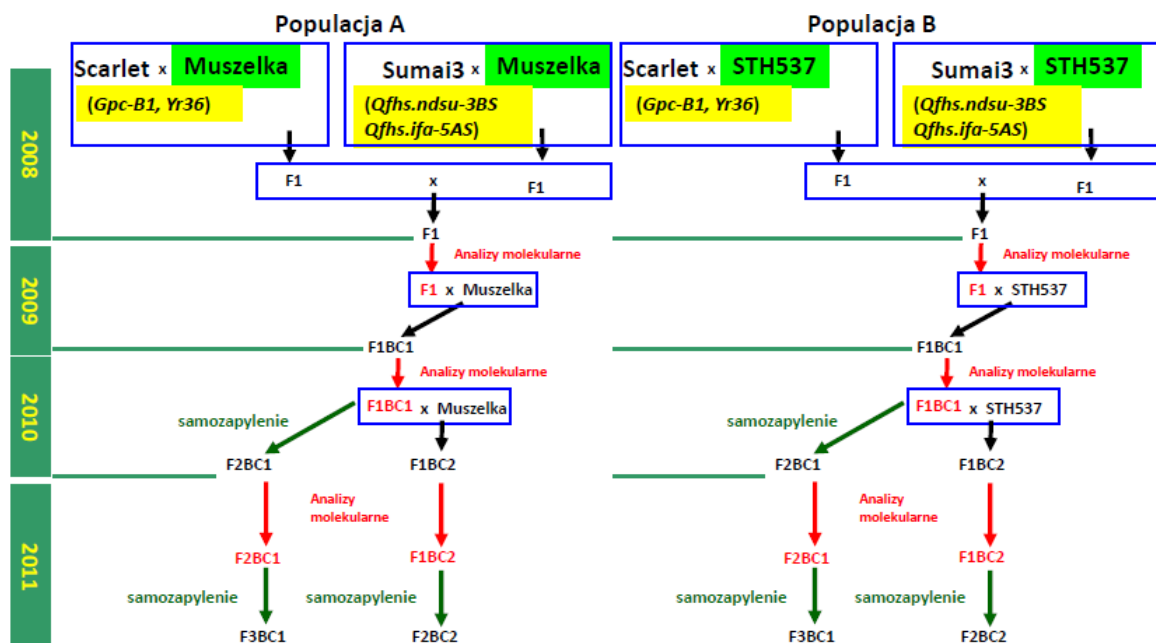
Kierownik projektu: dr hab. P. Czembor prof. nadzw. IHAR-PIB

W przypadku roślin uprawnych większość ważnych cech użytkowych ma charakter ilościowy i jest warunkowana wieloma genami. Zazwyczaj zaobserwować można dużą zmienność cech przy interakcji ze środowiskiem, co powoduje, że ich ocena sprawia wiele kłopotów, a wybór osobników na podstawie ich fenotypu bardzo ogranicza możliwość uzyskania genotypu o pożądanych cechach. W dobie zaawansowanych technologii DNA możliwa jest kumulacja kilku cech ilościowych w genomie jednego osobnika.

Celem projektu jest określenie przydatności strategii opartej o markery molekularne do kumulacji trzech loci cech ilościowych i jednej jakościowej w pszenicy ozimej:

- QTL warunkujący odporność (typu II) na fuzariozę kłosów na chromosomie 3BS (*Qfhs.ndsu-3B*)
- QTL warunkujący odporność (typu I i II) na fuzariozę kłosów na chromosomie 5AS (*Qfhs.ifa-5A*)
- Gen odpowiedzialny za podwyższoną zawartość białka, żelaza i cynku w ziarnie na chromosomie 6B (*Gpc-B1*)
- Gen odporności na rdze żółtą *Yr36* na chromosomie 6B blisko sprzężony z wprowadzanym genem *Gpc-B1*

Badania prowadzone były na odmianie Muszelka i linii STH537, a dawcami genów były odmiany Scarlet i Sumai3. Schemat krzyżowań, otrzymanych populacji i wykonanych analiz przedstawiono na rysunku 1. Do selekcji wykorzystano trzy główne markery SSR (uhw89, gwm493, gwm304) i kilka markerów pobocznych.



Rys. 1. Schemat krzyżowań, otrzymane populacje i wykonane analizy molekularne. Rodzice wypierający to odmiana Muszelka i linia STH537, dawcami wprowadzanych cech są odmiany Scarlet i Sumai 3.

Materiały i metody

W roku 2011 zaplanowano wykonanie dwóch zadań:

1. Analiza molekularna dwóch populacji pokolenia F_2BC_1 i dwóch populacji pokolenia F_1BC_2 .
2. Wykorzystanie wybranych osobników do uzyskania pokolenia F_2BC_2 oraz F_3BC_1 w obu populacjach.

Analizie poddano cztery grupy roślin: populacje A i B pokolenia F_2BC_1 oraz populacje A i B pokolenia F_1BC_2 (rys.1). DNA izolowano z materiału roślinnego przy pomocy zestawu do izolacji NucleoMag 96 Plant (Macherey-Nagel), a cały proces przeprowadzono na automatycznej stacji roboczej FreedomEVO (TECAN). Tak otrzymany materiał genetyczny wykorzystano w reakcji PCR, a produkty były rozdzielane i wykrywane na analizatorze DNA ABI377 (Applied Biosystems)

Próbki w pierwszym etapie badano pod względem polimorfizmu DNA kolejno przy zastosowaniu markerów blisko sprzężonych (głównych) z wprowadzanymi genami:

- uhw89 sprzężonego z wysoką zawartością białka (*Gpc-B1*) i odpornością na rdzę żółtą (*Yr36*) na chromosomie 6B
- gwm304 sprzężonego z QTL odporności na fuzariozę kłosa (*Qfhs.ifa-5A*) na chromosomie 5AS
- gwm493 sprzężonego z drugim QTL odporności na fuzariozę kłosa (*Qfhs.ndsu-3B*) na chromosomie 3BS

Po każdej analizie z wykorzystaniem markera głównego, przeprowadzano selekcję. Tak zawężoną liczbę próbek testowano flankującymi markerami STS i SSR (tab. 1).

Zastosowanie dodatkowych markerów pozwoliło na pełniejszą charakterystykę regionów przyległych do wprowadzanych genów.

Tabela 1. Markery molekularne wykorzystane do badania polimorfizmu DNA wśród wybranych roślin pokolenia F_1BC_2 i F_2BC_1 .

	Chromosom		
	3B	5A	6B
Marker	Sts 1.1	Gwm154	Wmc494
	Barc12	Gwm293	Gwm133
	Gwm533	Gwm186	Barc198
	Wmc754		Wmc398
	Barc92		Wmc737

Wyniki:

Przeprowadzone badania pozwoliły wybrać osobniki o pożądanym układzie alleli dla loci markerów blisko sprzężonych z wprowadzanymi genami.

Pokolenie F_1BC_2 :

- Populacja A
 - badanie przeprowadzono na 327 roślinach,
 - wybrano 16 roślin o najkorzystniejszym układzie alleli
- Populacja B
 - badanie przeprowadzono na 327 roślinach,
 - wybrano 20 roślin o najkorzystniejszym układzie alleli

Pokolenie F_2BC_1 :

- Populacja A
 - badanie przeprowadzono na 750 roślinach,
 - wybrano 5 roślin o najkorzystniejszym układzie alleli

- Populacja B
 - badanie przeprowadzono na 750 roślinach,
 - wybrano 10 roślin o najkorzystniejszym układzie alleli
- Wybrane rośliny posłużyły do uzyskania kolejnego pokolenia:
 - F₂BC₂ (samozapylenie)
 - F₃BC₁ (samozapylenie)

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 7.

Tytuł projektu: Poszukiwanie źródeł odporności na rdzę brunatną *Puccinia triticina* u pszenicy *Triticum aestivum*.

Kierownik projektu: dr A. Strzembicka

Celem pracy jest wyodrębnienie źródeł odporności na rdzę brunatną *Puccinia triticina* w stadium rośliny dorosłej spośród perspektywicznych form i różnych genotypów pszenicy ozimej.

Materiał badawczy stanowiły perspektywiczne formy pszenicy ozimej z doświadczeń wstępnych 2010/111 I i II serii – łącznie 131 obiektów wraz z wzorcami: Muszelka, Tonacja, KWS Ozon oraz z czterema wzorcami wrażliwości (Alcedo, Almari, Kanzler i Michigan Amber). W badaniach wzięło udział także 228 genotypów pszenicy ozimej pochodzących z 4 różnych, geograficznych rejonów uprawy: 1 - Antoniny, 2 - Choryń, 3 – Polanowice i 4 – Smolice. Ponadto do badań włączono 5 form, które w poprzednim okresie badań charakteryzowały się wysoką odpornością w miejscowościach, gdzie prowadzono ocenę zdrowotności. Ogółem w roku sprawozdawczym przebadano 371 genotypów pszenicy ozimej. Jesienią 2010 roku w Grodkowicach i w Krzczowicach wysiano wymieniony wyżej materiał badawczy w jednym powtórzeniu po 2 rządki wraz z wzorcami wrażliwości. W sezonie wegetacyjnym przeprowadzono w Grodkowicach w polu sztuczną inokulację populacją *P. triticina* wszystkich biorących udział w doświadczeniu genotypów pszenicy w stadium przed kłoszeniem. Do inokulacji wybrano populację patotypów które, występują z dużą częstotliwością w krajowej populacji grzyba i odznaczają się znaczną wirulencją w stosunku do linii monogenicznych i odmian z genami odporności *Lr*. W omawianym roku w skład populacji weszły nowe, zidentyfikowane patotypy charakteryzujące się między innymi wirulencją wobec genów *Lr 9* i *Lr 24*, dotychczas wysoce skutecznych. Zakażano pas roślin o szerokości 50cm każdego 2-rzędkowego poletka. Wariant kontrolny stanowiły rośliny niezakażone z przeciwnej strony poletka. Inokulację przeprowadzono 2-krotnie w odstępie 7 dni. Ocenę porażenia rdzą brunatną genotypów pszenicy przeprowadzono w Grodkowicach oraz w warunkach naturalnej infekcji w Krzczowicach 3-krotnie w odstępach ok. 2-tygodniowych w oparciu o powszechnie stosowaną wizualną skalę 9-cio stopniową gdzie: stopień 9 oznacza wysoką odporność, 1- wysoką wrażliwość.

W celu dokładniejszego określenia poziomu odporności na rdzę brunatną badanych genotypów, ocenę porażenia przekształcono w skalę określającą średni procent porażenia roślin, a poziom odporności oceniano wyliczając powierzchnię pod krzywą rozwoju choroby stosując współczynnik AUDPC. Dla zbadania zróżnicowania genotypów pod względem odporności określono współczynniki zmienności CV %.

W omawianym roku sprawozdawczym obserwowano znaczne nasilenie rdzy brunatnej zarówno w Grodkowicach jak i Krzczowicach. W obu miejscowościach na rozwój choroby miały duży wpływ sprzyjające warunki pogodowe, między innymi wyższa temperatura i mniej obfite opady deszczu niż w ubiegłym roku badań.

Zakres porażenia rdzą brunatną genotypów pszenicy w warunkach sztucznej inokulacji w Grodkowicach wynosił 9-3 w skali 9-cio stopniowej, zaś w Krzczowicach w warunkach

naturalnej infekcji zakres porażenia wahał się od 9 do 4. Obliczone współczynniki zmienności CV % wskazują na znaczne zróżnicowanie badanego materiału pod względem odporności na *P. triticina*, ich wartość kształtowała się od 13,5 do 30,3% w Grodkowicach i 6,4-26% w Krzeczowicach. Spośród 131 perspektywicznych form, 16 odznaczało się wysokim poziomem odporności polowej i niską wartością krzywej rozwoju choroby AUDPC w czasie całego okresu wegetacyjnego w Grodkowicach, 9-7 w skali 9-cio stopniowej, średnią odporność, porażenie w skali w stopniu 6 notowano u 18 form. W Krzeczowicach wysoką odporność notowano u 21 genotypów, do grupy średnio odpornych zaliczono 45 form.

W grupie 228 genotypów pszenicy pochodzących z 4 rejonów uprawy wysoką odporność w Grodkowicach w warunkach sztucznej inokulacji wykazało 36, zaś w warunkach naturalnej infekcji w Krzeczowicach 39 form. Wartość współczynników zmienności wskazuje na zróżnicowanie badanego materiału z poszczególnych rejonów uprawy i wynosi od 12,3 do 28,4% w Grodkowicach i 13,1 do 25,% w Krzeczowicach.

Odmiany wzorcowe z doświadczeń wstępnych odznaczały się znaczną wrażliwością na rdzę brunatną - porażenie w skali 4-5, zaś odmiany wzorce wrażliwości były wysoce porażone, w stopniu 3 i 2.

W roku sprawozdawczym do badań włączono także 5 genotypów pszenicy które, w poprzednim okresie badań odznaczały się znaczną odpornością na rdzę brunatną. W tegorocznych badaniach formy te potwierdziły swoją wysoką odporność w obu miejscowościach.

Podsumowując uzyskane wyniki można zauważyć, że badane genotypy pszenicy ozimej były w różnym stopniu porażane przez rdzę brunatną *P. triticina* w obu miejscowościach, okazały się materiałem o dużym zróżnicowaniu.

Istotny wpływ na stopień porażenia miała zastosowana sztuczna inokulacja patogenem w Grodkowicach gdzie rdza wystąpiła już w znacznym nasileniu od połowy czerwca, podczas gdy w warunkach naturalnej infekcji w Krzeczowicach obserwowano w tym czasie znacznie niższe porażenie. W obu miejscowościach rdza wystąpiła w dużym nasileniu w ostatnich dniach czerwca na co miały między innymi wpływ sprzyjające warunki pogodowe dla rozwoju rdzy.

Przeprowadzona ocena materiału badawczego w roku sprawozdawczym w obu miejscowościach pozwoliła na wyodrębnienie spośród perspektywicznych materiałów 31 genotypów pszenicy o wysokim poziomie odporności polowej, wśród, których u 12 notowano znaczną odporność w badaniach w poprzednim roku.

Na podstawie analizy rodowodów wyodrębnionych 31 odpornych genotypów pszenicy i doniesień literatury starano się określić genetyczne podstawy odporności na rdzę brunatną u form rodzicielskich badanych genotypów. Analizując uzyskane dane można stwierdzić, że u niektórych genotypów odporność może być warunkowana kombinacjami genów odporności *Lr*. Przykładem mogą być między innymi rody: AND 1005/07, DD 323/07, SMH 8676, STH 006 u których podstawą odporności jest kombinacja genów odporności specyficznej w fazie siewek *Lr10*, *Lr14a*, *Lr26* z genami kontrolującymi odporność w stadium rośliny dorosłej *Lr13*, *Lr37*. Takie kombinacje genów mogą być podstawą do uzyskania bardziej trwałej odporności w czasie i przestrzeni

Przeprowadzone badania genotypów pszenicy ozimej pod względem odporności na rdzę brunatną w stadium rośliny dorosłej w warunkach sztucznej inokulacji oraz w warunkach naturalnej infekcji pozwoliły na dokładniejszą ocenę poziomu odporności poszczególnych form. Wyodrębnione w trakcie badań genotypy pszenicy o wysokiej odporności mogą stanowić interesujący materiał jako źródła odporności na rdzę brunatną *P. triticina*.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 12.

Tytuł projektu: Poszukiwanie źródeł genetycznych wysokiej jakości technologicznej w formach ozimych i jarych pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum* ssp. *vulgare*).

Kierownik projektu: dr inż. P. Szczówka

W Polsce uprawa pszenicy ozimej i jarej stanowi 30% zasiewów ogółem. Prace hodowlane ukierunkowane są na wytworzenie odmiany określonego typu użytkowego. Poszukiwane są takie źródła genetyczne zapewniające większą wartość użytkową lub rolniczą lepszą od już zarejestrowanych odmian określonego typu.

Realizując projekt, nawiązano współpracę z hodowcami w celu wykonania usługi badawczej polegającej na założeniu i prowadzeniu doświadczeń polowych pszenicy jarej i ozimej. W doświadczeniach wykorzystano linie, mieszańce, rody i odmiany wzorcowe charakteryzujące się wysoką stabilnością pod względem cech rolniczo-użytkowych. Po zakończonym okresie wegetacji, pozyskane ziarno pszenicy jarej i ozimej po oczyszczeniu przesłano w ilości 1,5 kg do Pracowni Oceny Jakości i Odporności Zbóż, Zakładu Roślin Zbożowych w Krakowie IHAR PIB w Radzikowie, gdzie oceniona została wartość technologiczna. Przeprowadzona ocena zgodna z powszechnie stosowaną metodyką COBORU, jest standardową procedurą przed zarejestrowaniem odmiany. W ramach oceny wykonano oznaczenie cech określających technologię ziarna i mąki takich jak:

- liczbę sedymentacji z SDS,
- liczbę opadania,
- procentową zawartość białka w suchej masie ziarna,
- wydajność mąki ogółem,
- zawartość glutenu mokrego i index gluten.

W ramach cech określających wartość technologiczną ciasta i pieczywa dokonano oznaczenia parametrów reologicznych:

- wodochłonność mąki,
- czas stałości,
- liczba jakości,
- rozmiękczenie,
- energię ciasta,

oraz Liczba Wartości Chleba (L.W.CH) jako wskaźnik określający jakość wypieku laboratoryjnego. Łączna ocena składała się z trzynastu cech parametrów jakościowych pszenicy.

W roku sprawozdawczym przebadano łącznie 382 obiekty pszenicy ozimej (linie, formy i odmiany wzorcowe) oraz 90 obiektów pszenicy jarej.

Na badanym materiale wykonane zostały analizy skrócone według czterech cech jakościowych:

- LS z SDS,
- L.O.,
- zawartość białka (%) w s.m.
- wydajność mąki

Pełna ocena technologiczna uwzględniająca 12 cech oceny przydatności technologicznej wykonana została dla 149 obiektów pszenicy ozimej oraz 52 obiektów pszenicy jarej. Wyniki oceny badanych obiektów porównywane były do wzorców: Tonacja, Bogatka i Muszelka dla pszenicy ozimej oraz Parabola i Tybalt dla pszenicy jarej.

Wśród badanych cech we wszystkich obiektach największą zmienność zaobserwowano dla 4 cech: czas stałości, Liczba jakości, rozmiękczenie oraz energia ciasta (Tab. 1, Tab. 2).

Najmniejszą zmiennością charakteryzowały się 4 inne cechy: procentowa zawartość białka w suchej masie, wodochłonność, wydajność mąki oraz objętość próbnego wypieku laboratoryjnego. Część materiału posiadała obniżoną jakość ze względu na występujący porost, który obniżał przydatność technologiczną ziarna.

Tabela1. Wartości średnie i CV dla badanych cech oceny parametrycznej pszenicy ozimej

Badana cecha	Parametr	Miejscowość 1	Miejscowość 2	Miejscowość 3	Miejscowość 4	Miejscowość 5
L.S.	średnia	38,9	66,3	64,9	72,8	63,4
	CV (%)	34,2	23,2	13,2	14,5	13,8
L.O.	średnia	329,7	312,8	395,8	414,1	395,6
	CV (%)	23,7	36,5	9,2	7,8	18,2
Białko %	średnia	10,3	12,0	11,5	12,2	11,8
	CV (%)	6,3	6,5	3,6	6,1	3,9
Wodochłonność	średnia	56,8	59,3	57,4	58,6	58,2
	CV (%)	4,5	4,5	4,1	3,6	2,0
Rozmiękczenie	średnia	108,6	87,8	71,1	65,8	74,8
	CV (%)	17,5	32,6	24,3	27,6	28,1
Energia ciasta	średnia	65,3	78,4	89,1	88,6	86,6
	CV (%)	27,7	40,3	25,9	26,0	26,8
Objętość chleba	średnia	474,3	548,5	603,1	565,7	580,8
	CV (%)	8,1	5,5	5,6	5,1	4,0
Wydajność mąki	średnia	71,0	71,3	72,0	73,8	74,2
	CV (%)	3,5	2,6	2,6	2,1	1,7
Czas stałości	średnia	2,9	5,6	6,5	7,3	6,4
	CV (%)	36,0	44,1	52,4	36,7	39,8
Liczba jakości	średnia	37,0	67,8	77,9	88,0	76,5
	CV (%)	34,2	35,5	44,2	34,4	34,2
L.W.CH.	średnia	100,9	120,3	151,3	128,0	135,6
	CV (%)	12,0	11,4	13,7	12,0	10,1
Gluten mokry	średnia	24,1	28,3	28,9	30,3	29,1
	CV (%)	17,8	7,3	8,3	9,4	7,3
Gluten indeks	średnia	90,7	86,9	83,5	86,8	84,5
	CV (%)	11,4	12,1	12,1	12,3	13,1

Tabela 2. Wartości średnie i CV dla badanych cech oceny parametrycznej pszenicy jarej.

Badana cecha	Parametr	Miejscowość 1	Miejscowość 4
L.S.	średnia	88,65	78,50
	CV (%)	3,01	8,26
L.O.	średnia	317,00	276,00
	CV (%)	16,98	26,49
Białko %	średnia	14,02	12,90

	CV (%)	4,37	7,82
Wodochłonność	średnia	61,59	62,11
	CV (%)	3,30	2,87
Rozmiękczenie	średnia	52,06	78,75
	CV (%)	33,45	22,96
Energia ciasta	średnia	118,18	66,13
	CV (%)	23,23	37,88
Objętość chleba	średnia	491,47	511,25
	CV (%)	2,83	3,80
Wydajność mąki	średnia	72,54	70,96
	CV (%)	1,71	2,84
Czas stałości	średnia	11,14	4,66
	CV (%)	33,27	26,93
Liczba jakości	średnia	122,82	59,13
	CV (%)	30,37	24,45
L.W.CH.	średnia	121,88	128,13
	CV (%)	8,00	9,15
Gluten mokry	średnia	30,76	27,43
	CV (%)	8,86	15,71
Gluten indeks	średnia	97,00	91,63
	CV (%)	3,03	12,05

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 13.

Tytuł projektu: Analiza zmienności genotypowo-środowiskowej oraz genetycznego uwarunkowania ważnych cech zbóż.

Kierownik projektu: dr T. Śmiałowski

Bioróżnorodność gatunków jest bogactwem przyrodniczym, które leży u źródeł postępu w hodowli przydatnych do celów gospodarczych odmian zbóż. Jednak na skutek prowadzonej działalności gospodarczej i rozwoju cywilizacji zmienność ta ulega spłaszczeniu a zatem uniemożliwia efektywny wybór obiektów istotnie lepszych. Ratunkiem na zmniejszanie naturalnych zasobów staje się tworzenie nowej zmienności w sztuczny sposób np. krzyżując a następnie selekcjonując z otrzymanego potomstwa korzystne formy o dobrych cechach. Zjawisko to ma szczególne znaczenie w przypadku zbóż decydujących o zaspokojeniu potrzeb żywnościowych ludzkości. W tych ostatnich przypadkach badając zróżnicowanie cech u zbóż stwierdzamy, że pomiędzy plonem a ważnymi cechami plonotwórczymi obserwuje się współzależności o różnym nasileniu od bardzo wysokiej do często niezauważalnej. Badane cechy u zbóż również podlegają wpływom środowiskowym, które powodując interakcję z genotypem często maskują istotną wartość genotypu. Wartość takich obiektów ujawnia się z chwilą oszacowania genetycznego uwarunkowania cech którymi są opisane. Zatem u źródeł tego projektu leży hipoteza, że plon oraz cechy plonotwórcze charakteryzują się silną zmiennością (bioróżnorodnością), która umożliwia efektywny wybór dla celów praktycznych najlepszych form.

Dlatego celem projektu było poznanie zakresu zmienności genotypowej oraz środowiskowej i na tej podstawie określenie współzależności pomiędzy nimi i oszacowanie genetycznego uwarunkowania ważnych cech rolniczych decydujących o wartości gospodarczej zbóż.

Stosownie do hipotezy przeprowadzono doświadczenia polowe i laboratoryjne, następnie wykorzystując udoskonalone modele statystyczno-genetyczne przeprowadzono analizy zmienności genotypowej i środowiskowej oraz oszacowano genetyczne uwarunkowania badanych cech zbóż. Końcowym efektem badań było kompleksowe opracowania ujmujące syntetycznie zmienność genotypów i środowisk plonu i ważnych cech zbóż, które umożliwią poznanie ich genetycznego uwarunkowania.

Prace obejmowały następujące zadania;

1. Analiza zmienności genotypowo- środowiskowej oraz genetycznego uwarunkowania ważnych cech pszenicy.
2. Analiza zmienności genotypowo - środowiskowej oraz genetycznego uwarunkowania ważnych cech pszenżyta.
3. Analiza zmienności genotypowo - środowiskowej oraz genetycznego uwarunkowania ważnych cech żyta.
4. Analiza zmienności genotypowo - środowiskowej oraz genetycznego uwarunkowania ważnych cech jęczmienia.
5. Analiza zmienności genotypowo - środowiskowej oraz genetycznego uwarunkowania ważnych cech owsa.

Wykonano rozlosowania 102 doświadczeń polowych dla 814 obiektów; pszenicy ozimej i jarej, pszenżyta ozimego, żyta ozimego, jęczmienia ozimego i jarego i owsa oplewionego i nagoziarnistego, które wysiano w 80 miejscowościach. Opracowano karty obserwacji i książki polowe, które przekazano wykonawcom doświadczeń.

W trakcie wegetacji przeprowadzono lustracje polowe wybranych doświadczeń, uzgadniano zakres obserwacji i ocen oraz analiz.

Po zakończeniu doświadczeń polowych na podstawie zebranych i zestawionych plonów ziarna, pomiarów i obserwacji i ocen wykonanych przez wykonawców usług badawczych przeprowadzono obliczenia statystyczne obejmujące syntezy plonów i syntezy 194 cech botanicznych, rolniczych i jakościowych.

Podstawowe obliczenia obejmowały analizę łączną (analizę wariancji plonów), średnie wartości dla pozostałych cech badanych rodów i odmian oraz tabele zbiorcze plonów i cech dla pszenicy ozimej i jarej, pszenżyta ozimego, żyta ozimego, jęczmienia ozimego i jarego i owsa jarego.

Wyniki plonowania dla każdego gatunku zostały zestawione w 3 głównych tabelach:

1. Syntezy plonu w tabelach obejmujące:
 - analizy wariancji dla plonu,
 - zestawienie plonów obiektów w miejscowościach i średnie (w dt/ha) uszeregowanych wg. średniego plonu, średnie generalne wartości dla miejscowości i obiektów wzorcowych, współczynniki zmienności dla błędu, współczynniki zgodności plonu, ocenę poziomu istotności NIR (0,05) oraz NIRP (%),
 - odchylenia plonów od średniej wartości wzorcowych odmian,
 - odchylenia plonów w procentach średniej wartości wzorca.
2. Syntezy cech rolniczych w tabelach przedstawiających:
 - wartości cechy w miejscowościach, średnie generalne i średnie obiektów wzorcowych,
 - odchylenia wartości cechy od wzorca.
3. Tabele zbiorcze plonów i cech uszeregowane malejąco wg plonu w tabeli prezentującej:
 - wartości plonu i cech,
 - opis cech.

Do realizacji zaplanowanych w temacie analiz wykorzystano własne programy obliczeniowe (TP-7), aplikacje dostępne w pakiecie Office, Eksplan (2) oraz SAS EG.

Omówienie uzyskanych wyników i najważniejsze osiągnięcia.

Pomimo niesprzyjających w br. warunków (wiosenna susza, uporczywe opady atmosferyczne w okresie żniw) udało się przeprowadzić zaplanowany w harmonogramie tematu zakres prac polowych pszenicy ozimej i jarej, pszenżyta ozimego, żyta ozimego, jęczmienia ozimego i jarego oraz owsa jarego. Przeprowadzona analiza statystyczna w oparciu o wyniki plonowana i obserwacji pozostałych cech botanicznych i rolniczych wykazała na ogół zadawalającą precyzję doświadczeń. Osiągnięto satysfakcjonujące wysokości plonów oraz wykonano znaczny zakres obserwacji i pomiarów i analiz najważniejszych cech botanicznych, morfologicznych i rolniczych umożliwiających analizę zmienności badanych genotypów. Na podstawie otrzymanych syntez zestawiono średnie wartości plonów i cech badanych obiektów zbóż. Stwierdzono silne zróżnicowanie plenności badanych gatunków zbóż. Najwyżej plonowały obiekty pszenicy ozimej (95.9 dt/ha) przed żytem ozimym (85.9 dt/ha), zdecydowanie najslabiej owies oplewiony (60,1 dt/ha) i owies nagoziarnisty (41,1 dt/ha). Przeprowadzona analiza zmienności badanych cech wszystkich gatunków ujawniła silne spłaszczenie plonów. Nieznacznie wyższą zmiennością plonu ziarna charakteryzowały się obiekty owsa jarego oplewionego (CV=6,9%) i pszenżyta jarego (CV=6,8%), najniższą obiekty pszenicy ozimej (CV=3,4%). Większą rozpiętością pod względem zmienności odznaczały się cechy (od wysokich CV=108 % dla zawartości łuski u owsa nagoziarnistego do niskich CV dla liczby dni od 1.01. do terminu kłoszenia od 0,7% dla JJP, PTJ, ZTO do 1,4% dla JOB i JOP). Oznacza to ograniczone możliwości wyboru najlepszych genotypów pod względem plonowania.

Plony badanych zbóż na ogół odznaczały się wysokim wskaźnikiem genetycznego uwarunkowania. Najniższe wskaźniki (H) dla plonu obliczono dla obiektów pszenicy ozimej H= 0,7659 i OWSN (owsa nagoziarnistego) H=0,7767, najwyższe dla PJR (pszenicy jarej) H= 0,9357 oraz dla ZTO (żyta ozimego) H=0,9371. Wyniki te wskazują niewielki margines oddziaływania czynników środowiska. Wyniki obliczeń i analiz statystycznych są udostępniane placówkom doświadczalno - hodowlanym w celu wykorzystania do naukowej analizy badanych genotypów.

Uzyskane wyniki stanowią podstawę wykonania pogłębionych analiz zmienności genotypowo-środowiskowej badanych obiektów u zbóż. Prace w tym zakresie są kontynuowane.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 18.

Tytuł projektu: Badanie systemu męska sterility – przywracanie płodności typu Pampa u żyta.

Kierownik projektu: dr hab. I. Kolańska prof. nadzw. IHAR-PIB

W komercyjnych programach hodowli i produkcji nasion mieszańcowych żyta powszechnie jest wykorzystywane źródło sterylizującej cytoplazmy Pampa. Znaczne problemy ciągle stwarza pełne przywrócenie męskiej płodności mieszańcom otrzymanym z udziałem tego typu cytoplazmy.

Stąd podjęto prace badawcze, których **celem było:**

- Poszukiwanie nowych efektywnych restorerów płodności wśród genotypów żyta wyprowadzonych z polskiej populacji oraz populacji miejscowych i egzotycznych oraz określenie ich zdolności przywracania płodności u mieszańców F₁ w różnych warunkach środowiska,
- Poznanie genetycznego uwarunkowania przywracania płodności u wybranych restorerów o różnym pochodzeniu.

Materiał badawczy:

- Linie wsobne żyta pochodzące z polskich populacji (odmiany i rody) oraz wyprowadzone z udziałem miejscowych populacji tureckich,
- Linia męskosterylna z cytoplazmą Pampa – 343P, która jest trudna do przywrócenia płodności,
- Męskosterylne mieszańce pojedyncze jako CMS-testery, w tym CMS-Tt uznany za trudnego do przywrócenia płodności,
- Mieszańce testowe wytworzone poprzez krzyżowanie CMS-testera z liniami wsobnymi różnego pochodzenia,
- Mieszańce F₂ pochodzące z krzyżowania linii 343P z dwoma restorerami pochodzącymi z polskich populacji oraz z pięcioma restorerami wyprowadzonymi z udziałem tureckich populacji.

Metodyka prac:

Krzyżowania testowe linii wsobnych z CMS-testerem wykonano ręcznie w polu używając kilku pojedynczych roślin linii wsobnych lub pomiędzy ekranami izolacyjnymi. Jednocześnie wykonano samozapylenie (izolację kłosów) tych roślin ojcowskich.

Siew mieszańców testowych z w/w krzyżowań wykonano ręcznie w polu i/ lub w tunelach foliowych oraz siewnikiem na poletkach obserwacyjnych.

Stopień sterylności/płodności pojedynczych roślin mieszańców pokolenia F₁ i F₂ oceniano poprzez wizualną bonitację pylników w skali 1–9° (Morgenstern, 1983), przy czym 1 oznacza pylniki silnie zdegenerowane, puste i niepekające, a 9 pylniki normalnej wielkości, pękające i obficie pyłące. Rośliny oznaczone 1, 2, 3 sklasyfikowano jako męskosterylne [ms], rośliny 4, 5, 6 jako częściowo-płodne [pmf], a rośliny 7, 8, 9 jako płodne [mf]. Ocenę prowadzono w pełni kwitnienia roślin na minimum 3 kłosach 30–60 roślin każdego mieszańca. Następnie obliczono indeks restoracji według wzoru: $IR = \% mf + 1/2 \% pmf$.

Ocenę płodności mieszańców testowych prowadzono także poprzez ocenę intensywności pylenia kłosów mieszańców metodą wizualnej bonitacji w skali 1–9° (Geiger i Morgenstern, 1975) na poletkach obserwacyjnych w różnych warunkach środowiska.

Zastosowanie testu Chi² do sprawdzenia zgodności obserwowanych segregacji roślin w pokoleniu F₂ pod względem sterylności/płodności z oczekiwanymi dla zakładanych modeli dziedziczenia.

Omówienie wyników:

Przeprowadzono ocenę zdolności przywracania płodności różnych linii wsobnych żyta wyprowadzonych z polskich populacji poprzez krzyżowanie z CMS testerem trudnym do przywrócenia płodności. Ogółem testowano 554 linii wsobnych pokolenia S₂ pochodzących z dwóch grup populacji wyjściowych oznaczonych jako PW-1 i PW-2. Stwierdzono, że 6,5% spośród linii wsobnych wyprowadzonych z populacji wyjściowej PW-1 wykazała zadawalającą i pełną zdolność przywracania płodności. Natomiast przeważająca większość tych linii charakteryzowała się częściową zdolnością restoracji. Wśród linii wsobnych pochodzących z drugiej populacji wyjściowej, linie o zadawalającej i pełnej zdolności przywracania płodności stanowiły 50,3%. Nowe efektywne restorery zostały zidentyfikowane wśród genotypów żyta wyprowadzonych z różnych polskich populacji. Ponadto spośród linii wsobnych wyprowadzonych z udziałem populacji tureckich wybrano kilka pełnych restorerów charakteryzujących się zadawalającym poziomem cech użytkowych.

Badano sposób dziedziczenia cechy przywracania męskiej płodności u siedmiu wybranych pełnych restorerów tj. dwóch linii wsobnych wyprowadzonych z polskich populacji oraz pięciu linii wytworzonych z udziałem populacji tureckich. Przeprowadzono wizualną bonitację pylników 3874 roślin z 24 potomstw F₂, które uzyskano poprzez samozapylenie pojedynczych, płodnych roślin pokolenia F₁ mieszańców pochodzących z krzyżowania tych

restorerów z linią męskosterylną 343P. Dla celów weryfikacji postawionych hipotez tłumaczących genetyczną kontrolę płodności roślin w badanych potomstwach wyróżniono dwie główne klasy fenotypowe, zaliczając do form męskopłodnych (mf) rośliny w pełni męskopłodne (mf) i częściowo płodne (pmf). Zgodność obserwowanych segregacji płodności/sterylności roślin pokolenia F_2 z oczekiwanymi dla zakładanych modeli dziedziczenia sprawdzano za pomocą testu χ^2 . W potomstwach F_2 mieszańców otrzymanych w wyniku krzyżowania linii męskosterylnej 343P z liniami restorerami pochodzącymi z obu grup populacji obserwowano pełen zakres zmienności pod względem fenotypów męskiej płodności/sterylności. Jednak fenotypowy rozkład męskiej płodności/sterylności w potomstwach F_2 restorerów polskiego pochodzenia był odmienny od występującego w F_2 restorerów wyprowadzonych z tureckich populacji. W potomstwach F_2 mieszańców z krzyżowania linii 343P z liniami restorerami polskiego pochodzenia stwierdzono wysoką frekwencję fenotypów sterylnych wynoszącą od 27,6% do 54,0%, a w większości przypadków stanowiącą ponad 40%. Pozostałe rośliny charakteryzowały się różnym stopniem płodności pyłku (od 4 do 9). Weryfikowano różne hipotezy genetyczne wyjaśniające uwarunkowanie męskiej płodności roślin. Rozszczepienie na fenotypy męskopłodne i męskosterylne we wszystkich sześciu potomstwach F_2 mieszańca 343P z linią R6 było zgodne z danymi oczekiwanymi dla proporcji 9:7, wskazującej na komplementarne działanie dwóch par dominujących genów. Natomiast u mieszańca 343P z linią R8 zadawalającą zgodność obserwowanych stosunków rozszczepień na rośliny męskopłodne i męskosterylne z oczekiwanymi dla proporcji 9:7 uzyskano dla dwóch potomstw F_2 , a w trzecim stwierdzono statystycznie istotne odchylenie od oczekiwań dla hipotezy o dwugenowej kontroli przywracania płodności. W potomstwach F_2 mieszańców uzyskanych poprzez krzyżowanie linii 343P z liniami restorerami pochodzącymi z tureckich populacji zdecydowaną większość stanowiły rośliny o różnym stopniu płodności pyłku, a udział roślin męskosterylnych wynosił od 16 do 28%. W większości potomstw F_2 mieszańców z liniami restorerami tej grupy stwierdzono zadawalającą zgodność obserwowanych stosunków rozszczepień na rośliny męskopłodne i męskosterylne z teoretyczną proporcją 3:1, występującą przy monogenicznym dziedziczeniu.

Wyniki dotychczasowych badań wskazują na prostszy sposób dziedziczenia przywracania płodności u linii restorerów wytworzonych z udziałem tureckich populacji niż u restorerów wyprowadzonych z polskich populacji. Konieczne są dalsze prace nad opracowaniem genetycznego uwarunkowania tej cechy u żyta. Stwierdzono, że niektóre pełne restorery pochodzące z obu grup populacji mogą być wykorzystane w badaniach genetycznych oraz jako donory genów przywracających płodność w dalszych pracach nad ulepszaniem tej cechy.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 19.

Tytuł projektu: Badanie ogólnej i swoistej zdolności kombinacyjnej różnych genotypów żyta.

Kierownik projektu: dr hab. I. Kolańska prof. nadzw. IHAR-PIB

Celem badań było poznanie ogólnej i swoistej zdolności kombinacyjnej różnych genotypów żyta dla ważnych cech użytkowych w zróżnicowanych warunkach środowiska.

Materiał badawczy:

- Komponenty mateczne stanowiły męskosterylne mieszańce pojedyncze (CMS-SC) wytworzone w wyniku krzyżowania linii męskosterylnych z cytoplazmą Pampa (linie P) z liniami dopełniającymi sterylność (linie N). Oceniano dwie grupy komponentów matecznych: CMS-SC utworzone poprzez krzyżowanie linii P i N wyprowadzonych ze

zróżnicowanych puli genowych oraz CMS-SC uzyskane w wyniku krzyżowania linii P i N wywodzących się z puli genowych o bardziej zbliżonych pochodzeniu,

- Komponenty ojcowskie: linie wsobne i populacje żyta,
- Mieszańce eksperymentalne pokolenia F_1 pochodzące z krzyżowania w układzie czynnikowym zróżnicowanych męskosterylnych komponentów matecznych z różnymi populacjami ojcowskimi,
- Mieszańce eksperymentalne pokolenia F_1 uzyskane w wyniku krzyżowania linii wsobnych ze zróżnicowanymi męskosterylnymi komponentami matecznymi jako testerami (CMS-SC-T).

Metodyka prac:

Komponenty mateczne – męskosterylne mieszańce pojedyncze (CMS-SC) wytworzono w wyniku krzyżowania linii męskosterylnych z wybranymi liniami dopełniającymi sterylność w tunelach foliowych i na polach przestrzennie izolowanych. Tworzenie i/lub rozmnożenie komponentów ojcowskich prowadzono w tunelach foliowych oraz na polach przestrzennie izolowanych. Mieszańce eksperymentalne F_1 wytworzono w wyniku krzyżowania męskosterylnych komponentów matecznych (CMS-SC) z populacjami ojcowskimi na polach przestrzennie izolowanych w różnych miejscowościach. Wykonano ocenę sterylności linii P i komponentów matecznych w szklarni oraz w polu, w wyniku której usunięto obiekty lub rośliny częściowo-płodne i płodne.

Doświadczenia polowe założono metodą bloków niekompletnych w trzech powtórzeniach (powierzchnia poletek - 5 m², gęstość siewu - 250 lub 300 kiełkujących ziaren na 1m²) w trzech zróżnicowanych warunkach środowiska. Doświadczenia zlokalizowano w następujących miejscowościach: doświadczenie oznaczone jako D01_11 w Choryni (CHD), Nagradowicach (NAD) i Radzikowie (RAH), doświadczenie D02_11 w Laskach (LAD), Radzikowie (RAH) i Wierzenicy (WID), doświadczenie D03_11 w Radzikowie (RAH), Sobiejuchach (SOH) i Wierzenicy (WID), doświadczenie D05_11 w Przebędowie (PRH), Radzikowie (RAH) i Smolicach (SMH). Oceniono ważne cechy użytkowe tj. plon ziarna (dt/ha), wysokość roślin (cm), termin kłoszenia (liczba dni od 1.05), intensywność pylenia (skala 1-9°), porażenie rdzą brunatną (skala 1-9°), wyleganie (skala 1-9°), masa 1000 ziaren (g).

Omówienie wyników:

W sezonie 2010/2011 skoncentrowano się głównie na poznaniu ogólnej (GCA) i swoistej zdolności kombinacyjnej (SCA) wybranych i specjalnie wytworzonych komponentów matecznych oraz wybranych komponentów ojcowskich o różnym pochodzeniu. Ponadto prowadzono badanie zdolności kombinacyjnej wybranych, zróżnicowanych linii wsobnych. Zdolność kombinacyjną komponentów rodzicielskich określano na podstawie wyników oceny mieszańców eksperymentalnych, uzyskanych w wyniku krzyżowania wybranych komponentów matecznych z populacjami ojcowskimi, ocenianych w kilku doświadczeniach polowych przeprowadzonych w trzech miejscowościach. Wszystkie doświadczenia zostały przeprowadzone poprawnie we wszystkich miejscowościach i umożliwiły dokładną ocenę wartości cech użytkowych mieszańców eksperymentalnych.

W roku sprawozdawczym oceniono ogółem 105 mieszańców eksperymentalnych pok. F_1 pochodzących z krzyżowania 21 wybranych komponentów matecznych (CMS-SC) z 5 populacjami ojcowskimi w trzech doświadczeniach polowych zlokalizowanych w trzech miejscowościach. Analiza statystyczna wykazała istotne zróżnicowanie mieszańców pod względem plonu ziarna i większości cech użytkowych we wszystkich doświadczeniach. Zmienność ogólnej zdolności kombinacyjnej (GCA) zarówno wśród komponentów matecznych, jak i komponentów ojcowskich była istotna dla większości cech użytkowych w większości przeprowadzonych doświadczeń. Zmienność swoistej zdolności kombinacyjnej

(SCA) najczęściej była istotna wśród par rodzicielskich ocenianych w doświadczeniu D01_11. W tym doświadczeniu stwierdzono istotną zmienność SCA dla wczesności kłoszenia i wysokości roślin we wszystkich trzech miejscowościach, a dla wylegania w dwóch spośród nich. Zmienność SCA dla wczesności kłoszenia okazała się także istotna u mieszańców ocenianych w doświadczeniach D02_11 i D03_11. Natomiast w żadnym doświadczeniu nie stwierdzono istotnej zmienności SCA par rodzicielskich dla wylegania i masy 1000 ziaren. Zmienność SCA par rodzicielskich dla plonu ziarna i pozostałych cech była istotna tylko w pojedynczych miejscowościach przeprowadzonych doświadczeń. Analiza statystyczna wyników trzech doświadczeń umożliwiła szczegółowe oszacowanie zdolności kombinacyjnej 21 zróżnicowanych komponentów matecznych oraz pięciu komponentów ojcowskich dla plonu ziarna i sześciu ważnych cech użytkowych. Stwierdzono istotne zróżnicowanie ogólnej zdolności kombinacyjnej komponentów matecznych dla większości cech użytkowych, najczęściej w dwóch lub trzech miejscowościach. Jednocześnie stwierdzono istotne interakcje efektów GCA matek ze środowiskiem szczególnie dla wysokości roślin, wczesności kłoszenia oraz stopnia pylenia i wylegania mieszańców. Kilka komponentów matecznych wyróżniło się wysoką zdolnością kombinacyjną dla plonu ziarna, o czym świadczą istotne dodatnie średnie efekty GCA oraz istotne dodatnie efekty GCA w doświadczeniach poszczególnych miejscowości. Niektóre z nich dodatkowo wykazały korzystne istotnie różne od zera efekty GCA ważnych cech użytkowych tj. odporność na rdzę brunatną, odporność na wyleganie, masa 1000 ziaren, wysokość roślin. Pozostałe komponenty mateczne łączyły istotne dodatnie i istotne ujemne efekty GCA dla różnych cech użytkowych. W przeprowadzonych doświadczeniach zmienność GCA komponentów ojcowskich okazała się istotna dla większości cech użytkowych. Stwierdzono liczne istotne interakcje efektów GCA ojców ze środowiskiem szczególnie dla wysokości roślin, wczesności kłoszenia i stopnia wylegania. Spośród komponentów ojcowskich na uwagę zasługuje jedna populacja, która przekazała potomstwu wysoką zdolność plonowania i odporność na rdzę brunatną (istotne dodatnie średnie efekty GCA). Pozostałe cechy jej półrodzeństwa były zbliżone (różnice nieistotne) do średniej ogólnej kombinacji w wykonanym układzie krzyżowania. Ponadto wielkość efektów GCA oszacowanych w poszczególnych miejscowościach wskazuje, że ta populacja ojcowska charakteryzuje się także dobrą zdolnością kombinacyjną dla wczesności kłoszenia oraz odporności na rdzę brunatną i wyleganie. Jednak wykorzystanie jej w charakterze formy ojcowskiej może spowodować zmniejszenie masy 1000 ziaren potomstwa, ponieważ w niektórych doświadczeniach wykazano istotne ujemne efekty GCA dla tej cechy. Szczegółowa analiza efektów GCA komponentów ojcowskich w poszczególnych miejscowościach wskazuje, że niektóre populacje ojcowskie warunkowały wartościowe cechy potomstwa tj. odporność na wyleganie, intensywność pylenia, masa 1000 ziaren.

Badanie zdolności kombinacyjnej wybranych linii wsobnych prowadzono poprzez krzyżowanie ich ze zróżnicowanymi męskosterylnymi testerami (CMS-SC-T). Ocenę wartości 40 mieszańców eksperymentalnych przeprowadzono w doświadczeniach zlokalizowanych w trzech miejscowościach: Przebędowo (PRH), Radzików (RAH), Smolice (SMH). Mieszańce eksperymentalne pochodzące z krzyżowania 4 komponentów matecznych z 10 liniami ojcowskimi różniły się istotnie pod względem większości cech użytkowych. Stwierdzono istotną zmienność ogólnej zdolności kombinacyjnej matek i ojców dla plonu i niektórych cech użytkowych. Zmienność SCA była przeważnie nieistotna. Komponenty mateczne okazały się zróżnicowane genetycznie i były przydatne do testowania wartości kombinacyjnej linii ojcowskich. Dwie spośród linii wsobnych (TR 815 i TR 820) przekazały potomstwu wysoką zdolność plonowania i wartość pozostałych cech zbliżoną do średniej wszystkich kombinacji w wykonanym układzie krzyżowania. Analiza efektów GCA oszacowanych w doświadczeniach przeprowadzonych w poszczególnych miejscowościach potwierdziła dobrą zdolność kombinacyjną tych dwóch linii wsobnych dla plonu ziarna

i wskazała ich dodatkowe zalety. Okazało się, że linia TR 820 charakteryzuje się także dobrą zdolnością przywracania płodności. Linia TR 815 łączyła korzystne efekty GCA dla plonu ziarna, wysokości roślin i odporności na rdzę brunatną z niekorzystnymi efektami GCA (kłoszenie, pylenie).

Analiza statystyczno-genetyczna wyników doświadczeń wykazała istotne zróżnicowanie wszystkich grup mieszańców oraz istotną zmienność ogólnej zdolności kombinacyjnej (GCA) komponentów matecznych i ojcowskich dla większości cech użytkowych. Stwierdzono, że zmienność GCA odegrała główną rolę w zmienności genetycznej wszystkich cech użytkowych mieszańców żyta. Zmienność swoistej zdolności kombinacyjnej (SCA) była znacząca tylko dla wczesności kłoszenia, a dla pozostałych cech okazała się istotna tylko w pojedynczych doświadczeniach. Oszacowanie efektów GCA komponentów matecznych i ojcowskich oraz ich interakcji ze środowiskiem umożliwiło poznanie ich wpływu na wartość cech użytkowych tworzonych z ich udziałem kombinacji mieszańcowych.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 23.

Tytuł projektu: Badania nad optymalizacją otrzymywania podwojonych haploidów żyta.

Kierownik projektu: prof. dr hab. J. Zimny

W przypadku żyta wydajność androgenyzy nie jest zadowalająca, mimo wieloletnich badań, prezentowanych w literaturze, zmierzających do jej podwyższenia. Skuteczność tego procesu próbuje się zwiększyć poprzez optymalizację czynników zewnętrznych, takich jak: warunki wzrostu roślin donorowych, stadium rozwojowe mikrospor, wstępne traktowanie kłosów i pylników, skład pożywek a także warunki prowadzenia kultury. W wielu pracach podkreśla się decydujące znaczenie genotypu dla wydajności indukcji androgenyzy i regeneracji roślin. Chociaż zaindukowanie procesu wymaga zastosowania czynnika zewnętrznego celem zmiany drogi rozwojowej mikrospor z gametofitowej na sporofitową wiele genotypów jest opornych na indukujące działanie stresu. Opisywana w literaturze efektywność regeneracji roślin żyta wahała się w szerokim zakresie głównie w zależności od genotypu. Celem prac prowadzonych w roku 2011 było zbadanie zdolności do androgenyzy linii żyta przygotowanych przy wykorzystaniu różnych komponentów rodzicielskich. Celem zasadniczym było zbadanie reakcji androgenicznej tych linii. Uzyskiwane tą metodą linie homozygotyczne mogą być wykorzystywane w procedurze hodowlanej ze względu na ich stabilność wewnątrz linii, a jednocześnie ich różnorodność. W bieżącym roku przedmiotem badań było 19 genotypów żyta.

Materiał i metody:

Wybrane komponenty rodzicielskie zostały wykorzystane do przeprowadzenia ukierunkowanych krzyżowań, wyselekcjonowano 19 linii, które posłużyły do założenia doświadczeń nad indukcją androgenyzy w kulturze pylników.

Rośliny uprawiane były w kontrolowanych warunkach w fitotronie. Określenia właściwego stadium rozwojowego mikrospor tj. stadium późnej mikrospory dokonano na podstawie cytologicznych obserwacji mikroskopowych (badania rozwoju mikrospory prowadzono pod mikroskopem metodą barwienia acetokarminem) pobierano kłosa wraz z odcinkiem około 20 cm pędu. Zastosowano szok termiczny. Kłosa przebywały w chłodni w temperaturze 4°C przez okres 21 dni. Po tym okresie kłosa sterylizowano w alkoholu etylowym 70% i podchlorynie sodu. Z tak przygotowanych kłosów pobierano pylniki, które układano na zestalonej pożywce.

Z poszczególnych genotypów wyłożono pylniki z 10 do 36 kłosów. W sumie z 455 kłosów wyizolowano 77 tys. pylników. Do doświadczeń użyto zmodyfikowaną pożywkę 190-2

uzupełnioną regulatorami wzrostu - 2 mg/l 2,4D i 0.5 mg/l kinetyny. Pylniki w szalkach inkubowano w temperaturze 26°C w ciemności przez okres 8 tygodni.

Wyniki:

Obserwacje prowadzono co 7 dni przez czas trwania inkubacji. Po 6 tygodniach na niektórych szalkach obserwowano pierwsze kalusy oraz struktury zarodkopodobne. Zaobserwowano indukcję kalusa u 15 z 19 badanych genotypów. Szczególnie intensywnie kalusowały pylniki linii SR2322\10, TR1405, TR1415 i 1255E.

Kalusy będące efektem podziałów komórek mikrospor były sukcesywnie przenoszone na pożywkę regenerującą gdzie rozwijały się zarodki, część zarodków dojrzewała. Kiełkujące roślinki były przenoszone na pożywkę stymulującą ich rozwój. Po dwóch tygodniach były one przenoszone do kolb Erlenmayera gdzie rosły i ukorzeniały się. Roślinki były jarowizowane w chłodni w temp 4°C. Obecnie są aklimatyzowane w fitotronie przy fotoperiodzie 16/8 godzin (dzień/noc) i w temperaturze 15°C w dzień i 12°C w nocy.

Przebieg eksperymentu oraz uzyskane dane liczbowe pozwalają stwierdzić, że poszczególne linie wykazują silne zróżnicowanie pod względem androgenicznej reakcji w kulturach tkankowych. Kalus uzyskano u 15 z 19 badanych genotypów. U dziewięciu linii udało się zregenerować rośliny. Jedną z linii SR2322\10 wykazywała wyższą od innych efektywność androgenezę co zaowocowało uzyskaniem 51 regenerantów przy bardzo niskim odsetku roślin albinotycznych. Na uwagę zasługuje fakt, że liczba albinosów, jak też liczba zregenerowanych zielonych roślin jest związana ewidentnie z pochodzeniem linii, czyli prawdopodobnie z tłem genetycznym. U trzech linii o tym samym pochodzeniu S1139, S1178 i SR2322 zaobserwowano znikomy procent roślin albinotycznych. Zregenerowano u nich odpowiednio 71, 93 i 96% roślin zielonych. Dzieje się tak przy wyższym poziomie kalusowania innych genotypów co potwierdza jeszcze raz obserwację, że kalusowanie kultur pylnikowych jest czynnikiem niezbędnym, ale nie wystarczającym aby zregenerować rośliny żyta.

Rozwijające się rośliny zostały przeniesione do kolb Erlenmayera, a po ukorzeniu do doniczek z substratem glebowym. Obecnie uprawiamy 120 zregenerowanych roślin. U roślin, które przejdą okres adaptacji, zbadany zostanie poziom ploidalności. Haploidalne będą poddane zabiegowi kolchicynowania, po czym wszystkie zostaną przeniesione do wiader i umieszczone w szklarni gdzie będą rosły do dojrzałości.

Przeprowadzone eksperymenty pozwoliły na wyselekcjonowanie genotypów wykazujących reakcję androgeniczną. Wydaje się, że doświadczenie powinno zostać powtórzone, co najmniej dla genotypów dobrze rokujących. Pozwoliłoby to na dalszą optymalizację warunków kultury pylników żyta.

W roku sprawozdawczym prowadzono też uprawę regenerantów z roku poprzedniego. Zebrano nasiona, które zostały wysiane, a rośliny poddane będą dalszej analizie.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 25.

Tytuł projektu: Poszukiwanie markerów molekularnych sprzężonych z głównymi genami przywracania płodności pyłku żyta (*Secale cereale* L.) do cytoplazmy sterylizującej typu Pampa.

Kierownik projektu: dr hab. P. Bednarek prof. nadzw. IHAR-PIB

Cytoplazmatyczno-jądrowa męska sterylność (CMS) u żyta jest warunkowana ekspresją szeregu genów lokalizujących się na różnych chromosomach gatunku. Uważa się, że za przywracanie płodności pyłku w systemie CMS Pampa odpowiada gen z chromosomu 4R. Wiadomo również, że przywracanie płodności pyłku jest warunkowane działaniem genów występujących na chromosomach 1R, 3R, 5R oraz 6R. Geny te charakteryzują się

zróznicowanym działaniem. Niestety, praktycznie nie wiadomo jakie sekwencje DNA kodują te geny. Nie znana jest również funkcja poszczególnych genów. Wydaje się jednak oczywistym, że przywracanie płodności pyłku żyta to złożona interakcja pomiędzy jądrem komórkowym i mitochondrium. By móc identyfikować sekwencje kodujące geny przywracania męskiej płodności wskazanym jest opracowanie markerów molekularnych silnie sprzężonych (bądź asocjowanych) z tymi genami. Identyfikacja sekwencji kodujących tych genów powinna umożliwić określenie ich funkcji i zrozumienie mechanizmów warunkujących przywracanie płodności pyłku żyta z CMS Pampa.

Celem identyfikacji markerów molekularnych sprzężonych z genami przywracania płodności pyłku żyta z CMS Pampa wskazanym jest wyprowadzenie wielu licznych populacji mapujących (pokolenia F_2 , linie RIL), wykonanie mapowania genetycznego, czy mapowania asocjacyjnego. Do identyfikacji markerów molekularnych należy również wykorzystać taką metodę, która pozwala na identyfikację dużej liczby markerów genetycznych. Wskazanym jest by znana była lokalizacja chromosomowa markerów oraz dostępne były ich sekwencje DNA. Takie warunki spełnia metoda DArT.

Materiał roślinny:

Dwie populacje F_3/F_4 oraz dwie populacje F_4/F_5 na normalnej cytoplazmie prowadzone w chowie wsobnym celem wyprowadzenia rekombinacyjnych linii wsobnych (RILs).

Cztery populacje mapujące pokolenia F_2 wyprowadzone poprzez krzyżowanie pojedynczych roślin rodzicielskich żyta ozimego: matecznej linii z cytoplazmą Pampa oraz ojcowskiej linii z genami przywracania płodności pyłku bazujące na źródłach orientalnych.

Szereg populacji mapujących wykorzystywanych w ramach wcześniej prowadzonych badań.

Określanie płodności pyłku u żyta:

Ocenę fenotypową roślin populacji mapujących wykonano wg wizualnej 9-cio stopniowej skali bonitacyjnej Geigera i Morgensterna (1975).

Izolacja genomowego DNA:

DNA z liści badanych roślin izolowano za pomocą zestawu firmy Qiagen.

Polimorfizm markerów DArT określił dr A. Kiliana (Australia). Polimorfizm markerów mikrosatelitarnych badano stosując standardowe warunki reakcji. Produkty PCR frakcjonowano w żelu agarozowym lub za pomocą elektroforezy kapilarnej w aparacie Xiacel firmy Qiagen. Polimorfizm markerów specyficznych względem wybranych sekwencji markerów DArT badano za pomocą PCR. Produkty PCR frakcjonowano w żelu agarozowym lub za pomocą elektroforezy kapilarnej.

Analizę skupień wykonano stosując metodę aglomeracji najbliższych sąsiadów z wykorzystaniem genetycznego dystansu określanego wg wzoru Dice'a. Powtarzalność grupowania danych weryfikowano stosując bootstrapowanie. **Analizę czynnikową** wykonano w programie PAST. **Mapowanie genetyczne** przeprowadzono stosując oprogramowanie JoinMap oraz software udostępniony przez dr A. Kiliana. **Mapowanie asocjacyjne** wykonano metodą SML stosując oprogramowanie udostępnione przez dr A Kiliana.

Wynik badań dla populacji mapujących żyta ozimego pokolenia F_2 z CMS Pampa wyprowadzonych z wykorzystaniem źródeł orientalnych:

W wyniku doświadczeń polowych wyprowadzono kolejne pokolenie ziarniaków F_3 i F_4 na cytoplazmie normalnej prowadzonych na linie rekombinacyjne. Stosując metodę pojedynczych ziarniaków ziarniaki wysiano w polu celem uzyskania kolejnego pokolenia. Łącznie wysiano ok. 120 linii odpowiadających ziarniakom pokolenia F_3 i 364 pokolenia F_4 .

Analiza płodności pyłku populacji mapujących pokolenia F_2 z CMS Pampa wykazała, że większość z badanych roślin była płodnych, a tylko nieliczne częściowo płodne i sterylne.

W obrębie badanych populacji nie stwierdzono zgodności rozkładu cechy z rozkładem normalnym.

Analiza DNA populacji mapujących za pomocą polimorfizmu markerów DNA (DArT, SSR, specyficzny PCR) wykazała obecność strukturyzacji danych. Fakt ten potwierdza analiza czynnikowa oraz analiza aglomeracyjna. Analogiczne wyniki uzyskano dla wszystkich badanych populacji mapujących.

Mimo obecności struktury w obrębie populacji mapujących pokolenia F_2 żyta ozimego podjęto działania, których celem było otrzymanie grup sprzężeń a następnie określenie lokalizacji QTLi odpowiedzialnych za przywracanie płodności pyłku. Mapowanie genetyczne wykonane w programie JoinMap nie pozwoliło na uzyskanie dużej liczby grup sprzężeń. We wszystkich przypadkach uzyskiwano kilka grup, przy czym największa z grup składała się z markerów o znanej lokalizacji przypisywanej do różnych chromosomów żyta. Brak różnicowania się markerów (wystąpienie silnego sprzężenia pomiędzy nimi) to najprawdopodobniej wynik strukturyzacji danych.

Brak możliwości uzyskania map genetycznych uniemożliwia określenie lokalizacji markerów sprzężonych z badaną cechą na chromosomach żyta za pomocą mapowania interwałowego. Istnieje jednak możliwość identyfikacji markerów asocjowanych z badaną cechą. Mapowanie asocjatywne wykonane z wykorzystaniem wszystkich populacji pozwoliło na wykrycie markerów asocjowanych z genami przywracania płodności pyłku. Uzyskane asocjacje były jednak bardzo słabe i sugerowały obecność genu przywracania płodności na chromosomie 6R.

Zagęszczanie populacji mapujących pokolenia F_2 żyta ozimego markerami SSR:

Analizę molekularną populacji mapujących wyprowadzonych zarówno z wykorzystaniem źródeł europejskich jak i orientalnych, przeprowadzono również z wykorzystaniem markerów molekularnych typu SSR. Przetestowano ok. 200 markerów SSR. Tylko nieliczne z badanych markerów segregowały w obrębie badanych populacji mapujących.

Badanie segregacji markerów specyficznych z wykorzystaniem populacji mapujących pokolenia F_2 żyta ozimego:

Mapowanie interwałowe oraz asocjacyjne wykonane dla wszystkich populacji mapujących żyta wykorzystywanych w ramach niniejszego projektu umożliwiło identyfikację szeregu markerów DArT asocjowanych z QTL genami przywracania płodności pyłku. W tych przypadkach gdzie sekwencje DNA markerów DArT były znane podjęto działania prowadzące do opracowania starterów specyficznych względem wytypowanych markerów DArT. Opracowano 31 par starterów oraz warunki umożliwiające powielanie markerów specyficznych. 31 par starterów umożliwiło powielanie markerów DNA przy czym 13 było polimorficznych w obrębie poszczególnych populacji. Markery specyficzne okazały się powielać polimorficzne fragmenty DNA w tych populacjach mapujących, w obrębie których były identyfikowane. Opracowano marker specyficzny względem sekwencji markera DArT sprzężonego z genem na chromosomie 4R. Marker ten praktycznie nie występuje w przypadku roślin sterylnych. W 92 procentach przypadków roślina charakteryzująca się profilem z danym markerem będzie płodna z przedziału skali bonitacyjnej od 5 do 9.

Podsumowanie:

Kontynuowane są prace nad wyprowadzeniem kolejnych pokoleń roślin prowadzonych na linii rekombinacyjne.

Przebadano kolejne populacje mapujące pod kątem występowania genów przywracania płodności pyłku u żyta z CMS Pampa. Otrzymane wyniki sugerują, że ojcowskie formy wyprowadzone na bazie form orientalnych zawierają gen przywracania płodności lokalizujący się na chromosomie 6R.

Zagęszczono mapy genetyczne szeregu populacji mapujących pokolenia F₂ za pomocą markerów SSR.

Konwertowano szereg markerów DArT sprzężonych lub asocjowanych z genami przywracania płodności do warunków specyficznego PCR i przetestowano ich segregację na DNA populacji mapujących.

Specyficzny marker do genu na chromosomie 4R będzie wykorzystany podczas krzyżowań z formami restorerowymi niezawierającymi tego genu oraz do kontroli krzyżowań wstecznych celem potwierdzenia jego użyteczności do selekcji wspartej markerami molekularnymi.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 28.

Tytuł projektu: Poszukiwanie źródeł odporności na rdzę brunatną (*Puccinia triticina*), rdzę żółtą (*Puccinia striiformis*) i mączniaka (*Blumeria graminis*) u pszenżyta.

Kierownik projektu: dr A. Strzembicka

Celem pracy było wyodrębnienie źródeł odporności na rdzę brunatną *Puccinia triticina* rdzę żółtą *Puccinia striiformis* i mączniaka *Blumeria graminis* spośród perspektywicznych genotypów pszenżyta ozimego.

Przedmiotem badań były rody pszenżyta ozimego o normalnej długości z doświadczeń wstępnych 2010/11- 33 obiekty wraz wzorcami Borwo, Fredro oraz 3 wzorcami wrażliwości: Grenado, Lamberto, Marko. W badaniach wzięło udział także 57 genotypów pochodzących z różnych rejonów uprawy pszenżyta: 1- Borowo, 2- Choryń, Dębina, Szelejowo, Laski oraz 3 -Małyszyn. Ponadto do badań włączono 4 formy pszenżyta, które w poprzednim okresie badań charakteryzowały się wysoką odpornością na rdzę brunatną i mączniaka w miejscowościach, gdzie prowadzono ocenę zdrowotności. Ogółem w roku sprawozdawczym przebadano 94 genotypy pszenżyta ozimego wraz z 5 wzorcami.

Jesienią 2010 roku w Grodkowicach i w Krzeczowicach wysiano wymieniony wyżej materiał badawczy w jednym powtórzeniu wraz z wzorcami po 2 rządki.

Odporność genotypów pszenżyta na obydwie gatunki rdzy i mączniaka badano w stadium siewki i w stadium rośliny dorosłej w polu w warunkach sztucznej inokulacji w Grodkowicach i w warunkach naturalnej infekcji w Krzeczowicach.

Materiał infekcyjny do zakażeń stanowiła populacja izolatów rdzy brunatnej *P. triticina*, rdzy żółtej *P. striiformis* i mączniaka *B. graminis*. Użyte w badaniach izolaty rdzy brunatnej i mączniaka pochodziły zarówno z pszenicy jak i z pszenżyta, zaś izolaty rdzy żółtej pochodziły tylko z pszenżyta (z odmian Dinaro, Grenado, Marko). W omawianym roku w skład populacji *P. triticina* użytej do zakażeń włączono nowe, zidentyfikowane patotypy charakteryzujące się między innymi wirulencją wobec genów Lr 9 i Lr 24, dotychczas wysoce skutecznych.

W szklarni siewki w stadium 2-go liścia zakażano mieszaniną izolatów *P. triticina* i *B. graminis* pochodzących z pszenicy i pszenżyta oraz populacją *P. striiformis* z pszenżyta. Po 12-dniowej inkubacji w kontrolowanych warunkach (szklarnia, komora klimatyczna, temp. 22/18°C) przeprowadzono ocenę porażenia siewek w skali 0-4. Typ infekcji 0-2 interpretowano jako odporny, zaś 3-4 jako wrażliwy.

Przeprowadzono w Grodkowicach w polu sztuczną inokulację rdzą brunatną i rdzą żółtą roślin poszczególnych genotypów pszenżyta w fazie przed kłoszeniem. Ocenę porażenia form przeprowadzono 3- krotnie w odstępach 2-tygodniowych w oparciu o powszechnie stosowaną wizualną skalę 9-cio stopniową.

Dla dokładniejszego porównania poziomu występowania rdzy brunatnej i mączniaka przeprowadzono przekształcenia uzyskanych stopni porażenia w skali 9-cio stopniowej na

wartości powierzchni porażenia, następnie wyliczono poziom odporności połowej poszczególnych form, określając wielkość powierzchni pod krzywą rozwoju choroby stosując współczynnik AUDPC. Dla zbadania zróżnicowania genotypów pod względem odporności określono współczynniki zmienności (CV %).

Wyniki oceny 33 form pszenżyta ozimego z doświadczeń wstępnych pod względem odporności w stadium siewek na populację izolatów *P. triticina* pochodzącą z pszenżyta wskazują na znaczną wrażliwość badanych form na tego patogena. Tylko 6 form charakteryzowało się odpornością podczas gdy większość 20 form wykazało odporność na populację rdzy pochodzącą z pszenicy. Odporność w stadium siewek na obie populacje *P. triticina* notowano u 3 genotypów oraz u odmiany Borwo. Podobną sytuację notowano w przypadku oceny tych form pszenżyta pod względem odporności na populację mączniaka *B. graminis*. Przeważająca liczba badanych rodów uległa porażeniu populacją pochodzącą z pszenżyta, zaledwie 6 odznaczało się odpornością, podczas gdy 28 charakteryzowało się odpornością na populację mączniaka pochodzącą z pszenicy. Odporność na obie populacje patogena notowano u 6 genotypów a także u odmian Borwo i Grenado. Odporność w fazie siewek na populację rdzy żółtej z pszenżyta stwierdzono u 23 genotypów, także u odmian Borwo i Fredro.

Wyniki oceny 57 genotypów pszenżyta pochodzących z 3-ch rejonów uprawy świadczą także o znacznej wrażliwości tych form w stadium siewek na populacje *P. triticina* i *B. graminis* pochodzących z pszenżyta (19 i 26 odpornych odpowiednio). Podczas gdy u zdecydowanej większości spośród badanych stwierdzono odporność na populację izolatów pochodzącą z pszenicy (45 i 52 odpornych odpowiednio). W przypadku rdzy żółtej odpornymi na populację z pszenżyta okazało się 45 genotypów. Spośród 57 badanych odporność na obydwie populacje *P. triticina* notowano u 15 genotypów, zaś na obydwie populacje *B. graminis* u 26 form. Odporność w fazie siewki na obydwie gatunki rdzy i mączniaka stwierdzono u 10 genotypów.

Warunki klimatyczne w roku bieżącym w Grodkowicach były sprzyjające dla rozwoju rdzy brunatnej, co pozwoliło na rozwój choroby. Również istotny wpływ na stopień porażenia miała także zastosowana sztuczna inokulacja gdzie rdza wystąpiła już w znacznym nasileniu od połowy czerwca. Obserwowano zróżnicowaną reakcję genotypów pszenżyta na porażenie - zakres 9-4 w skali 9-cio stopniowej. Wartość współczynnika zmienności kształtowała się od 13,4 do 24,4%. Spośród 33 genotypów z doświadczeń wstępnych 12 odznaczało się wysokim poziomem odporności połowej w czasie całego okresu wegetacyjnego, średnią odporność, porażenie w skali w stopniu 6 notowano u 12 form. W warunkach naturalnej infekcji w Krzczowicach obserwowano niższe porażenie rdzą w czasie okresu wegetacji. Zakres porażenia dla genotypów pszenżyta wynosił 9 - 5. Wartość współczynnika zmienności kształtowała się od 15,8 do 20,8%.

Mączniak na pszenżycie w obu miejscowościach wystąpił w słabym nasileniu w ciągu całego okresu wegetacji, zasięg porażenia wynosił 9 - 6. Wartość współczynników zmienności dla obu miejscowości była podobna i wahała się od 11,4 do 14,8%, co świadczy o słabym zróżnicowaniu badanych genotypów pszenżyta pod względem odporności na mączniaka.

W roku sprawozdawczym rdza żółta *P. striiformis* nie wystąpiła na biorących udział w badaniach genotypach pszenżyta, zarówno w Grodkowicach mimo wykonanej sztucznej inokulacji tym patogenem jak i w Krzczowicach. Nie notowano wystąpienia rdzy nawet na wzorcu wrażliwości Marko.

Spośród 57 genotypów pszenżyta ozimego pochodzących z 3-ch rejonów uprawy 22 wykazało wysoką odporność na rdzę brunatną w Grodkowicach, zaś w Krzczowicach, gdzie 54 formy znalazły się w klasie porażenia 9-7, nie notowano form wrażliwych. Nie obserwowano także zróżnicowanej reakcji omawianych form na porażenie mączniakiem,

zarówno w Grodkowicach jak i w Krzeczowicach podobnie jak w przypadku genotypów z doświadczeń wstępnych.

W roku sprawozdawczym do badań włączono 4 genotypy pszenżyta, które w ubiegłym roku odznaczały się wysoką odpornością na rdzę brunatną i mączniaka. Genotypy te zostały wysiane w doświadczeniu w Grodkowicach i Krzeczowicach w formie kolekcji źródeł odporności. Wybrane genotypy utrzymały odporność przez okres tych 2-ech lat badań w obu miejscowościach.

Podsumowując, należy podkreślić, że zastosowanie sztucznej inokulacji rdzą brunatną w Grodkowicach wpłynęło na bardziej zróżnicowaną reakcję genotypów pszenżyta na porażenie niż w warunkach naturalnej infekcji w Krzeczowicach.

Znacznie większe zróżnicowanie badanego materiału na poszczególne patogeny notowano w stadium siewek zwłaszcza w przypadku oceny na populacje *P. triticina* i *B. graminis* pochodzącą zarówno z pszenicy jak i z pszenżyta, na uwagę zasługują formy odporne na populacje z obu gatunków zbóż.

Przeprowadzona ocena materiału badawczego doświadczeń wstępnych w roku sprawozdawczym w obu miejscowościach pozwoliła na wyodrębnienie 28 genotypów pszenżyta o wysokim poziomie odporności polowej na rdzę brunatną, wśród których 3 genotypy wykazały odporność również w stadium siewek. W tej grupie materiału 17 form charakteryzowało się wysoką odpornością polową na mączniaka, w tym 3 rody łączyły odporność w obu stadiach rozwojowych. Odpornością polową zarówno na rdzę brunatną jak i mączniaka charakteryzowało się 10 form. Warto zaznaczyć, że wszystkie formy odznaczały się odpornością również w innych doświadczeniach polowych prowadzonych w kraju.

Przeprowadzone badania genotypów pszenżyta pod względem odporności na rdzę brunatną i mączniaka w stadium siewek i w stadium rośliny dorosłej pozwoliły na wyodrębnienie form o znacznym poziomie odporności. Szczególne znaczenie mają genotypy łączące odporność w obu stadiach rozwojowych, jak również łączące odporność zarówno na rdzę jak i na mączniaka. Warto zaznaczyć, że badania wymienionych wyżej form odpornych będą kontynuowane, celem sprawdzenia czy ich odporność będzie trwała w czasie oraz czy będzie stabilna i efektywna w różnych środowiskach.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 29.

Tytuł projektu: Wytworzenie źródeł genetycznych pszenżyta ozimego o skróconym źdźble i zwiększonej odporności na septoriozę liści i plew.

Kierownik projektu: prof. dr hab. E. Arseniuk

Zakres zrealizowanych prac badawczych:

Prace laboratoryjne mające na celu wytworzenie linii podwojonych haploidów (DH) prowadzone były w Pracowni Hodowli Odpornościowej IHAR PIB Radzików. Materiałem wyjściowym były mieszańce F₁. W roku sprawozdawczym w Pracowni wykonywano doświadczenia z liniami mieszańcowymi przekazanymi w latach:

- 35 linii mieszańców pszenżyta z 2009 r. Linie DH z tych mieszańców udostępnione w tym roku hodowcom (96 linii)
- 26 linii mieszańców pszenżyta z 2010 r. Mieszańce F₁, z których wyprowadzano linie DH w tym roku
- 39 linii mieszańców pszenżyta z 2011 r. Mieszańce F₁ wysiane w tym roku.

W celu otrzymania linii DH nasiona mieszańców wysiewano do pojemników, które umieszczono w komorach fitotronowych. Kłosa zbierano w okresie, gdy osiągnęły one środkową fazę jednojądrowego stadium ziaren pyłku. Następnie umieszczono je na okres 7 do 10 dni w chłodni. Pylniki wykładano na szalki z pożywką A i przenoszono do inkubatora do

temperatury 26°C. Po około 6 tygodniach rozpoczęto sukcesywne przekładanie kalusa na pożywkę R₁. Następnie wytworzone z kalusa rośliny przenoszono do kolbek na pożywkę ukorzeniającą R₄. Zregenerowane rośliny po ukorzeniu poddawano jarowizacji trwającej 6 tygodni w temp. 4°C. Po zakończeniu jarowizacji rośliny wysadzano do pojemników z ziemią i wstawiono do komory fitotronowej do momentu uzyskania ziarniaków. Proces wykładania pylników został już zakończony, natomiast w dalszym ciągu trwa regeneracja roślin, ukorzenie, jarowizacja i sadzenie otrzymanych regeneratów.

Uzyskanie nasion DH z mieszańców otrzymanych w roku 2011 oraz założenie doświadczenia testującego odporność linii DH na porażenie przez *S. nodorum* planowane jest na jesień 2012 roku. Jesienią tego roku zostały one wysiane i poddane jarowizacji.

Wszystkie materiały wysiane zostały w 4 powtórzeniach obejmujących 1 powtórzenie kontrolne i 3 powtórzenia zakażane w układzie losowanych bloków. Poletka inokulowano trzykrotnie w ciągu sezonu zawiesiną zarodników *S. nodorum*. Pierwsza inokulacja przeprowadzona została w fazie wczesnej butonizacji (na krótko przed kłoszeniem) (GS 45 wg skali Zadoksa), a drugą inokulację przeprowadzono w fazie kłoszenia, natomiast trzecią w początkowej fazie kwitnienia (GS 59). Poletka kontrolne opryskiwane były Tiltlem 250 EC (0,1% s.a. – propikonazol). W doświadczeniu oceniano: wczesność kłoszenia roślin (określaną liczbą dni od 1 stycznia do początku kłoszenia), wysokość roślin (podaną w cm) oraz odporność w skali od 1 do 9 (gdzie 1 oznacza rośliny podatne, a 9 odporne). Ocenę stopnia porażenia roślin przez *S. nodorum* rozpoczynano w momencie pojawienia się pierwszych objawów choroby. Stopień odporności liści oceniano sześciokrotnie, kłosów pięciokrotnie w tygodniowych odstępach czasu aż do naturalnego zamierania roślin.

Wyniki fenotypowej analizy odporności rodów pszenżyta w doświadczeniu wstępnym:

Zakres terminów kłoszenia roślin poszczególnych linii wahał się od 143 do 150 dni. Wysokość badanych roślin wynosiła od 73 cm do 112 cm. Zakres reakcji na porażenie obiektów DW pszenżyta ozimego przez *S. nodorum* dla liści to 3,9 (skala 1-9) do 5,8. Dla plew kłosów zakres ten zamykał się w przedziale 3,7 do 4,6.

Wyniki fenotypowej analizy odporności linii DH pszenżyta:

Zakres terminów kłoszenia roślin poszczególnych linii mieścił się w przedziale od 143 do 151 dni. Wysokość roślin wynosiła od 63 cm do 130 cm. Zakres reakcji na porażenie linii DH pszenżyta ozimego przez *S. nodorum* dla liści oscylował w granicach od 3,7 (skala 1-9) do 5,7 natomiast dla plew kłosów od 3,1 do 5,2. Żadna z linii DH nie charakteryzowała się całkowitą odpornością (stopień porażenia = 9) bądź całkowitą podatnością (stopień porażenia = 1), zarówno w przypadku liści jak i kłosów.

Wyniki fenotypowej analizy odporności obiektów pszenżyta zebrane w punktach doświadczalnych:

Ocenę obiektów pszenżyta ozimego pod względem odporności na *S. nodorum* wykonano w 3 punktach doświadczalnych zgodnie z wyżej opisanymi procedurami. Żaden z rodów w doświadczeniach wstępnych z pszenżytem krótkosłomym i długosłomym nie charakteryzował się odporniejszymi liśćmi od wzorca Borwo, natomiast 2 rody doświadczenia wstępnego długosłomego charakteryzowały się istotnie większą odpornością kłosów niż odmiany wzorcowe.

Analiza wartości korelacji między wartością porażenia liści w doświadczeniu wstępnym długosłomym wskazują na największe związki korelacyjne między: Radzikowem, Borowem a Dębiną. Wskazuje to na podobne warunki środowiska oraz podobną metodykę oceny.

W roku 2011 wysiano obiekty, które w roku następnym zostaną atestowane pod względem odporności na *S. nodorum*. Były to zarówno linie DH uzyskane w Pracowni jak i obiekty przekazane przez Hodowców w ramach doświadczenia wstępnego (poletka 1m²):

- 68+2 Linie DH R0

- 24+2 Linie DH R1
 - 48+2 Linie DH R2
 - 67+2 Linie DH R3
 - 52+2 Rody Doświadczenia wstępnego
- Odmianami wzorcowymi były Borwo i Fredro.

Wnioski

- 1) Wśród wyprowadzonych linii DH zidentyfikowano, odpowiednio, jedną linię o wyższej odporności liści oraz siedem linii o wyższej odporności plew w porównaniu z odmianami wzorcowymi FREDRO i BORWO. Piętnaście linii charakteryzowało się stopniem odporności plew równym odmianom wzorcowym.
- 2) Wśród rodów DW wytypowano 2 rody o odporniejszych liściach, oraz 3 rody o odporności równorzędnej odporności wzorców.
- 3) Wprowadzenie techniki podwojonych haploidów zwiększa zmienność genetyczną, a tym samym zwiększa szanse uzyskania linii o wyższej odporności na *S. nodorum* w porównaniu z hodowlą prowadzoną tradycyjnymi metodami, czego przykładem jest porównanie liczby linii DH o wyższej odporności na badanego patogena w porównaniu z liniami rekombinacyjnymi z doświadczenia wstępnego.
- 4) Analiza wartości korelacji między poszczególnymi cechami agronomicznymi wykazała istotną ujemną korelację między wczesnością linii a jej wysokością (im obiekt wcześniejszy, tym niższa jego wysokość), oraz dodatnią korelację między porażeniem liści a porażeniem kłosów (im bardziej porażone liście, tym bardziej porażone kłosy).

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 30.

Tytuł projektu: Badanie odporności genotypów pszenżyta na fuzariozę kłosów i akumulację mikotoksyn fuzaryjnych w ziarnie.

Kierownik projektu: dr T. Góral

Materiały:

- 34 genotypy pszenżyta ozimego tradycyjnego;
- 34 genotypy pszenżyta ozimego o skróconej słomie
- wzorce: wysoko plonujące odmiany Borwo, Fredro.

Metodyka:

Obiekty wysiane zostały w trzech powtórzeniach w doświadczeniu polowym w Radzikowie. Materiałem infekcyjnym była mieszanina 3 izolatów *Fusarium culmorum*, wytwarzających deoksyniwalenol, niwalenol oraz zearalenon. Pszenżyto inokulowane było przez oprysk kłosów zawiesiną zarodników o stężeniu ok. 5×10^5 zar./ml. Wykonano 3 inokulacje wszystkich obiektów w odstępach 2-dniowych. Inokulację rozpoczęto w okresie pełni kwitnienia najwcześniejszych odmian. Po wystąpieniu objawów choroby przeprowadzono ocenę nasilenia fuzariozy kłosów. Określano występowanie fuzariozy kłosów (liczba kłosów porażonych na poletku) oraz porażenie kłosa (brane pod uwagę były tylko kłosy z objawami choroby). Mierniki te posłużyły do wyliczenia indeksu fuzariozy kłosów (IFK) określającego udział porażonych kłosków w ogólnej liczbie kłosków na poletku. Wykonano pomiary wysokości roślin. Po zbiorze kłosów oznaczona będzie względna redukcja składników plonu ziarna z kłosa oraz stopień uszkodzenia ziarniaków przez *Fusarium* (FDK).

Doświadczenie infekcyjne przeprowadzono również w warunkach częściowo kontrolowanych w tunelu foliowym z instalacją zraszającą. Pszenżyto inokulowane było przez oprysk kłosów zawiesiną zarodników o stężeniu ok. 5×10^5 zar./ml. Po inokulacji rośliny przez kilka dni utrzymywano wysoką wilgotność powietrza. Pierwszą obserwację przeprowadzono 10 dni po

inokulacji. Oceniano liczbę punktów infekcji na kłosie (odporność typu 1). Drugą obserwację wykonano 21 dni po inokulacji. Oceniano liczbę kłosek porażonych na skutek wzrostu grzyba w kłosie (odporność typu 2). Trzecią obserwację przeprowadzono 30 dni po inokulacji celem określenia maksymalnego porażenia kłosek (typ 7, „late blighting” wg. Mesterhazy’ego - „Wheat in Global Environment” 2001). Po zbiorze kłosek oceniono stopień uszkodzenia ziarniaków przez *Fusarium* (FDK).

Analizowano zawartość mikotoksyn fuzaryjnych w ziarnie z doświadczenia w tunelu. Zearalenon (ZEA) oznaczano za pomocą ilościowego testu immunoenzymatycznego AgraQuant® ZON. Trichoteceny grupy B (deoksyniwalenol [DON], 3-acetyldeoksyniwalenol [3AcDON], 15-acetyldeoksyniwalenol [15AcDON], niwalenol [NIV]) były analizowane przy wykorzystaniu techniki chromatografii gazowej.

Wyniki:

Doświadczenie infekcyjne w warunkach polowych

Średnie nasilenie fuzariozy kłosek dla badanych 35 genotypów pszenżyta ozimego tradycyjnego było niskie i wynosiło 5,4%. Zakres reakcji mieścił się w granicach od 1,3 do 12,7%. Niskie porażenie kłosek pszenżyta wynikało z niekorzystnych warunków pogodowych podczas kwitnienia (wysoka temperatura, minimalne opady). Opady w czerwcu były niskie (suma 32,2 mm) i rozłożone nierównomiernie (5 dni z intensywnymi, krótkotrwałymi opadami). Spowodowało to wolny rozwój choroby i wczesne bielenie kłosek, które uniemożliwiało przeprowadzenie wiarygodnych obserwacji. Porażenie kłosek pszenżyta krótkosłomego było zbliżone do wartości dla pszenżyta tradycyjnego i wyniosło 3,5%, zakres reakcji 1,2 – 11,0%

Doświadczenie infekcyjne w warunkach kontrolowanych

W doświadczeniu w warunkach kontrolowanych nasilenie fuzariozy kłosek pszenżyta tradycyjnego było wysokie. Średnio liczba punktów infekcji (typ 1) wyniosła 1,3. Zakres zmienności cechy 0,5–2,4. Liczba porażonych kłosek 21 dni po inokulacji (typ 2) wyniosła 4,7. Zakres zmienności cechy 2,0–8,8. Korelacja pomiędzy odpornością typu 1 i 2 była istotna statystycznie. Niektóre genotypy charakteryzowały się wysoką odpornością typu 1 oraz niską typu 2. U innych wystąpił odwrotny układ typów odporności.

Maksymalne porażenie kłosa (LPK3) wyniosło średnio 9,6 kłosek, zmienność cechy mieściła się w zakresie 3,9-18,9 kłosek. Średnie uszkodzenie ziarniaków przez *Fusarium* było wysokie i wyniosło 45,6%. Zakres reakcji mieścił się w granicach od 15,9 do 74,8%.

Zawartość ZEA w ziarnie była wysoka i wyniosła średnio 717 ppb, w zakresie 13-2005 ppb. Najwięcej ZEA znaleziono w ziarnie 2 genotypów oraz odmian Borwo i Fredro.

Nie stwierdzono zależności pomiędzy odpornością kłosa różnych typów a uszkodzeniem ziarniaków. Jedynie w przypadku LPK3 wystąpiła dodatnia zależność z uszkodzeniem ziarniaków. Jednakże współczynnik korelacji nie był istotny. Zawartość ZEA korelowała istotnie z maksymalnym porażeniem kłosa i uszkodzeniem ziarniaków. Dwa genotypy akumulowały małe ilości ZEA mimo silnego uszkodzenia ziarniaków. Odwrotna sytuacja wystąpiła u odmiany Fredro i jednego z genotypów. Indeks fuzariozy kłosek z doświadczenia polowego korelował istotnie z odpornością typu 1 i 2. Nie było natomiast związku z maksymalnym porażeniem (LPK3).

Nasilenie fuzariozy kłosek pszenżyta krótkosłomego było podobne jak pszenżyta tradycyjnego. Średnio liczba punktów infekcji (typ 1) wyniosła 1,7. Zakres zmienności cechy 0,9–2,9. Liczba porażonych kłosek 21 dni po inokulacji (typ 2) wyniosła 5,2. Zakres zmienności cechy 2,3–7,7. Korelacja pomiędzy odpornością typu 1 i 2 nie była istotna statystycznie. Niektóre genotypy charakteryzowały się wysoką odpornością typu 1 oraz niską typu 2. U innych wystąpił odwrotny układ odporności.

Maksymalne porażenie kłosa (LPK3) było wyższe niż u form tradycyjnych i wyniosło średnio 14,6 kłosek, zmienność cechy mieściła się w zakresie od 9,6 do 20,0 kłosek. Cecha ta

korelowała istotnie z odpornością typu 2. Średnie uszkodzenie ziarniaków przez *Fusarium* było zbliżone do wartości notowanej dla form tradycyjnych i wyniosło 40,0%. Zakres reakcji mieścił się w granicach od 10,5 do 64,2%.

Zawartość ZEA w ziarnie była wyższa niż u form tradycyjnych i wyniosła średnio 1005 ppb, w zakresie 18-4819 ppb. Najwięcej ZEA było w ziarnie odmiany Borwo oraz 3 genotypów. Ilość ZEA w ziarnie dwóch ostatnich genotypów 40-50 krotnie przekraczała maksymalne dopuszczalne stężenie tej toksyny.

Stwierdzono zależności pomiędzy odpornością kłosa różnych typów a uszkodzeniem ziarniaków. Niektóre genotypy miały niskie uszkodzenie ziarniaków mimo silnego porażenia kłosa. Zawartość ZEA korelowała istotnie ze stopniem uszkodzenia ziarniaków, a także z LPK3.

W celu sprawdzenia zależności cech korelowano wyniki dla wszystkich 70 genotypów. Wyraźna (istotna statystycznie) była zależność średniego porażenia kłosa (LPK1+2+3) od wysokości roślin. Wszystkie genotypy o wysokości poniżej 80 cm miały średnie porażenie powyżej 5 kłosek. Składniki odporności kłosa korelowały ze sobą istotnie, nie korelowały natomiast z uszkodzeniem ziarniaków. Zawartość ZEA korelowała w podobnym stopniu z uszkodzeniem ziarniaków jak i maksymalnym porażeniem kłosa (LPK3).

Doświadczenia infekcyjne w różnych punktach doświadczalnych

Odporność 36 genotypów pszenżyta ozimego tradycyjnego badano dodatkowo w doświadczeniach polowych w 4 punktach doświadczalnych: Borowo (woj. wielkopolskie), Dębina (woj. pomorskie), Małyszyn (woj. lubuskie), Szelejewo (woj. wielkopolskie). Zastosowano ten sam zestaw izolatów *F. culmorum* co w Radzikowie. Metodyka inokulacji była zbliżona. Określano odporność w skali 9°. Wyniki zostały przetransformowane do skali procentowej.

W Szelejewie ze względu na suszę porażenie kłosek było bardzo niskie nie różnicowało odporności genotypów. Niskie porażenie notowano również w Borowie – średnie 4,3 % (1,6–20,9 %) oraz w Małyszynie – średnie 5,4% (1,6–20,9 %). Znacznie wyższe było nasilenie fuzariozy kłosek w Dębinie – średnio 33,8%, zakres zmienności 3,5–50,0%. Jedynie kilka genotypów charakteryzowało się stabilną reakcją odporności w 3 punktach doświadczalnych. Wysoką, stabilną podatnością cechował się jeden genotyp. Średnie nasilenie fuzariozy kłosek w 3 punktach doświadczalnych korelowało istotnie ze średnią odpornością typu 1+2 w Radzikowie. Nie było zależności z maksymalnym porażeniem kłosa w Radzikowie. Istotna była również korelacja z nasileniem fuzariozy kłosek w doświadczeniu polowym w Radzikowie. Wyniki z Małyszyna i Borowa korelowały ze sobą, natomiast brak było korelacji w wynikach z Dębiny.

Analiza komponentów (typów) odporności wybranych genotypów

Analiza chromatograficzna trichotecen B wykazała niską zawartość DON w ziarnie (średnio 1,295 ppm). Bardzo wysoka była natomiast zawartość NIV – średnio 8,766 ppm. Stwierdzono jedynie śladową obecność acetylowych pochodnych DON – 3AcDON, 15AcDON. Zawartość DON była zbliżona do dopuszczalnego limitu dla infekcji naturalnej wynoszącego 1,250 ppm. Wartość tą przekroczyła połowa genotypów. Zawartość NIV mieściła się w granicach od 4,736 ppm do 15,586 ppm. Dla większości genotypów zmienność nie była duża – od 10,986 do 8,071. Część genotypów o niskiej zawartości NIV miała również niską zawartość DON w ziarnie. Były, więc w czołówce jeżeli chodzi o sumaryczną zawartość trichotecen. Genotypy te akumulowały również niskie ilości ZEA (ok. 400 ppb).

Analizowano zależności pomiędzy poszczególnymi cechami. Zawartość DON nie korelowała zarówno z miernikami porażenia kłosa jak i z uszkodzeniem ziarniaków. Istniała jedynie pozytywna tendencja wzrostu zawartości DON wraz ze wzrostem porażenia kłosa. Wyjątek stanowiła odporność na infekcję (typ 1) nie powiązana z zawartością DON. Okazało się, że istniała istotna korelacja ze zmienną Δ LPK oznaczającą przyrost liczby porażonych kłosek

pomiędzy pierwszą i drugą oceną. Mogło to wskazywać, że DON był produkowany przede wszystkim we wczesnym stadium rozwoju fuzariozy kłosów. Zawartość NIV korelowała z typem 2 odporności. Dla pozostałych cech zależności były podobne jak dla DON, z tym że związek z uszkodzeniem ziarniaków był silniejszy (pozytywna tendencja). Słaba była korelacja zawartości trichotecen z maksymalnym porażeniem kłosów (typ 7). Ilość ZEA w ziarnie natomiast istotnie korelowała z tym typem odporności czyli późnym porażeniem kłosa.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 32.

Tytuł projektu: Badania zdolności dopełniania męskiej sterility i przywracania płodności pyłku w systemie CMS – *T. timopheevi* przez genotypy pszenżyta (*Triticosecale* Wittm).

Kierownik projektu: dr R. Warzecha

Prace badawcze obejmowały:

- Analizę płodności mieszańców pokoleniach F_1 , BC_1 i BC_2 , wytworzonych w wyniku krzyżowania linii męskosterylnej z genotypami heksaploidalnego pszenżyta ozimego.
- Identyfikację genotypów dopełniających męską sterility i przywracających płodność.
- Wykonanie krzyżowań wypierających w liniach męskosterylnych, wytworzenie nasion do oceny stabilności męskiej sterility.

Analiza płodności mieszańców F_1 :

Przedmiotem analizy były 124 mieszańce F_1 – 70 wytworzonych z genotypami ojcowskimi z puli genowej HT i 54 z genotypami ojcowskimi z puli genowej LT.

W grupie mieszańców z genotypami z puli HT wyróżniono 2 mieszańce całkowicie męskosterylne, składające się wyłącznie z roślin męskosterylnych: MS x HT 838, MS x HT 869. W analizowanej grupie mieszańców zidentyfikowano również 2 mieszańce częściowo męskopłodne: MS x HT 849, MS x HT 855. Składały się one z roślin męskosterylnych (MS), częściowo męskosterylnych (PMS) i roślin męskopłodnych (MF). Najliczniejszą grupę, spośród analizowanych mieszańców, tworzą 43 mieszańce w których występowały rośliny częściowo męskosterylne i męskopłodne. Pozostałe 23 mieszańce miały przywróconą płodność – składały się z roślin męskopłodnych.

W grupie mieszańców z genotypami z puli LT wyróżniono 2 mieszańce całkowicie męskosterylne: MS x LT 322, MS x LT 326. Ponadto wyróżniono 2 mieszańce częściowo męskosterylne: MS x LT 287, MS x LT 318 i 4 mieszańce częściowo męskopłodne. W 34 mieszańcach występowały rośliny częściowo męskosterylne (PMS) i męskopłodne (MF). Pozostałe 12 mieszańców F_1 było męskopłodnych – ich genotypy ojcowskie przywracały męską płodność.

Przywracanie płodności mieszańców F_1 :

Przedmiotem oceny było 99 mieszańców F_1 o przywróconej płodności: 61 mieszańców wytworzonych z genotypami ojcowskimi z puli genowej HT i 38 mieszańców z genotypami ojcowskimi z puli genowej LT. Średni indeks restoracji (liczba nasion przypadająca na 1 kłosek) mieszańców F_1 z liniami ojcowskimi HT wyniósł 1,47 (od 0,67-2,23). Średni indeks restoracji mieszańców F_1 z liniami ojcowskimi LT wyniósł 1,54 (od 0,83-2,36).

Analiza płodności mieszańców BC_1 :

Przedmiotem analizy były 53 mieszańce BC_1 - 35 wytworzonych z genotypami ojcowskimi z puli genowej HT i 18 wytworzonych z genotypami ojcowskimi z puli genowej LT. Wśród mieszańców z genotypami ojcowskimi puli genowej HT wyróżniono 2 mieszańce częściowo męskosterylne. Ich formami ojcowskimi były n genotypy HT 784 i HT 802. Wśród

mieszkańców z genotypami ojcowskimi z puli genowej LT wyróżniono: 1 mieszkańca męskosterylnego i 6 mieszkańców częściowo męskosterylnych. Ich formami ojcowskimi były 3 genotypy: LT 261, LT 266 i LT 272.

Analiza płodności mieszkańców BC₂:

Przedmiotem analizy było 146 mieszkańców BC₂ - 37 wytworzonych z genotypami ojcowskimi z puli genowej HT i 109 wytworzone z genotypami ojcowskimi z puli genowej LT. Wśród mieszkańców z genotypami ojcowskimi z puli genowej HT wyróżniono: 5 mieszkańców męskosterylnych oraz 2 mieszkańce częściowo męskosterylne. Ich formami ojcowskimi były genotypy HT 662 i HT 663. Wśród mieszkańców z genotypami ojcowskimi z puli genowej LT wyróżniono: 16 mieszkańców męskosterylnych i 20 mieszkańców częściowo męskosterylnych. Ich formami ojcowskimi były następujące genotypy: LT 200, LT 204, LT 209, LT 229, LT 230, LT 236 i LT 245.

Wytworzono nasiona mieszkańców do kontynuacji oceny stabilności męskiej sterility:

BC₁ - 10 mieszkańców/90 nasion z genotypami ojcowskimi z puli genowej HT,
- 14 mieszkańców/112 nasion z genotypami ojcowskimi z puli genowej LT,
Razem BC₁ - 24 mieszkańce/202 nasiona

BC₂ - 31 mieszkańców/306 nasion z genotypami ojcowskimi z puli genowej HT
- 29 mieszkańców/318 nasion z genotypami ojcowskimi z puli genowej LT
Razem BC₂ - 60 mieszkańców/624 nasiona

BC₃ - 50 mieszkańców/878 nasion z genotypami ojcowskimi z puli genowej HT,
- 321 mieszkańców/9547 nasion z genotypami ojcowskimi z puli genowej LT,
Razem BC₃ - 371 mieszkańców/10425 nasion.

Wytworzono nasiona mieszkańców BC₁, BC₂ i BC₃ - łącznie 455 mieszkańce/ 11251 nasion.

Wytworzono nasiona genotypów ojcowskich mieszkańców BC₁ BC₂ i BC₃.

Wytworzono nasiona mieszkańców F₁ (linia męskosterylna x nowe genotypy ojcowskie pszenżyta) do identyfikacji genotypów dopełniających męską sterility i przywracających płodność pyłku:

F₁ - 61 z genotypami ojcowskimi z puli genowej HT,
- 54 z genotypami ojcowskimi z puli genowej LT,
Razem F₁ - 115 mieszkańców.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 34.

Tytuł projektu: Określenie cech warunkujących odporność na porastanie materiałów mieszkańcowych i linii DH pszenżyta.

Kierownik projektu: dr inż. P. Szecówka

Porastanie przedźniwne stanowi poważny problem w uprawie pszenżyta. Odporność różnych form uwarunkowana jest zarówno czynnikami środowiskowymi jak i genetycznymi. Odporność na porastanie oznacza się przeważnie w tzw. warunkach prowokacyjnych traktując dojrzałe technologicznie kłosa sztucznym deszczem. Powoduje to uwalnianie hamujących kiełkowanie substancji w tkance plew. Dodatkowo w ten sposób pokonywane są fizyczne bariery zabezpieczające ziarno przed wilgocią - okrywa woskowa oraz długie ości.

Cel i zakres badań

Celem podjętych badań było określenie czynników w istocie sposób wpływających na odporność rodów i linii DH pszenżyta na porastanie. Badaniami objęto 34 rody i linie DH pszenżyta ozimego oraz dwie odmiany wzorcowe: Borwo oraz Fredro. Doświadczenia prowadzono równolegle w trzech punktach badawczych.

Metodyka badań

Ocena porastania wykonana była zgodnie z przyjętą metodyką:

a) metodą Wu i Carver polegającą na zanurzeniu kłosów (pełna dojrzałość) na 5 minut w wodzie, a następnie umieszczeniu ich na szalkach Petri`ego wyłożonych wilgotną bibułą filtracyjną w ilości trzech kłosów na szalce. Codziennie kłosa były zraszane wodą, ręcznym opryskiwaczem w celu podtrzymania wilgotności. Po pięciu dniach kłosa zostały wysuszone w temperaturze 60⁰C, pokruszone a następnie policzona została całkowita ilość ziarniaków oraz ziarniaki porośnięte. Oznaczenie wykonane zostało w trzech terminach:

T I - po zbiorze

T II - po upływie 2 tygodni

T III - po upływie 4 tygodni od żniw.

b) Bonitacja porastania w kłosach metodą porostu widocznego wykonana została w specjalnie zaprojektowanych do tego celu komorach, dzięki którym możliwe było zasymulowanie warunków intensywnych opadów, przy podwyższonej wilgotności (95-98%) w temperaturze otoczenia. Ocenę porastania wykonano przy zastosowaniu komputerowej analizy obrazu, a wyniki zostały przetransformowane do skali 9⁰, gdzie: 1- ziarno porośnięte całkowicie, a 9- ziarno odporne na porastanie w kłosie.

c) Testy kiełkowania przeprowadzone wg standardowej procedury wykonane zostały na szalkach Petri`ego wyłożonych bibułą filtracyjną. Testy wykonane zostały na 50 ziarniakach przy stałym utrzymaniu wilgotności. Nasiona kiełkujące liczono po 3, 5 i 7 dniach.

d) Liczbę opadania oznaczono metodą Hagberga - Pertena (1964) przy użyciu aparatu Falling Number 1800 wg standardu ISO N 3093 i standardu ICC N 107 oraz metody AA-CC N 56-81B.

Doświadczenia prowadzone w Krakowie obejmowały ocenę porastania w kłosach metodą prowokacyjną w specjalnie zaprojektowanych i wykonanych do tego celu komorach, testy kiełkowania w 2 terminach, testy kiełkowania na szalkach metodą Wu i Carver w trzech terminach oraz oznaczenie liczby opadania w trzecim terminie.

Podsumowanie przeprowadzonych wyników badań:

W tabeli 1 przedstawione zostały statystyki podsumowujące badania przeprowadzone w Zakładzie Roślin Zbożowych w Krakowie. Stwierdzono znaczne zróżnicowanie badanych form pod względem badanych cech. W zakresie prac związanych z oceną na porastanie w warunkach prowokacyjnych minimalna odporność w skali bonitacyjnej wynosiła 2, a maksymalna 8,30. Badane formy charakteryzowały się współczynnikiem zmienności na poziomie 27,41.

Pozostałe testy tj. % kiełkowania oraz porastanie w kłosach wykazały, że wśród badanych obiektów wyróżnić można było formy o głębokim i krótkim spoczynku ale również formy o dużej odporności na porastanie. Oceniane rody różniły się również pod względem L.O. wahającej się w przedziale od 62-322 sek.

Tabela 1. Podsumowanie wyników analiz oceny porastania

Parametr	Testy prowokacyjne w komorach	% kiełkowania		Porastanie w kłosach			L.O.
		T I	T II	T I	T II	T III	
Średnia	5,92	0,75	0,88	38,86	24,26	31,09	117,81
Minimum	2,00	0,50	0,53	7,83	1,99	2,48	62,00
Maksimum	8,30	0,94	0,98	80,05	55,74	72,68	322,33
Odch. std	1,62	0,11	0,10	18,26	14,67	15,91	54,24
Wsp. zm.	27,41	14,95	11,41	46,99	60,48	51,16	46,04

W tabeli 2 przedstawiono zestawienie wyników oceny porastania metodą prowokacyjną. Wyniki oceny były podobne, a korelacja pomiędzy nimi wynosiła 0,58 i była istotna na poziomie $\alpha=0,05$.

Tabela 2. Ocena porastania metodą prowokacyjną

Parametr	Kraków	Małyszyn
Średnia	5,92	5,22
Minimum	2,00	1,00
Maksimum	8,30	9,00
Odch.std	1,62	2,59

W tabeli 3 przedstawiono zestawienie wyników oznaczenia liczby opadania w trzech punktach badawczych. Wyniki analizy różnią się pomiędzy punktem 1 a punktami 2 i 3, ze względu na występowanie naturalnego porastania ziarna w kłosie w warunkach polowych. Proces ten był uwarunkowany intensywnością opadów w punkcie 2 i 3 w okresie zbiorów.

Tabela 3. Zestawienie wyników oznaczeń liczby opadania wykonanych w 3 punktach badawczych

Parametr	Punkt 1	Punkt 2	Punkt 3
Średnia	117,81	68	76
Minimum	62,00	60	62
Maksimum	322,33	104	132
Odch.std	54,24	11	20
Wsp.zmn.	46,04	16	26

Analiza korelacji przedstawiona w tabeli 4 wykazała, że istnieje wysoka współzależność pomiędzy oceną porastania warunkach prowokacyjnych, a porastaniem w kłosach (metoda Wu i Carver). Współzależność pomiędzy liczbą opadania, a testem w warunkach prowokacyjnych (komory do oceny porastania) była istotna na niskim poziomie (0,33), natomiast w przypadku porastania w kłosach taka zależność nie wystąpiła. Potwierdzają to również analizy z lat ubiegłych.

Tabela 4. Wyniki analizy korelacji pomiędzy sposobami oceny badanych rodów i odmian pszenżyta na odporność na porastanie

	Test kiełkowania I termin	-0,54*					
	Test kiełkowania II termin	-0,38*	0,71*				
	L.O.	0,33*	0,22	0,26			
Porastanie w kłosach	I termin	-0,79*	0,49*	0,27	-0,28		
	II termin	-0,81*	0,28	0,21	-0,27	0,69*	
	III termin	-0,60*	0,52*	0,32	-0,17	0,51*	0,40*
	Porastanie w warunkach prowokacyjnych		I termin	II termin	L.O.	I termin	II termin
			Testy kiełkowania			Porastanie w kłosach	

*-istotne na poziomie $\alpha=0,05$

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 36.

Tytuł projektu: Poszukiwanie znaczników molekularnych różnicowania genetycznego w obrębie gatunku pszenżyta.

Kierownik projektu: dr hab. P. Bednarek prof. nadzw. IHAR-PIB

Zróznicowanie genetyczne form pszenżyta jest wynikiem ograniczonej puli genetycznej form wyjściowych wykorzystanych do wyprowadzenia tego gatunku. Poznanie zmienności genetycznej dostępnych form jest istotne dla planowania krzyżowań przy wprowadzaniu np. nowych odmian heterozyjnych.

W ramach niniejszego projektu kontynuowano badania taksonomiczne form pszenżyta celem określenia zróżnicowania genetycznego komponentów mieszańców pszenżyta: form z cytoplazmą *T. timopheevii* warunkującą męską sterylność, dopełniaczy oraz form restorerowych.

Podjęto również prace nad poszukiwaniem markerów molekularnych sprzężonych z cechą utrzymania męskiej sterylności pyłku i lokalizacją markerów cechy na mapie genetycznej pszenżyta. Identyfikację markerów utrzymania męskiej sterylności pyłku u pszenżyta prowadzono z wykorzystaniem specjalnie do tego celu wyprowadzonych populacji mapujących pokolenia F₂.

Do badań taksonomicznych oraz do poszukiwania markerów asocjowanych z badaną cechą wykorzystano markery DArT.

Celem projektu jest:

- analiza zróżnicowania genetycznego form pszenżyta;
- wyprowadzenie zróżnicowanych genetycznie linii rekombinacyjnych pszenżyta użytecznych do mapowania genów utrzymania jałowości pyłku w systemach z cms *T. timopheevii*;
- określenie lokalizacji chromosomowej genów warunkujących ekspresję badanej cechy.

Materiał roślinny:

Materiał roślinny do analiz taksonomicznych został dostarczony przez hodowców w postaci liści.

Do wyprowadzania linii rekombinacyjnych wykorzystano wytypowane przez hodowców formy wyjściowe stosowane w badaniach nad zjawiskiem heterozji u pszenżyta. W chwili obecnej dysponujemy licznymi formami pokolenia F₃ na F₄.

Metodyka:

Izolacja genomowego DNA

Izolację genomowego DNA wykonano zgodnie z procedurą rekomendowaną przez dostawcę zestawów do izolacji (PlantDNeases MiniKit 250).

Analiza DArT

Preparaty genomowego DNA poszczególnych form pszenżyta przekazano do analiz molekularnych metodą DArT do dr A. Kiliana (Australia).

Statystyka

Analizę skupień wykonano w programie XIStat2010.4.01 stosując metodę aglomeracji single linkage i współczynnik dystansu genetycznego Jaccard'a. **Analizę składowych głównych** wykonano w programie XIStat 2010.4.01. **Mapowanie asocjacyjne** wykonano metodą SML stosując oprogramowanie udostępnione przez dr A. Kiliana. **Mapowanie genetyczne** przeprowadzono stosując oprogramowanie JoinMap oraz software udostępniony przez dr A. Kiliana.

Rezultaty:

W chwili obecnej materiały roślinne znajdują się na różnym stopniu zaawansowania. I tak 5 populacji pokolenia F₂ na cms Tt zostało scharakteryzowanych pod względem badanej cechy. Analogi na normalnej cytoplazmie są prowadzone na linii rekombinacyjne. Aktualnie w polu wysiano ziarniaki F₃ na F₄.

Analiza skupień przeprowadzona z wykorzystaniem platformy AFLP bazującej na markerach KpnI/MseI wykazała, że formy Bht były mniej zróżnicowane od form B i w zdecydowanej większości przypadków różnice genetyczne między nimi nie przekraczały 11%. Natomiast zróżnicowanie form B wynosiło ponad 60%.

Analiza czynnikowa potwierdziła wyniki analizy skupień. Formy B różniły się od form Bht. Należy jednak podkreślić, że różnice między obiema grupami form tłumaczy nieco ponad 22% zmienności. Niewielkie zróżnicowanie pomiędzy formami B i Bht potwierdza analiza dystansu genetycznego oraz wariancji molekularnej. Współczynnik dystansu genetycznego (Nei) wynosi 1.9% natomiast PhiPt 2.9% ($p=0.0002$).

Wśród osobników populacji mapujących pokolenia F_2 pszenżyta ozimego z cms Tt dominowały rośliny o wysokich wartościach przywracania płodności pyłku oraz osadzania ziaren. We wszystkich przypadkach badane cechy nie miały rozkładu normalnego. Populacje mapujące wykazywały mniejsze lub większe cechy strukturyzacji.

Mapowanie genetyczne zostało przeprowadzone początkowo w programie JoinMap. Jednak, prawdopodobnie ze względu na strukturyzację danych uzyskanych w oparciu o populacje mapujące pokolenia F_2 bądź zbyt małą liczbę osobników użytych w badaniach, wykreślenie grup sprzężeń nie było możliwe. Było to spowodowane zbyt silnym sprzężeniem markerów DArT (wysoka redundancja). Wykorzystanie oprogramowania do mapowania genetycznego opracowanego przez grupę dr A. Kiliana umożliwiło opracowanie licznych grup sprzężeń dla wszystkich z wybranych populacji mapujących. Grupy sprzężeń składały się z silnie sprzężonych markerów. Mimo iż wymienione grupy można w znacznej mierze przypisać poszczególnym chromosomom pszenżyta (poszczególne chromosomy były reprezentowane przez szereg grup sprzężeń (nawet ponad 40), które nie łączyły się ze sobą) opracowanie mapy genetycznej nie było możliwe.

Mapowanie asocjacyjne: Ze względu na brak możliwości opracowania map genetycznych z wykorzystaniem populacji F_2 pszenżyta lokalizacja chromosomowa QTL męskiej sterylności pyłku u pszenżyta nie była możliwa. Podjęto działania, których celem było identyfikowanie markerów asocjowanych z badaną cechą. Zastosowano metodę SML. Na podstawie znanej lokalizacji chromosomowej markerów DArT obserwowano występowanie asocjacji na chromosomach 1R, 1A (413); 2A (410); 2B (CB2); 4R, 6B, 7A (407) oraz 7B (413). W wielu przypadkach lokalizacja chromosomowa silnie asocjowanych markerów nie była znana. Silniejsze asocjacje uzyskano na podstawie osadzania ziaren niż stosując bonitacyjną skalę pylenia pyłku.

Obserwacje i wnioski:

1. Formy pszenżyta Bht były bardziej wyrównane niż formy B i stanowiły część skupienia form B.
2. Populacje mapujące pokolenia F_2 pszenżyta ozimego z cms Tt wykazywały wysokie wartości pylenia pyłku oraz osadzania ziaren. Obie cechy nie miały rozkładu normalnego.
3. Mapowanie genetyczne populacji mapujących pokolenia F_2 było częściowo możliwe z wykorzystaniem oprogramowania dr A. Kiliana. Uzyskano liczne grupy sprzężeń reprezentujące większość chromosomów pszenżyta dla 4 z 5 badanych populacji. Grupy sprzężeń nie pozwoliły na opracowanie spójnych map genetycznych gatunku.
4. Brak map genetycznych uniemożliwił mapowanie cech ilościowych z wykorzystaniem mapowania interwałowego.
5. Mapowanie asocjacyjne pozwoliło na wychwycenie licznych markerów asocjowanych lokalizujących się na chromosomach żyta i pszenicy. Wartości asocjacji były jednak bardzo niskie.
6. Niskie wartości asocjacji mogą być wynikiem współdziałania wielu QTLi o relatywnie niewielkich efektach bądź też odzwierciedlają zbyt niską rozdzielczość stosowanego narzędzia statystycznego.

7. Jeżeli utrzymanie sterylności pyłku u pszenżyta jest wynikiem współdziałania wielu QTL o relatywnie niewielkich efektach to identyfikacja markerów molekularnych cechy stosowanymi metodami będzie bardzo trudna bądź wręcz niemożliwa.
8. Jeżeli uzyskany wynik jest rezultatem niskiej rozdzielczości mapowania asocjatywnego wynikającej z faktu, iż w analizach wykorzystano głównie formy o wysokich wartościach przywracania płodności pyłku (osadzania ziaren), to po rozszerzeniu badanych populacji o frakcje roślin sterylnych powinno wyjaśnić sytuację.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 37.

Tytuł projektu: Poszukiwanie form odpornych na stresy biotyczne wśród linii podwojonych haploidów pszenżyta.

Kierownik projektu: prof. dr hab. J. Zimny

Celem prowadzonych badań w roku sprawozdawczym było uzyskanie czystych linii – roślin homozygotycznych pszenżyta ozimego zawierających genetyczne źródła odporności na rdzę brunatną, mączniaka i pleśń śniegową oraz optymalizacja warunków podwajania genomu za pośrednictwem wybranych związków antymitotycznych.

Omówienie wykonywanych prac i uzyskanych wyników.

Materiały i metody:

Komponenty rodzicielskie wykorzystane do uzyskania kombinacji mieszańcowych pszenżyta ozimego charakteryzowały się odpornością na rdzę brunatną, mączniaka oraz pleśń śniegową. W wyniku przeprowadzenia ukierunkowanych krzyżowań, wyselekcjonowano 12 mieszańców, które posłużyły do wyprowadzenia linii DH drogą androgenezy w kulturze pylników.

Rośliny uprawiano w fitotronie w temperaturze 12°C/10°C (dzień/noc), przy 16 godz. oświetleniu 240 $\mu\text{E s}^{-1}\text{m}^{-2}$ i 8 godz. ciemności. Celem przeprogramowania rozwoju mikrospor w kierunku androgenezy zastosowano 3 tyg. chłodzenie ściętych pędów z kłosami w początkowej fazie kłoszenia. Kultury pylników prowadzono na zestalonej zmodyfikowanej pożywce 190-2 (Zhuang i Xu 1983) wzbogaconej 438 mg/l glutaminy, 1,5 mg/l biotyny, 90 g/l maltozy, 0,5 mg/l kinetyny oraz 2 mg/l 2,4-D. Szalki z pylnikami inkubowano w ciemności w temperaturze 26°C przez ok. 12 tyg. Powstające zarodki, struktury zarodkopodobne oraz kalus o średnicy powyżej 1mm umieszczano na pożywce regeneracyjnej (Pauk i in. 1991). Zregenerowane rośliny (ok. 2cm) przenoszono do kolbek Erlenmayera z pożywką ukorzeniającą (pożywka regeneracyjna wzbogacona 2mg/l IAA), na której rosły i wykształcały system korzeniowy. Regeneranty o wysokości ok. 10 cm przesadzono do doniczek z glebą i umieszczono w fitotronie.

Eksperyment dotyczący roli związków antymitotycznych w podwajaniu genomu przeprowadzony został na odmianach Mungis i Bogo, charakteryzujących się wysokim poziomem regeneracji zielonych roślin. Materiał do badań uprawiany był na poletkach doświadczalnych IHAR w Radzikowie. Indukcję i inicjację androgenezy oraz regenerację roślin prowadzono analogicznie do eksperymentu opisanego powyżej. Prace przeprowadzono z wykorzystaniem herbicydów - trifluraliny i aminoprofosmetylu (APM). Zastosowano różne warianty doświadczenia w zależności od stężenia powyższych związków (5 μM i 10 μM) i czasu ich działania (2 i 3 dni). Herbicydy w odpowiednich rozcieńczeniach dodawano do pożywki regeneracyjnej. Haploidalne rośliny kontrolne w stadium krzewienia zostały poddane działaniu kolchicyny. Obecnie regeneranty znajdują się w jarowizacji.

Wyniki:

Wyprowadzenie linii DH drogą androgenezy:

Porównano efektywność regeneracji w kulturze pylników 12 mieszańców pszenżyta ozimego. Regeneranty uzyskano dla wszystkich badanych kombinacji mieszańcowych. Wyłożono ponad 400 kłosów (ok. 59 tys. pylników). Liczba zregenerowanych zielonych roślin w przeliczeniu na kłos wahała się od 5,2 do 39 w zależności od kombinacji (Tab.1). W wyniku przeprowadzonych badań zregenerowano 8257 linie, co stanowi 20 roślin/kłos (ok. 0.14 roślin/pylnik). Potomstwo mieszańca LAD 543/03 x CHD 645/02-17 odznaczało się najwyższą wartością wskaźnika regeneracji zielonych roślin. Częstość pojawiania się albinosów wśród regeneratów była najwyższa dla mieszańców MAH 33467-1 x LM4 (72%) oraz BOHD1031-4 x DAD490/04 (80%), najniższa zaś dla DAD 41/06 x Alekto oraz LAD 543/03 x Trigold (odpowiednio 10% i 11%). Aktualnie rośliny są jarowizowane. Po jarowizacji regeneranty zostaną kolchicynowane. Uzyskane linie hodowlane zostaną poddane ocenie pod względem odporności na rdzę brunatną, mączniaka i pleśń śniegową.

Tabela 1. Efektywność uzyskiwania linii DH wśród mieszańców pszenżyta ozimego

Symbol	Pochodzenie	Efektywność regeneracji/kłos	Liczba zielonych regeneratów
MAH 35013	MAH 33467-1 x LM4	5,2	211
MAH 35032	MAH 4705 x MAH 32110-1	12	505
DL 194\10	LAD 543/03 x DAD 370/07	24,9	873
DL 193\10	LAD 543/03 x DAD 41/06	24,4	684
DL 191\10	LAD 543/03 x CHD 645/02-17	39	1403
DL 263\10	DAD 41/06 x Alekto	24,1	772
DL 243\10	DED 298/06 x Algosio	20,6	639
DL 214\10	Grenado x Alekto	26,8	858
DL 198\10	LAD 543/03 x Trigold	17,2	464
DL 196\10	LAD 543/03 x DED 298/06	22,5	675
Bo 2042	BOHD1031-4 x LAD543/03	19,4	814
Bo 2041	BOHD1031-4 x DAD490/04	11,2	359
Suma			8257

Wpływ inhibitorów mitozy na podwojenie garnituru chromosomowego regeneratów:

Udział podwojonych haploidów otrzymanych drogą androgenezy w wyniku indukowanej diploidyzacji *in vitro* wahał się od 35 do 63%. Rośliny, u których potwierdzono aneuploidalność oraz miksploidalność stanowiły odpowiednio 2-10% oraz 2,5–25% ogólnej liczby regeneratów. Najwyższą efektywność podwojenia liczby chromosomów w warunkach *in vitro* odnotowano przy użyciu trifluraliny (63%) i APM (59%) w stężeniu 10µM. W wyniku kolchicynowania *in vivo* 95% roślin było zdolnych do dalszego wzrostu i rozwoju. Efektywność kolchicynowania *in vivo* wyniosła 96%. W porównaniu do trifluralinu i APM, na skutek działania kolchicyny obserwowano sektorialne zmiany w morfologii kłosa (częściowa płodność) oraz morfologii całych roślin, które uległy diploidyzacji. Na wczesnych etapach rozwoju część roślin po traktowaniu związkami antymitotycznymi wytwarzała słaby system korzeniowy i miała spowolniony wzrost. W kilku przypadkach, niezależnie od stosowanego herbicydu, fenotyp był bardziej wiarygodnym wskaźnikiem poziomu ploidalności wytworzonych regeneratów niż analiza cytometryczna.

Uwzględniając najlepsze rezultaty badań z roku ubiegłego, w tym roku sprawozdawczym doświadczenia przeprowadzono w oparciu o wpływ wybranych inhibitorów mitozy, działających bezpośrednio na rośliny znajdujące się na pożywkach regeneracyjnych. Ze względu na najwyższą przeżywalność eksplantatów, najwyższy współczynnik regeneracji

roślin oraz najwyższą efektywność diploidyacji spośród przetestowanych związków do badań wybrano trifluralinę oraz APM. Ponad 1000 otrzymanych linii poddano działaniu tych antymitotyków w warunkach *in vitro*. Kontrolę stanowią regeneranty uzyskane spontanicznie. Otrzymane regeneranty obecnie uprawiane są w fitotronie. W celu porównania efektywności działania herbicydów oraz tradycyjnie stosowanej kolchicyny, haploidalne rośliny w stadium krzewienia zostaną skolchicynowane. Po jarowizacji i przeniesieniu roślin do warunków szklarniowych przy użyciu cytometru przepływowego zostanie przeprowadzona ocena poziomu ploidalności, której wyniki będą porównane ze zdolnością do zawiązywania ziarniaków.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 38.

Tytuł projektu: Określenie interakcji między odpornością na stresy biotyczne a cechami wartości gospodarczej jęczmienia jarego.

Kierownik projektu: prof. dr hab. H.J. Czembor

Zakres prac realizowanych w bieżącym roku:

- Rozmnożenie linii do doświadczeń w 2012 roku.
- Rozmnożenie populacji mieszańcowych F₁ z roku 2010 (program rubinales).
- Przeprowadzenie doświadczenia z liniami odpornymi na rdzę i/ lub mączniaka.
- Określenie spektrum odporności wybranych z doświadczenia linii na zakażenie wybranymi izolatami rdzy i mączniaka.

Szczegółowe omówienie wykonanych prac:

Rozmnożenie 51 populacji mieszańcowych złożonych kombinacji krzyżówkowych niosących odporność na mączniaka i rdzę karłową. Przeprowadzenie w okresie wegetacji oceny ich wartości gospodarczej, szczególnie odporności na choroby. Wybór populacji do dalszych badań.

Rozmnożenie w szkółce polowej 34 populacji F4BC1 w programie Rubinales i ich ocena w warunkach kontrolowanych pod względem odporności na izolat wirulentny w stosunku do genu Rph 7 w roku 2012.

Ocena wartości gospodarczej 21 linii w doświadczeniu 1-powtórzeniowym w 5 miejscowościach, metodą wzorcową na poletkach 5m².

Określenie reakcji 112 linii jęczmienia jarego przekazanych w roku 2010 na zakażenie 30 izolatami *Blumeria graminis* i 4 *Puccinia hordei* o znanej patogeniczności w stosunku do genów referencyjnych dla w/w patogenów.

Uzyskanie materiału nasiennego 114 odmian do oceny w 2012 roku w warunkach kontrolowanych.

Wyniki i dyskusja:

Z ocenionych w szkółce polowej 51 populacji F₄ pod względem wartości cech gospodarczych, szczególnie odporności na choroby wybrano 35 do dalszych badań. W ramach kombinacji wybrano po ok. 100 linii do oceny w punktach doświadczalnych w 2012 roku.

Wyprowadzono 34 populacje F4BC1 z odpornością na populację rdzy karłowej występującą w Polsce oraz odpornością na izolat Rubinales, wirulentny w stosunku do genu Rph 7, dotąd warunkującego odporność na rdzę odmian europejskich z tym genem.

W doświadczeniach w 5 miejscowościach w porównaniu do odmian wzorcowych pod względem plenności wyróżniły się linie: RAH 1959, RAH 1967, RAH 1975, RAH 1987 w Bąkowie; RAH 1805, RAH 1820, RAH 1962, RAH 1969, RAH 1977 w Choryni; RAH 1806, RAH 1815, RAH 1822, RAH 1879, RAH 1903, RAH 1913 w Nagradowicach; RAH

1817, RAH 1965, RAH 2008, RAH 2011 w Polanowicach; RAH 1784, RAH 1811, RAH 1925, RAH 1976, RAH 2000 w Strzelcach.

Oceniono reakcję 112 odmian jęczmienia jarego na zakażenie 30 izolatami *B. graminis* f.sp. *hordei*, zróżnicowanych pod względem patogeniczności do odmian testowych. Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że w krajowej hodowli jęczmienia dominuje udział genu mlo, warunkującego wysoką odporność na mączniaka. Pojawiły się również wysoce efektywne geny o nieokreślonym statusie genetycznym w stosunku do znanych genów odporności opisanych w literaturze. Jak na odmiany zaawansowane hodowlanie, niepokojący jest znaczny udział odmian o heterogenicznym uwarunkowaniu odporności. Oceniane próby nasion tych odmian w liczbie od 15 do 20 wykazują istotne różnice w reakcji na zakażenie izolatami o znanej patogeniczności (oznaczone je jako „heterogeniczne”). W ocenianej próbie np. kilka roślin jest odpornych w stopniu „0” (4) a pozostałe są podatne – ocena w stopniu „4”.

Podobnie oceniono reakcję 112 odmian z polskiej hodowli pod względem reakcji na 4 izolaty *P. hordei*. Odmiany: BKH 7118, BKH 7356, STH 96028 wykazywały wysoką odporność, a odmiany: BKH 7177, DC 7/10, NAD 06142, NAD 06147POB 1059/08 pełną podatność na użyte w ocenie izolaty. Pozostałe odmiany były odporne na 1, 2 lub 3 izolaty.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 39.

Tytuł projektu: Poszukiwanie nowych źródeł odporności jęczmienia jarego na patogeniczne grzyby.

Kierownik projektu: dr hab. J. Czembor prof. nadzw. IHAR-PIB

Zakres prac realizowanych w bieżącym roku:

- Krzyżowanie 10 wybranych linii odpornych z formą podatną i liniami izogenicznymi o znanych genach odporności.
- Ocena markerów molekularnych do lokalizacji genów w badanych liniach odpornych.
- Przeprowadzenie doświadczeń z rodzinami F₃ uzyskanymi w roku 2010 w celu określenia genetycznego uwarunkowania odporności badanych linii na mączniaka.
- Założenie doświadczenia z liniami odpornymi na mączniaka i rdzę karłowatą w różnych warunkach środowiska – jesienna szkółka infekcyjna.

Szczegółowe omówienie wykonanych prac i uzyskanych wyników:

Krzyżowano 7 linii odpornych z linią izogeniczną Pallas P22, referencyjną dla genu mlo. Rozmnożono uzyskane populacje F₁ na F₂ do badań w roku 2012.

Sprawdzono przydatność markerów molekularnych SSR: HVMlo1 i HVMlo3 do identyfikacji genów w locus Mlo dla populacji F₂ kombinacji krzyżówkowych badanych odmian z linią izogeniczną Pallas P22, referencyjną dla genu mlo.

Oceniono reakcję 7 populacji rodzin F₃ kombinacji krzyżówkowych badanych linii odpornych z podatną Manchurian. Do oceny reakcji na zakażenie użyto izolatu Bgh 27, awirulentnego do badanych linii odpornych, a wirulentnego do odmiany podatnej Manchurian. Doświadczenia fitopatologiczne prowadzono w warunkach kontrolowanych. Do oceny reakcji roślin zakażonych stosowano skalę: 0, 1, 2, 0(4) – rośliny odporne, 3 i 4 – rośliny podatne.

W ramach usługi badawczej wysiano w 5 miejscowościach zestaw 60 odmian (dalej określane jako „Szkółka infekcyjna”) o zróżnicowanej odporności na choroby jęczmienia. Zasiewu dokonano po żniwach w celu uchwycenia nasilenia objawów chorobowych z pierwotnych infekcji.

Wyniki i dyskusja:

W warunkach szklarniowych i szkółce polowej uzyskano 7 populacji mieszańcowych, kolejno F₁ i F₂, linii odpornych skrzyżowanych z linią izogeniczną Pallas P22 referencyjną dla genu mlo. Uzyskany materiał nasienny zostanie wykorzystany w roku 2012 do przeprowadzenia testu na alleliczność genów w badanych liniach z genem mlo w linii Pallas P 22.

Kontynuowano badania nad dziedziczeniem odporności na mączniaka 7 linii jęczmienia jarego wyprowadzonych we wcześniejszych badaniach Pracowni Genetyki Stosowanej IHAR. W roku sprawozdawczym określono sposób dziedziczenia genów odporności w populacjach mieszańcowych F₃ pochodzących z kombinacji linia odporna x odmiana podatna. Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że badane linie mają gen mlo warunkujący wysoką odporność na mączniaka. Linie te po rozmnożeniu i opublikowaniu uzyskanych wyników badań, zostaną przekazane do Banku Genów w Radzikowie.

W jesiennym zasiewie szkółki infekcyjnej oceniono w 5 miejscowościach odporność 60 odmian jęczmienia jarego na porażenie mączniakiem, rdzą karłową, plamistością siatkowaną i rynchosporiozą. Porażenie mączniakiem i rdzą obserwowano we wszystkich miejscowościach, a plamistość siatkowaną i rynchosporiozę odpowiednio w czterech i trzech. Generalnie w br., jesienne zasiewy są słabo porażone. Największe zróżnicowanie porażenia mączniakiem obserwowano w Strzelcach. Przy dużym nasileniu mączniaka w Strzelcach wysoką lub średnią odpornością charakteryzowały się odmiany z genem Mla13, Ab; Mlp; Mla3Tu2; Odmiana Peggy i CI 9825. Niepokojące jest załamanie się odporności na mączniaka odmiany Steffi uważanej do niedawna za odporną. Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że stopień porażenia przez poszczególne choroby był zróżnicowany między miejscowościami i badanymi odmianami.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 40.

Tytuł projektu: Badania nad współdziałaniem wysokiej wartości cech użytkowych z odpornością na stresy biotyczne i abiotyczne u jęczmienia ozimego.

Kierownik projektu: prof. dr hab. H.J. Czembor

Zakres prac realizowanych w bieżącym roku:

- określenie na drodze molekularnej i fenotypowej genotypu linii jęczmienia ozimego pod względem obecności genu mlo.
- krzyżowanie wybranych linii ze zróżnicowanymi genetycznie europejskimi formami jęczmienia ozimego.
- założenie doświadczenia z wybranymi liniami w różnych warunkach środowiska.

Szczegółowe omówienie wykonanych prac i uzyskanych wyników:

W warunkach kontrolowanych (fitotron, szklarnia) rozmnożono 279 linii F₃. Wykonano selekcje fenotypowe i molekularne na obecność genu mlo.

Do oceny fenotypowej i molekularnej odporności na mączniaka zastosowano, odpowiednio izolat Bgh 63 *B. graminis* f.sp. *hordei* i markery molekularne: HVMlo1 i HVmlo3.

Krzyżowano linie BKH 5735 z wybranymi odmianami elitarnymi jęczmienia ozimego podatnymi na mączniaka.

Przeprowadzono doświadczenia z 123 liniami wybranymi do badań na podstawie oceny fenotypowej w szkółce polowej rozmnożenia lini F₅ w roku 2010. Doświadczenia założono w Bąkowie, Szelejewie i Wiatrowie na poletkach 10m² lub 5m², w trzech powtórzeniach z 3 odmianami wzorcowymi: Maybrit, Rosita i Nickiela. W doświadczeniu oceniono plon ziarna i inne ważniejsze cechy gospodarcze.

Wyniki i dyskusja:

W roku 2011 w warunkach kontrolowanych rozmnożono 279 linii F₃ wybranych w 2010 roku po testach fenotypowych i molekularnych dla genu mlo. Po sprawdzeniu ich odporności na mączniaka warunkowanej genem mlo, do dalszych badań w roku 2012 wybrano 237 linii.

W programie nowych krzyżowań, wyselekcjonowaną wcześniej linię BKH 5735, o dobrej plenności z genem mlo, krzyżowano z wybranymi odmianami elitarnymi jęczmienia ozimego: Antonella, Henriette, Holmes, Meridian, Matilda, Souleyka, Wendy.

Przeprowadzono doświadczenie ze 123 liniami wybranymi do badań na podstawie oceny fenotypowej w szkółce polowej rozmnożenia linii F₅ w roku 2010. W doświadczeniu oceniono plon ziarna i inne ważniejsze cechy gospodarcze. Na podstawie uzyskanych wyników, wybrano 14 linii do ponownej oceny wartości gospodarczej w roku 2012, w trzech miejscowościach. Uzyskano linię BKH 5735 mającą wysoce efektywny gen mlo warunkujący odporność na mączniaka (*Blumeria graminis*). Linia BKH 5735 w 3-letnim doświadczeniu w różnych środowiskach plonowała na poziomie odmiany wzorcowej Maybrit.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 43.

Tytuł projektu: Monitoring zróżnicowania genetycznego ziarna jęczmienia jarego browarnego i pastewnego pod względem przydatności browarnej, paszowej i na konsumpcję.

Kierownik projektu: dr hab. D. Boros prof. nadzw. IHAR-PIB

Celem badań było określenie zmienności genetycznej cech jakości ziarna nowowprowadzanych odmian oraz zaawansowanych materiałów hodowlanych jarego jęczmienia browarnego i pastewnego pod kątem przydatności do różnych sposobów wykorzystania ziarna: słodowania, na paszę i do produkcji żywności. W monitoringu zróżnicowania genetycznego jęczmienia browarnego materiałem badawczym było ziarno trzech odmian wzorcowych Blasku, Conchity i Suwerena oraz 19 linii, pochodzące z trzech różnych miejscowości uprawy, tj. Bąkowa, Nagradowic i Radzikowa ze zbioru 2011 roku. W części odnoszącej się do jęczmienia pastewnego materiałem badawczym było ziarno 74 linii hodowlanych wraz z 20 próbkami ziarna odmian wzorcowych z 6-ciu ośrodków hodowlanych w Polsce ze zbioru w 2011 roku.

Warunki pogodowe występujące szczególnie w okresie dojrzewania i zbioru ziarna w wielu rejonach uprawy były niekorzystne, w sposób istotny mogły wpłynąć na wartość browarną ziarna badanych linii oraz odmian wzorcowych jęczmienia. Generalnie ziarno wyprodukowane w Radzikowie charakteryzowało się wyższą wartością browarną niż to otrzymane w warunków glebowo-klimatycznych Bąkowa i Nagradowic. Biorąc pod uwagę wyniki średnie z 3 miejscowości to spośród linii jęczmienia badanych w bieżącym roku najwięcej cechowało się średnią do dobrej wartością browarną wg kategorii wartości browarnej opracowanej przez COBORU na podstawie wskaźnika Q wyliczonego z klas jakości w stosunku do odmiany Blask. Taką kategorię uzyskało 9 linii, a tylko 4 linie znalazły się w kategorii dobrej i była to najwyższa kategoria wartości browarnej uzyskana dla badanego materiału, mieszcząca się w zakresie 5.50 do 6.74 (przy >7.99 kategoria bardzo dobra). W grupie niebrowarnej, o wartości <3.00, znalazły się 3 linie razem z odmianą pastewną Suweren. Na tę sumaryczną wartość browarną badanego materiału składały się wartości uzyskane dla pięciu najważniejszych parametrów jakości, przede wszystkim ekstraktywności, która wnosi 40% wartości wskaźnika Q, następnie liczby Kolbacha, lepkości brzezki, stopnia odfermentowania i siły diastatycznej, w równej części po 15%. Średnie wartości dla tych parametrów jakości były następujące, ekstraktywność 82.2%, w zakresie 80.3-84.2%; liczba Kolbacha 45.3%, w zakresie 39.9-51.5%; lepkość 1.57 mPa.s, w zakresie 1.54-1.61 mPa.s; odfermentowanie 86.3%, w zakresie 84.1-88.8% oraz siła diastatyczna 323.2, w zakresie 247-403. Szczegółowe wyniki są przedstawione w tabelach 1-5.

Tabela 1. MONITORING WARTOŚCI BROWARNEJ LINII JĘCZMIENIA JAREGO Z ROKU ZBIORU 2011 (wartości średnie z trzech miejsc uprawy)

L.P.	Nazwa linii/odmiany	MTZ [g]	Celność [%]	Kruchość słodu [%]	Białko słodu [% sm]	Białko rozpuszczalne [% sm]	Liczba Kolbacha [%]	Ekstrakt mąki [% sm]	Odfementowanie [%]	Siła diastatyczna [j.W-K]	Lepkość brzezki [mPa.s]	β-glukan brzezki [mg/l]
1	BKH 7130	42,6	97,2	60,7	11,8	5,46	46,9	81,8	86,1	403	1,59	127
2	BKH 7385	43,8	97,6	66,3	12,0	4,96	42,6	82,9	85,3	353	1,56	142
3	NAD 06142	42,8	96,8	58,6	11,4	4,86	43,3	81,2	85,2	270	1,57	192
4	NAD 06147	43,6	96,1	57,7	11,3	4,92	44,1	81,6	86,5	287	1,56	205
5	NAD 07089	39,7	93,9	57,5	11,7	4,53	39,9	80,3	87,4	320	1,57	230
6	NAD 07165	40,6	96,3	58,7	12,2	5,49	45,4	82,2	88,3	377	1,56	114
7	RAH 270/08	43,8	96,4	55,2	11,6	4,97	43,6	81,0	87,7	313	1,54	111
8	RAH 275/08	43,3	97,0	65,3	11,1	5,17	47,4	84,2	86,6	290	1,57	185
9	POB 1059/08	43,2	97,2	66,3	12,4	5,85	47,9	82,0	84,5	350	1,59	98
10	POB 6418/08	43,0	96,8	61,7	12,4	5,67	46,7	83,7	84,2	333	1,59	106
11	POB 1476/08	41,7	94,6	57,6	11,9	5,04	43,3	81,5	84,1	307	1,61	182
12	STH 85331	42,4	95,0	49,1	12,0	5,18	43,5	81,6	85,1	327	1,59	127
13	STH 83601	41,5	96,2	60,9	11,7	5,48	46,6	83,0	86,0	337	1,59	97
14	STH 87208	41,2	93,9	60,6	11,0	5,11	47,0	83,0	88,8	247	1,56	120
15	STH 81287	43,0	98,0	57,9	11,2	5,70	51,5	82,9	87,1	383	1,58	92
16	STH 81292	41,7	97,5	57,7	11,6	5,41	47,3	82,2	86,8	350	1,56	108
17	STH 81293	43,1	98,2	60,0	11,8	5,43	45,3	82,6	86,7	333	1,59	89
18	STH 83225	43,2	97,9	56,1	11,7	4,70	40,7	81,6	86,3	303	1,57	244
19	STH 86981	40,6	96,2	53,4	11,4	5,38	47,9	82,5	87,4	333	1,57	113
20	Blask	41,4	94,7	63,0	11,6	5,32	46,8	83,4	86,4	297	1,57	176
21	Conchita	45,5	97,9	60,5	11,2	5,00	45,5	82,6	86,3	310	1,56	186
22	Suweren	42,2	92,8	47,9	11,1	4,60	42,5	81,3	85,6	287	1,56	160
Wartość średnia		42,5	96,3	58,8	11,6	5,2	45,3	82,2	86,3	323,2	1,57	145,6
sd		1,3	1,5	4,6	0,4	0,3	2,6	0,9	1,2	36,8	0,0	45,9
CV		3,0	1,5	7,8	3,4	6,7	5,8	1,1	1,4	11,4	1,0	31,5

Tabela 2. Zakres zmienności cech jakościowych ziarna rodów jęczmienia jarego browarnego

L.P.	Cecha	Średnia	Zakres		Współczynnik zmienności
			min.	max.	
1	MTZ	42.5	39.7	45.5	3.0
2	Celność	96.2	92.8	98.2	1.5
3	Kruchość	58.8	47.9	66.3	7.8
4	Białko słodu	11.6	11.0	12.4	3.4
5	Białko rozp.	5.2	4.53	5.85	6.7
6	Liczba Kolbacha	45.3	39.9	51.5	5.8
7	Ekstraktywność	82.2	80.3	84.2	1.1
8	Lepkość brzezki	1.57	1.54	1.61	1.0
9	Odfermentowanie	86.3	84.1	88.8	1.4
10	Siła diastatyczna	323.2	247	403	11.4
11	β-glukan brzezki	145.6	89,0	244,0	31.5

Tabela 3. Wpływ miejsca uprawy na wartości wyróżników wartości browarnej jęczmienia jarego dla materiału ze zbioru 2011 roku

L.P.	Cecha	Bąków	Nagradowice	Radzików	Zmienność
1	MTZ	42,9	42,0	42,5	0,9
2	Celność	96,2	97,3	95,3	0,8
3	Kruchość	47,5	55,1	73,8	18,8
4	Białko słodu	13,5	12,0	9,5	14,1
5	Białko rozp.	5,8	4,7	5,1	9,0
6	Liczba Kolbacha	43,0	39,4	53,4	13,1
7	Ekstraktywność	80,9	82,0	83,8	1,5
8	Lepkość brzezki	1,60	1,53	1,58	1,7
9	Odfermentowanie	86,1	85,7	87,2	0,7
10	Siła diastatyczna	380	330	260	15
11	β-glukan	166	173	98	23

Tabela 4. Współzależność poszczególnych cech jakości ziarna jęczmienia w zależności od miejsca uprawy

L.P.	Cecha	Bąków-Nagradowice	Bąków-Radzików	Nagradowice-Radzików
1	MTZ	0,610	0,381	0,406
2	Celność	0,120	0,157	0,303
3	Kruchość	0,557	0,618	0,321
4	Białko słodu	0,315	0,320	0,471
5	Białko rozp.	0,674	0,103	0,294
6	Liczba Kolbacha	0,729	0,139	0,125
7	Ekstraktywność	0,668	0,546	0,375
8	Lepkość brzezki	0,095	-0,492	-0,352
9	Odfementowanie	0,216	0,178	0,463
10	Siła diastatyczna	0,481	0,457	0,399
11	β-glukan brzezki	0,603	0,364	0,381

* Wartość krytyczna współczynnika korelacji Pearsona wynosi $r = 0.423$ przy poziomie prawdopodobieństwa $P < 0.05$; oraz $r = 0.537$ przy poziomie prawdopodobieństwa $P < 0.01$.

Tabela 5. Klasy jakości i ranking rodów jęczmienia jarego pod względem wartości browarnej w stosunku do odmiany wzorcowej **BLASK** - DOŚW. WSTĘPNE 2011 rok

L.p.	Nazwa linii/odmiany	Liczba Kolbacha [%]	Ekstrakt mąki [% sm]	Lepkość brzezki [mPa.s]	Odfementowanie [%]	Siła diastatyczna [j.W-K]	Q	Kategoria wartości browarnej
BLASK		46,8	83,4	1,57	86,4	297		
1	RAH 275/08	5	8	6	6	5	6,50	<i>dobra</i> (5.50-6.74)
2	STH 81287	8	5	6	7	9	6,50	
3	POB 6418/08	5	7	5	1	7	5,50	
4	STH 86981	6	4	6	7	7	5,50	
5	STH 87208	5	5	6	9	3	5,45	<i>średnia do dobrej</i> (4.25-5.49)
6	NAD 07165	4	3	6	9	9	5,40	
7	STH 83601	5	5	5	5	7	5,30	
8	STH 81293	4	4	6	6	7	5,05	
9	STH 81292	5	3	6	6	8	4,95	
10	BKH 7385	2	5	6	3	8	4,85	
11	Conchita	4	4	6	5	6	4,75	
12	BKH 7130	5	2	5	5	9	4,40	<i>średnia</i> (3.00-4.24)
13	POB 1059/08	6	3	5	2	8	4,35	
14	RAH 270/08	2	1	6	8	6	3,70	
15	NAD 07089	1	1	6	7	6	3,40	
16	STH 85331	2	2	5	3	7	3,35	
17	NAD 06147	3	1	6	5	5	3,25	<i>niebrowarna</i> (<3.00)
18	STH 83225	1	1	6	5	5	2,95	
19	Suweren	1	1	6	4	5	2,80	
20	NAD 06142	2	1	6	3	4	2,65	
21	POB 1476/08	2	1	5	1	6	2,50	

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 44.**Tytuł projektu: Praktyczne wykorzystanie androgenyzy jęczmienia w celu uzyskania stabilnych linii odpornych na stropy biotyczne i abiotyczne.****Kierownik projektu: prof. dr hab. J. Zimny**

Podstawą do uzyskiwania nowych odmian jęczmienia są czyste linie o wysokiej plenności, stabilności plonowania, odporne na choroby i niekorzystne warunki środowiska, które w hodowli konwencjonalnej otrzymuje się poprzez czasochłonne, wielokrotnie powtarzane samozapylenie. Wprowadzenie do hodowli jęczmienia technik hodowlanych opartych na kulturach *in vitro* tj. kultury pylników i izolowanych mikrospor wykorzystujących proces androgenyzy, może przyczynić się do znacznego skrócenia cyklu hodowlanego oraz zwiększenia liczby rekombinantów o pożądanych cechach jakościowych, korzystnych gospodarczo. Warunkiem wykorzystania androgenyzy w procesach hodowlanych jest uzyskanie dużej liczby haploidów i podwojonych haploidów. Opisywana w literaturze efektywność regeneracji roślin jęczmienia wahała się w szerokim zakresie głównie w zależności od genotypu. W wyniku indukowanej androgenyzy otrzymuje się nie tylko podwojone haploidy, ale również aneuploidy i miksoploidy. Ilość linii DH może być różna w zależności od genotypu i sposobu prowadzenia kultury. Procent linii DH jęczmienia spontanicznie podwajających liczbę chromosomów waha się od 20,0 do 70,0%. W badaniach nad androgenezą jęczmienia nadal pozostaje wiele problemów do rozwiązania, takich jak zwiększenie wydajności uzyskiwania linii DH, duża ilość roślin albinotycznych wśród regeneratów oraz niski procent spontanicznie podwojonych haploidów.

Materiał i metody:

Plan zakładał w bieżącym roku przeprowadzenie badania reakcji androgenicznej linii jęczmienia jarego różnego pochodzenia. Nasiona 39 linii kiełkowano w warunkach laboratoryjnych, a uzyskane z nich najlepsze siewki uprawiano w multiplatach wypełnionych mieszanką ziemi ogrodniczej i piasku. Nasiona 3 badanych linii nie skiełkowały. Rośliny uprawiane były w kontrolowanych warunkach w fitotronie. Kiedy rozwijające się w kwiatach mikrospory osiągały fazę jednojądrową pobierano kłosa wraz z odcinkiem ok. 20 cm pędu. Zastosowano szok termiczny. Kłosa przebywały w chłodni w temperaturze 4°C przez okres 21 do 28 dni. Po tym okresie kłosa sterylizowano w alkoholu etylowym 70% i podchlorynie sodu. Z tak przygotowanych kłosów pobierano pylniki, które układano na pożywce stałej. Z poszczególnych genotypów wyłożono pylniki z 6 do 23 kłosów. W sumie kulturze poddano ponad 37 tys. pylników. Do doświadczeń użyto zmodyfikowaną pożywkę 190-2 uzupełnioną regulatorami wzrostu - 2 mg/l 2,4D i 0.5 mg/l kinetyny. Pylniki w szalkach inkubowano w temperaturze 26°C w ciemności przez okres 8 tygodni. Tworzące się kalusy i powstałe zarodki przenoszono na pożywkę regeneracyjną. Tę część kultury prowadzono w pokoju hodowlanym z oświetleniem. Embriogeny kalus oraz zarodki były sukcesywnie przenoszone na pożywkę regenerującą. Po dwóch tygodniach były one przenoszone do kolb Erlenmayera gdzie rosły przyjmując formę siewki. Roślinki zielone są obecnie aklimatyzowane w fitotronie przy fotoperiodzie 16/8 godzin (dzień/noc) i w temperaturze 15°C w dzień i 12°C w nocy.

Wyniki:

Obserwacje prowadzono co 7 dni przez czas trwania inkubacji. Po 4 tygodniach na niektórych szalkach obserwowano pierwsze kalusy oraz struktury zarodkopodobne. Zaobserwowano indukcję kalusa u wszystkich genotypów poza dwoma. Poziom kalusowania wahał się w zależności od genotypu, a zróżnicowanie tego parametru zależało od pochodzenia.

Rośliny udało się zregenerować z pylników 35 genotypów. W większości były one albinotyczne. Zielone rośliny zregenerowano u 21 genotypów, a ich liczba wahała się od 1 do

65 i w większości stanowiła nikły procent w stosunku do liczby uzyskanych roślin albinotycznych. Procent zregenerowanych roślin zielonych w stosunku do wszystkich zregenerowanych w danym genotypie wahał się od 0,34 do 39%. W przypadku najlepiej regenerującej linii KWS OlofxNORD 06/2402 wyniósł 35%. Linia ta wykazywała wyjątkową dla badanych linii efektywność androgenezy, co zaowocowało uzyskaniem 65 zielonych regenerantów. Zwraca uwagę fakt, że dwa genotypy o skrajnej reakcji androgenezy (65 zielonych regenerantów i genotyp, z którego nie zregenerowano żadnej rośliny - AfroditeNORD 06/1108) są podobnego pochodzenia jeśli chodzi o ojca. Wyselekcjonowano trzy genotypy charakteryzujące się zadawalającą liczbą regenerantów oraz stosunkowo wysokim udziałem zielonych roślin – od 27 do 39%. Rozwijające się rośliny, po ukorzenieniu przenoszono do doniczek z substratem glebowym. W sumie uprawianych jest 167 zregenerowanych roślin. Rośliny te będą poddane zabiegowi kolchicynowania, zostaną przeniesione do wiader i umieszczone w fitotronie, gdzie będą rosły do pełnej dojrzałości.

Wyniki przeprowadzonych eksperymentów wskazują na niską zdolność do androgenezy większości linii jęczmienia jarego. Takie doświadczenie powinno zostać powtórzone, co najmniej dla genotypów dobrze i źle rokujących. Pozwoliłoby to na sprawdzenie czy wysoka liczba zregenerowanych roślin albinotycznych jest regułą w przypadku jarego jęczmienia (o czym mówią doniesienia literaturowe), czy też mamy do czynienia z reakcją wielu linii na bliżej nieokreślone warunki wzrostu i rozwoju roślin donorowych, które zaistniały w bieżącym roku. Znany jest fakt braku powtarzalności wyników eksperymentów w kulturach *in vitro* w kolejnych powtórzeniach wykonywanych w różnym czasie. Podobnie wysoki udział albinotycznych regenerantów odnotowano także w bieżącym roku w badaniach prowadzonych w innych ośrodkach w kraju.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 45.

Tytuł projektu: Poszukiwanie form owsa o wysokich wartościach żywieniowych.

Kierownik projektu: dr hab. D. Boros prof. nadzw. IHAR-PIB

Głównym celem badawczym w tym projekcie jest poszukiwanie form owsa charakteryzującego się wysoką wartością żywieniową. Na cechę tę poza wysoką wartością odżywczą białka o wysokiej zawartości aminokwasów egzogennych składa się wysoka zawartość tłuszczu o korzystnym stosunku nienasyconych do nasyconych kwasów tłuszczowych, witamin rozpuszczalnych w tłuszczach, a przede wszystkim błonnika pokarmowego z wysoką koncentracją rozpuszczalnego β -glukanu oraz związków fenolowych. Poznanie interakcji genotypowo-środowiskowej zawartości tych składników ziarna zostało również w tych badaniach uwzględnione. Surowcem do produkcji żywności jest ziarno obłuszczone bądź ziarno form nagich, stąd badania były prowadzone na takim materiale. Drugim celem jest opracowanie, na podstawie uzyskanych wyników badań, wyróżników jakości ziarna owsa.

Materiałem do badań w roku sprawozdawczym było ziarno 15 linii hodowlanych owsa, wyprodukowanych w 3 odmiennych warunkach glebowo-klimatycznych: w Choryni, Polanowicach i Strzelcach. Linie te zostały wybrane na podstawie wyników uzyskanych w dwóch poprzednich latach badań. W br. została wykonana charakterystyka następujących cech fizyko-chemicznych ziarna obłuszczonego: białka, składników mineralnych; lipidów ogółem, skrobi strawnej, nieskrobiowych polisacharydów (NSP) z podziałem na rozpuszczalne i nierozpuszczalne, w tym β -glukanu, dalej ligniny Klasona, sumy błonnika pokarmowego. Oznaczono także lepkość ekstraktu wodnego (WEV), która to cecha jest główną miarą właściwości funkcjonalnych ziarna owsa.

W żywieniu, zboża są głównym źródłem energii i znaczącym źródłem białka. W przypadku owsa na cele pastewne przydatne są odmiany o małym udziale plewki, a wysokiej zawartości skrobi i lipidów. Średni udział plewki w ziarnie badanych odmian wynosił 33%, przy czym największą jej ilość, prawie 43%, zawierała linia POB 1229/07.

W żywieniu ludzi surowcem do produkcji żywności jest ziarno owsa form nagich bądź obłuszczone, które jest dodatkowo podstawowym źródłem błonnika pokarmowego i innych składników bioaktywnych, w tym w szczególności β -glukanu. Pod względem zawartości składników odżywczych (SO), wyliczonych jako suma zawartości białka, składników mineralnych, lipidów i skrobi wyróżniały się następujące odmiany: Krezus, Arden oraz linia STH 8-99 dla których suma SO wynosiła odpowiednio 81.5%; 81.3%; 81.3%. Najniższą zawartością SO charakteryzowała się linia POB 3372/06 (78.4%). W odniesieniu do wskaźnika właściwości bioaktywnych najwyższymi jego wartościami charakteryzowały się linie DC 1368/05 (28.1) i STH 8-99 (25.6) oraz odmiany Bingo (26.6) i Krezus (23.9). Najniższymi natomiast odmiany Zuch i Arden oraz linia POB 1229/07, dla których WWB wynosił około 19. Na podstawie przeprowadzonej analizy wariancji stwierdzono występowanie istotnych interakcji genotypowo-środowiskowych (G×E) pomiędzy odmianą a miejscem uprawy na zawartość składników ziarna. Na podstawie przeprowadzonych badań można wytypować formy o wysokich wartościach żywieniowych, najbardziej polecane do produkcji żywności. Formy te to odmiana Krezus oraz linie DC 1368/05 oraz STH 8-99, charakteryzowały się one jednocześnie najwyższą sumą SO, a także najwyższym WWB. Ponadto odmiana Arden i linia POB 1229/07 odznaczały się wysoką zawartością SO, a odmiana Bingo charakteryzowała się jednym z najwyższych WWB.

Tab.1. Udział łuski w ziarnie owsa ze zbioru w roku 2010.

L.p.	Linia hodowlana	Waga ziarna [g]	Waga łuski [g]	Udział łuski [%]
1	ARDEN	37.1	12.4	33.4
2	BINGO	41.9	12.2	29.1
3	DC 1193/04	37.6	12.2	32.6
4	DC 1368/05	43.7	0.7	1.6
5	DC 2112/05	36.0	12.5	34.8
6	KREZUS	35.1	13.5	38.5
7	POB 1108/07	35.4	14.6	41.3
8	POB 1229/07	34.5	14.7	42.5
9	POB 3372/06	36.9	11.9	32.3
10	POB 3442/06	36.0	13.4	37.4
11	POB 580/06	34.9	13.7	39.5
12	STH 8-50	36.5	12.1	33.2
13	STH 8-99	37.9	11.3	29.9
14	STH 93-61	36.7	13.3	36.4
15	ZUCH	36.0	13.6	37.8
	Wartość średnia	37.1	12.1	33.4
	CV	6.8	27.3	28.9

Tab. 2. Zawartość składników odżywczych w ziarnie obłuszczonej owsa [% sm].

L.p.	Linia hodowlana	Białko	Składniki mineralne	Lipidy ogółem	Skrobia strawna	SSO
1	ARDEN	15.8 ^b	2.3 ^{cd}	6.4 ^j	56.8 ^{abc}	81.3 ^a
2	BINGO	13.8^l	2.2 ^{fg}	7.7 ^d	56.5 ^{abc}	80.2 ^{ab}
3	DC 1193/04	14.1 ^k	2.2 ^{gh}	6.4 ^j	57.8^a	80.5 ^{ab}
4	DC 1368/05	15.2 ^d	2.6^a	9.4^a	53.4^e	80.6 ^a
5	DC 2112/05	14.7 ^{gh}	2.3 ^{de}	7.2 ^{fg}	56.0 ^{abcd}	80.2 ^{ab}
6	KREZUS	14.2 ^{jk}	2.1^h	7.8 ^c	57.3 ^{ab}	81.5^a
7	POB 1108/07	15.5 ^c	2.3 ^{de}	7.0 ^h	55.4 ^{bcde}	80.2 ^{ab}
8	POB 1229/07	14.9 ^{fg}	2.1^h	7.2 ^g	56.6 ^{abc}	80.8 ^a
9	POB 3372/06	15.1 ^{de}	2.2 ^{def}	6.9 ^h	54.1 ^{de}	78.4^b
10	POB 3442/06	14.6 ^{hi}	2.2 ^{def}	6.7 ⁱ	56.0 ^{abcd}	79.6 ^{ab}
11	POB 580/06	15.0 ^{ef}	2.2 ^{def}	6.2^k	56.6 ^{abc}	80.0 ^{ab}
12	STH 8-50	14.4 ^{ij}	2.1^h	7.5 ^e	55.6 ^{abcd}	79.6 ^{ab}
13	STH 8-99	16.6^a	2.3 ^b	7.3 ^f	55.0 ^{cde}	81.3 ^a
14	STH 93-61	14.2 ^k	2.2 ^{ef}	8.5 ^b	55.4 ^{bcde}	80.3 ^{ab}
15	ZUCH	15.6 ^c	2.3 ^c	6.7 ⁱ	55.1 ^{cde}	79.7 ^{ab}
Wartość średnia		14.9	2.2	7.3	55.8	80.3
CV		5.1	5.5	11.6	2.1	1.0

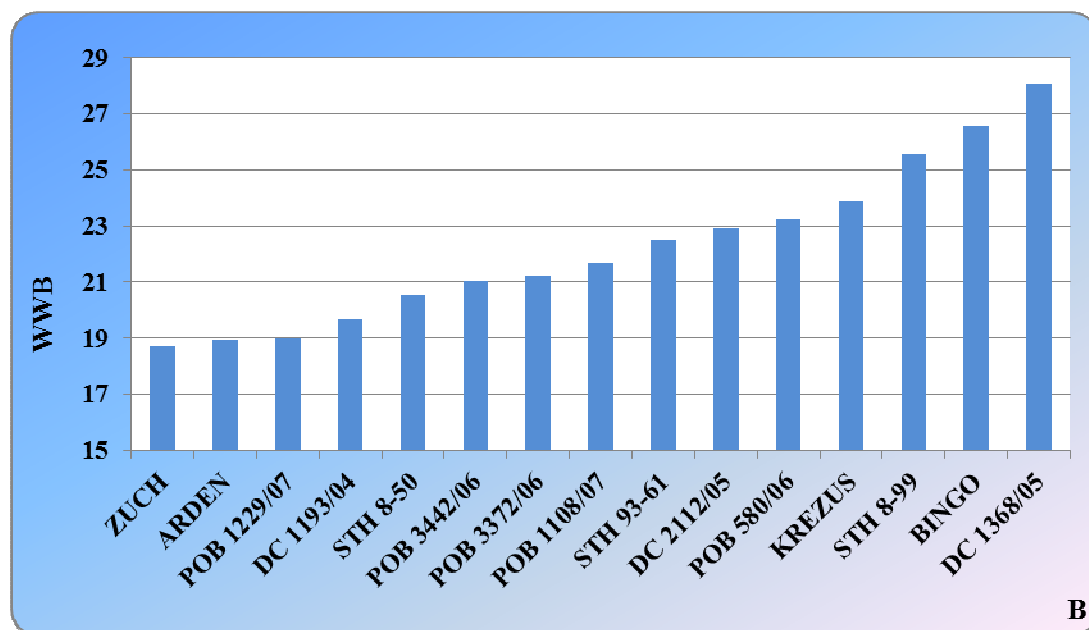
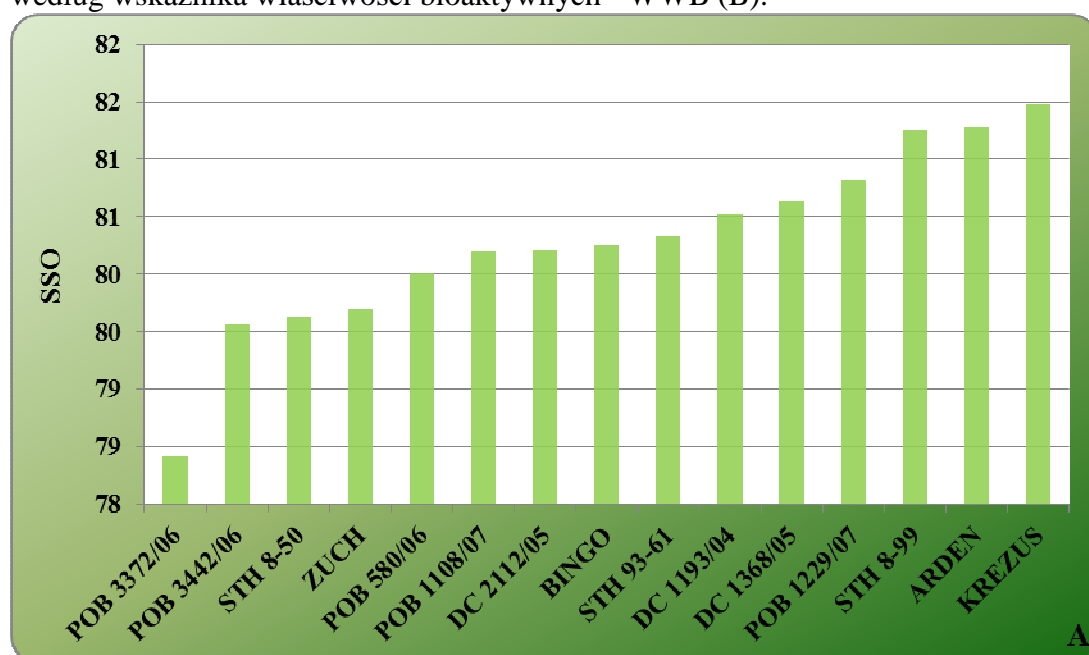
SSO- suma składników odżywczych

Tab. 3. Zawartość składników bioaktywnych oraz w ziarnie obłuszczonego owsa [% sm].

L.p.	Linia hodowlana	I-NSP	S- NSP	T- NSP	β-glukan	Lignina Klasona	TDF	WEV [mP.s]	WWB
1	ARDEN	4.1 ^{abc}	4.1^f	8.2 ^{cde}	3.8^{jk}	3.3 ⁱ	11.5^f	1.8 ^h	19.0
2	BINGO	4.2 ^{ab}	4.8 ^{ab}	8.9^a	4.6 ^b	5.4 ^b	14.4^a	2.6 ^b	26.6
3	DC 1193/04	4.1 ^{abc}	4.1^f	8.2 ^e	3.9 ^{hijk}	4.0 ^f	12.2 ^e	1.8 ^{gh}	19.7
4	DC 1368/05	3.6^d	4.7 ^{abc}	8.3 ^{cde}	4.5 ^{bc}	5.7^a	14.0 ^a	3.0^a	28.1
5	DC 2112/05	4.1 ^{abc}	4.6 ^{bcd}	8.7 ^{abcd}	4.4 ^{bcd}	4.2 ^e	12.9 ^{bcd}	2.2 ^d	22.9
6	KREZUS	4.2 ^{ab}	4.5 ^{bcd}	8.8 ^{ab}	4.0 ^{ghij}	5.2 ^c	13.9 ^a	2.2 ^d	23.9
7	POB 1108/07	4.3^a	4.5 ^{bcd}	8.8 ^a	4.2 ^{defg}	3.7 ^{gh}	12.5 ^{cde}	2.0 ^e	21.7
8	POB 1229/07	4.0 ^{bc}	4.1^f	8.1^e	3.8^{ijk}	3.6 ^h	11.7 ^f	1.8 ^h	19.0
9	POB 3372/06	4.3^a	4.4 ^{cdef}	8.7 ^{ab}	4.3 ^{cde}	3.9 ^{fg}	12.6 ^{bcd}	2.0 ^f	21.2
10	POB 3442/06	4.0 ^{bc}	4.2 ^f	8.2 ^e	3.8^k	4.3 ^e	12.5 ^{de}	2.1 ^e	21.0
11	POB 580/06	4.0 ^{bc}	4.7 ^{bc}	8.7 ^{abc}	4.3 ^{def}	3.9 ^f	12.6 ^{cde}	2.3 ^c	23.3
12	STH 8-50	3.9 ^c	4.3 ^{def}	8.2 ^{de}	4.1 ^{efgh}	4.2 ^e	12.4 ^e	1.9 ^g	20.5
13	STH 8-99	3.9 ^c	5.0^a	8.9^a	5.0^a	4.0 ^f	12.9 ^{bc}	2.5 ^b	25.6
14	STH 93-61	3.9 ^c	4.3 ^{def}	8.2 ^{de}	4.1 ^{fghi}	4.8 ^d	13.0 ^b	2.2 ^d	22.5
15	ZUCH	4.2 ^{ab}	4.2 ^{ef}	8.4 ^{bcd}	4.0 ^{fghi}	3.2ⁱ	11.5^f	1.7ⁱ	18.7
Wartość średnia		4.0	4.4	8.5	4.2	4.2	12.7	2.1	22.2
CV		4.7	6.2	3.6	7.9	17.8	6.8	16.6	12.8

NSP- nieskrobiowe polisacharydy (I-frakcja nierozpuszczalna w wodzie; S-frakcja rozpuszczalna; T- suma I i S); TDF- błonnik pokarmowy oznaczony metodą Uppsalską; WWB- wskaźnik właściwości bioaktywnych ziarna (suma TDF i iloczynu lepkości wodnego ekstraktu ziarna oraz S-NSP); WEV- lepkość wodnego ekstraktu ziarna

Rys.1. Ranking linii hodowlanych według sumy składników odżywczych -SSO (A) oraz według wskaźnika właściwości bioaktywnych - WWB (B).



Tab.4. Zawartość wybranych składników w obłuszczonej ziarnie owsa w poszczególnych miejscowościach.

Cecha	Miejsce uprawy		
	Danko	Polanowice	Strzelce
Białko	18,0 ^a	12,1 ^c	14,8 ^b
Popiół	2,4 ^a	2,2 ^c	2,2 ^b
Lipidy	6,8 ^c	7,5 ^b	7,5 ^a
Skrobia strawna	54,1 ^c	57,7 ^a	55,7 ^b
S-NSP	4,6 ^a	4,2 ^b	4,6 ^a
I-NSP	4,1 ^a	4,0 ^b	4,1 ^a
NSP	8,7 ^a	8,1 ^b	8,7 ^a
Lignina Klasona	4,0 ^b	5,1 ^a	3,6 ^c
TDF	12,6 ^b	13,3 ^a	12,3 ^c
WEV	2,7 ^a	1,7 ^c	2,0 ^b
β-glukan	4,3 ^a	4,1 ^b	4,2 ^a
S-AX	0,3 ^b	0,3 ^c	0,3 ^a
I-AX	2,0 ^a	1,9 ^b	2,0 ^{ab}
AX	2,3 ^a	2,2 ^b	2,3 ^a

Tab.5. Podsumowanie analizy wariancji dla badanych cech w ziarnie obłuszczonej owsa.

Cecha	Miejsce uprawy		Odmiana		Interakcja G×E	
	MS	P Value	MS	P Value	MS	P Value
Białko	260.33	□0.0001	3.43	□0.0001	1.899	□0.0001
Popiół	0.698	□0.0001	0.093	□0.0001	0.027	□0.0001
Lipidy	4.655	□0.0001	4.248	□0.0001	0.17	□0.0001
Skrobia strawna	101.98	□0.0001	8.214	□0.0001	9.015	□0.0001
SSO	25.64	□0.0001	3.742	0.001	6.226	□0.0001
EDF	25.64	□0.0001	3.742	0.001	6.226	□0.0001
S-NSP	1.646	□0.0001	0.453	□0.0001	0.137	□0.0001
I-NSP	0.192	□0.0001	0.218	□0.0001	0.121	□0.0001
NSP	2.961	□0.0001	0.553	□0.0001	0.289	□0.0001
Lignina Klasona	19.551	□0.0001	3.395	□0.0001	0.84	□0.0001
TDF	7.724	□0.0001	4.424	□0.0001	1.298	□0.0001
WEV	8.948	□0.0001	0.744	□0.0001	0.148	□0.0001
β-glukan	0.356	□0.0001	0.653	□0.0001	0.206	□0.0001
S-AX	0.025	□0.0001	0.002	0.0009	0.002	□0.0001
I-AX	0.043	0.0205	0.061	□0.0001	0.02	0.0188
AX	0.114	0.0002	0.059	□0.0001	0.022	0.0137

MS-średnia kwadratów; P<0.05

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 48.

Tytuł projektu: Wyodrębnienie z populacji mieszańcowych *Avena sativa* x *Avena macrostachya* źródeł genetycznych do poprawy podstawowych cech fizycznych i chemicznych ziarna owsa.

Kierownik projektu: dr B. Łapiński

Celem pracy jest zbadanie zmienności podstawowych cech jakościowych plonu wśród mieszańców owsa uprawnego z dzikim gatunkiem *Avena macrostachya*, określenie cech, które mogą być poprawione w wyniku introgresji genów z tego gatunku oraz wytypowanie rolniczo wartościowych form do zastosowania w charakterze źródeł zmienności w hodowli owsa jarego.

Materiał:

Wyjściowym materiałem do selekcji były linie typu jarego pokoleń F₂–F₉ z krzyżowań wstecznych z owsem uprawnym, zarówno spontanicznych jak i kontrolowanych, jakim poddano dwa pentaploidalne mieszańce F₁ owsa ozimego z *A. macrostachya*. Najliczniejsza i najbardziej zaawansowana w pokoleniach była populacja uzyskana po pierwszym back-crossie do owsa ozimego, która składała się z 30 oktoploidów (8x = 56) zawierających genom gatunku dzikiego (w proporcji około ¼ genów) oraz ze 152 heksaploidów (6x = 42), które powstały przy udziale częściowo zredukowanych gamet pokolenia F₁. Resztę materiału, w liczbie 107 obiektów, stanowiły mieszańce BC₂ i BC₃ z udziałem owsa jarego jako partnera wypierającego. Za układ odniesienia dla mieszańców oddalonych służyło 60 linii z krzyżowań w obrębie *A. sativa*, z udziałem form ozimych. Rolę wzorców i komponentów do nowych krzyżowań spełniała kolekcja 41 jarych odmian i rodów *A. sativa*. Formy nagonasienne stanowiły około 17% populacji heksaploidów, nie było ich wśród linii 8x.

Metodyka:

Biorąc pod uwagę odmienność pochodzenia oraz wstępne wyniki wcześniejszych badań cech jakościowych plonu i obserwacji cech agrotechnicznych wybrano z wyżej opisanego materiału 100 linii reprezentujących różny stopień pokrewieństwa z *A. macrostachya*. W skład zestawu wchodziło 7 oktoploidów, 52 heksaploidy z krzyżowań BC₁, 12 z BC₂ i 11 z BC₃. Kontrolę stanowiło 18 mieszańców form ozimych z jarymi, bez udziału *A. macrostachya*. Ogółem było 81 form oplewionych i 19 nagich. Linie te zostały wysiane w szkółkach w Radzikowie, (wraz z resztą opisaną wyżej szkółki owsa jarego) oraz w trzech miejscowościach (Kopaszewo, Polanowice, Strzelce), w siewie rozrzedzonym (5 x 30 cm) na dwurzędowych poletkach o powierzchni 0,9 m². System ten zapewnił możliwość oceny stabilności cech w różnych środowiskach oraz kompleksową ocenę hodowlaną pod względem wartości rolniczej obiektów. Szkółki te służyły jednak głównie rozmnożeniu materiału do ilości umożliwiającej dokładniejsze badania na większych poletkach przy normalnej gęstości siewu.

W każdej miejscowości przeprowadzono badania ciężaru 1000 nasion i zawartości łuski u form oplewionych lub udziału ziarn oplewionych w formach nagich. Wyłuskane ziarno przesłano do badań zawartości jego najbardziej znaczących składników: białka, oleju i włókna, z zastosowaniem nieniszczącej metody spektroskopii bliskiej podczerwieni (NIR).

W celu udowodnienia związku ekspresji cech z fragmentami chromosomów gatunku dzikiego podjęto próbę wyodrębnienia fragmentów DNA specyficznych dla *A. macrostachya* z zastosowaniem metodyki różnicowej analizy sekwencji genomowych (RDA - Representative Difference Analysis) według zmodyfikowanego protokołu Sabot i wsp. (2004).

Wyniki:

Wstępna analiza zebranych dotychczas danych pozwoliła zdefiniować cechy, których poprawa może być spodziewana w wyniku introgresji genów z *A. macrostachya* a także umożliwiła wybór form do zastosowania w programach hodowlanych.

Średni plon z poletka (0.9 m²) był wysoce zróżnicowany w zależności od warunków środowiska; w Strzelcach zebrano prawie trzykrotnie (owies nagi) lub czterokrotnie (owies oplewiony) więcej ziarna, niż w Kopaszewie, gdzie owies mocno ucierpiał z powodu suszy. Różnice warunkowane genotypem były jeszcze większe. Formy oktoploidalne były wyraźnie mniej plenne niż heksaploidalne, podobnie jak w latach ubiegłych. Mieszańce heksaploidalne z udziałem *A. macrostachya* zawiązały więcej ziarna, niż kontrolne mieszańce w obrębie *A. sativa*, przy czym wśród form oplewionych przewaga mieszańców oddalonych była mniejsza, niż u form nagonasiennych, gdzie linie grupy BC₁ dały plon średnio o ponad 40% wyższy od linii *A. sativa* (bez domieszki *A. macrostachya*).

Ciężar ziarniaka: W materiałach mieszańców oddalonych odnotowano poszerzenie zakresu zmienności ciężaru 1000 ziaren (MTZ 28,6-50,9 g). Ciężar ziarna z różnych miejscowości był zróżnicowany w znacznie mniejszym stopniu niż plony (różnice MTZ około 15% u form oplewionych, około 7% u form nagich). U form oplewionych pozytywny wpływ *A. macrostachya* na tę cechę zaznacza się na wynikach maksymalnych dla wydzielonych grup, natomiast średnie wyniki są na podobnym poziomie. U form nagonasiennych mieszańce oddalone miały ziarno nieco mniejsze od mieszańców wewnątrzgatunkowych.

Udział łuski u form oplewionych był najniższy w Strzelcach (średnio 23,5%) a najwyższy w Radzikowie (średnio 26,1%). Mieszańce oddalone, z wyjątkiem silniej oplewionych oktoploidów, miały podobny poziom cechy jak mieszańce kontrolne. Najniższy wynik zanotowano jednak wśród czystych *A. sativa*.

Udział nasion z łuską w próbach owsa nagego był wyraźnie niższy u mieszańców oddalonych z grupy BC₁ (heksaploidów z możliwie najwyższym udziałem *A. macrostachya*), niż u mieszańców kontrolnych w obrębie *A. sativa*. Różnica średnich wyniosła ponad 14 punktów procentowych. Niektóre z linii BC₁ były prawie w 100% wymłacalne we wszystkich miejscowościach.

Zawartość białka u mieszańców oddalonych była średnio niższa, niż w czystych *A. sativa*.

Zawartość oleju również kształtowała się ciekawiej w kontrolnej grupie mieszańców (gdzie wystąpiły ekstremalne wartości 2,8% i 7,5%).

Zawartość włókna pokarmowego kształtowała się w szerokim zakresie (2,13–13,5%) i była najwyższa u oktoploidów. Na poziomie ploidalności 6x najlepsze (ze względu na niską zawartość) okazały się mieszańce oddalone grupy BC₁. Ich przewaga nad grupą kontrolną była szczególnie wyraźna wśród owsów nagonasiennych (3,3% w stosunku do 4,2%). Owsy nage miały około dwukrotnie mniejsze wskaźniki NIR zawartości włókna, niż obłuszczone ziarno owsów oplewionych.

W okresie wegetacji zebrano też dane na temat wczesności wiechowania, wysokości roślin oraz osypywania ziarna i porażenia przez choroby w miejscach, gdzie wystąpiły.

Wysuwanie wiech u form z dużym udziałem genów z *A. macrostachya* i owsów ozimych było u owsów oplewionych średnio o 4,5 dnia opóźnione w stosunku do form kontrolnych. Krzyżowania wsteczne z jarym owsem poprawiały tę cechę. Natomiast u owsów nagich grupy BC₁ wiechowanie było nawet średnio o 0,6 dnia wcześniejsze. Wystąpiły też duże różnice między miejscowościami. W Strzelcach ta faza rozwojowa osiągnana była wcześniej, niż w Kopaszewie (średnio o 5,5 dnia u form oplewionych i 2,7 dnia u form nagich).

Wysokość roślin: Formy nage były o ponad 15 cm niższe od form oplewionych a heksaploidy z dużym udziałem *A. macrostachya* (BC₁) były o około 10 cm wyższe od kontrolnych czystych *A. sativa*.

Odporność na choroby: Warunki sezonu nie sprzyjały ujawnianiu się zróżnicowania tej odporności. Choroby pojawiały się najczęściej w niewielkim nasileniu na niektórych obiektach. Wyjątkiem było wystąpienie rdzy koronowej w Strzelcach.

Osypywanie ziarna zostało stwierdzone u wczesnych linii w warunkach Kopaszewa.

Dane dla poszczególnych obiektów pozwoliły wyodrębnić linie mogące stanowić źródła genów do poprawy różnych cech owsa a wśród nich nawet linie wysokopienne mogące stanowić materiał do bezpośredniej selekcji. Do najcenniejszych form nagonasiennych należą linie 5T8.3301100 i 5T8.3301800, bardzo plenne, z relatywnie wysoką MTZ, prawie 100%-ową wymłacalnością, wysoką zawartością białka (około 20%) i oleju (około 6,5%), odpornością na rdzę koronową, oraz linia Ax327.00100 krótkosłoma, z bardzo wysoką – jak na owies nagi - MTZ (36,3 g), wysoką zawartością oleju (6,4%) i niską włókna (2,7%). Wśród owsów oplewionych wyróżniły się m. in. linie S8H8.E9.00100 (plenna, wczesna, z bardzo wysoką MTZ - 50,3g, udziałem łuski 22,1%), 5T8.34.00000 (zawartość oleju 7,4%) i 5F3.f600000 (zawartość oleju 6,9%, łuski 21,4%).

Wykonano 29 nowych krzyżowań (z czego 20 udanych) odmian i rodów owsa uprawnego rekomendowanych przez hodowców z odpowiednio dobranymi oktoploidami lub heksaploidami z udziałem *A. macrostachya* w celu zapewnienia odpowiedniej zmienności tła genetycznego, która powinna sprzyjać ew. transgresji badanych cech jakościowych i ułatwić asymilację genów obcego gatunku.

W ramach badań molekularnych przeprowadzono trzy cykle selekcji fragmentów DNA klonu B6 *Avena macrostachya* (tester) po hybrydyzacji z DNA mieszanki odmian *Avena sativa* (driver). Kluczową kwestią, którą rozwiązano, było odpowiednie dobranie stężeń endo- i egzonukleaz oraz czasu ich oddziaływania na DNA. Trwają próby określenia odpowiednich proporcji DNA puli testowej i eliminującej.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 50.

Tytuł projektu: Poszukiwanie źródeł odporności na rdzę koronową (*Puccinia coronata*) i mączniaka (*Blumeria graminis* sp.) u owsa.

Kierownik projektu: dr A. Strzembicka

Celem pracy było wytypowanie źródeł odporności na rdzę koronową *Puccinia coronata* i mączniaka prawdziwego *Blumeria graminis* f.sp. *avenae* spośród perspektywicznych form i materiałów owsa.

Materiał do badań w 2011 roku stanowiły perspektywiczne genotypy owsa z doświadczeń wstępnych oplewionych – 26 form, doświadczeń wstępnych nagonasiennych - 14 form oraz z doświadczeń przedwstępnych oplewionych – 35 form. W badaniach wzięły udział również 134 formy owsa pochodzące z 3-ch rejonów uprawy: Choryń - 50 form, Polanowice – 63, Strzelce - 21 form. Do badań jako wzorce włączono 7 odmian owsa: Bingo, Bohun, Celer, Jawor, Krezus, Maczo i Siwek. Ponadto w roku sprawozdawczym poddano ocenie 4 rody, które w roku ubiegłym charakteryzowały się wysoką odpornością na rdzę koronową w miejscowościach gdzie prowadzono badania zdrowotności. Ogółem w badaniach wzięło udział 220 genotypów owsa.

Przeprowadzono ocenę wyżej wymienionych form owsa w stadium siewek w szklarni, w kontrolowanych warunkach pod względem odporności na populację *P. coronata* i *B. graminis*. Inokulat do zakażeń stanowiły populacje izolatów patogenów wyodrębnionych z próbek porażonych liści owsa zebranych z odmian i rodów z różnych miejscowości (Choryń, Dukla, Grodkowice, Kopaszewo, Kraków, Lublin, Polanowice, Strzelce i Węgrzce). Rośliny w stadium 2-go liścia zakażono w szklarni. Ocenę materiałów po 12 dniowej inkubacji prowadzono według skali gdzie: 0,1,2 – rośliny odporne, 3-4 - rośliny wrażliwe.

Wiosną bieżącego roku w Grodkowicach, Kopaszewie i w Strzelcach wysiano wymieniony materiał badawczy w formie szkółek wraz z wzorcami po 2 rządki z kontrolną wrażliwą odmianą Jawor.

W sezonie wegetacyjnym w Grodkowicach i w Kopaszewie przeprowadzono w polu sztuczną inokulację rdzą koronową form owsa z doświadczeń wstępnych, przedwstępnych i materiałów z 3-ch rejonów uprawy. Po inokulacji w wymienionych miejscowościach, oraz w Strzelcach w warunkach naturalnej infekcji, przeprowadzono obserwacje porażenia rdzą koronową. Materiał badawczy został także oceniony pod względem odporności na porażenie mączniakiem *B. graminis* w polu w warunkach naturalnej infekcji. Ocenę porażenia form owsa w stadium rośliny dorosłej obydwoma patogenami przeprowadzono w skali 9-cio stopniowej – gdzie 9 - wysoce odporny, 1- wysoce wrażliwy.

Wyniki oceny 75 form owsa oplewionego z doświadczeń wstępnych i przedwstępnych pod względem odporności w stadium siewek na populację *P. coronata* wskazują, że znaczna większość badanych form odznaczała się wrażliwością, spośród badanych jedynie 12 form charakteryzowało się odpornością. W grupie 134 genotypów owsa pochodzących z 3-ch rejonów uprawy tylko u 12 notowano odporność na populację rdzy koronowej. Wszystkie biorące udział w roku bieżącym, w doświadczeniu, genotypy owsa w liczbie 209 charakteryzowały się wrażliwością w stadium siewek na populację mączniaka *B. graminis*.

W omawianym roku sprawozdawczym obserwowano znaczne nasilenie rdzy koronowej we wszystkich 3 miejscowościach w których były prowadzone szkółki.

Analizując wyniki oceny porażenia rdzą koronową *P. coronata* form z doświadczeń wstępnych i przedwstępnych oplewionych przy zastosowaniu sztucznej inokulacji w Grodkowicach i Kopaszewie można zauważyć znaczne zróżnicowanie badanego materiału pod względem odporności. W obu miejscowościach na badanym materiale rdza pojawiła się w pierwszej dekadzie lipca. Zakres porażenia badanych genotypów w Grodkowicach wynosił 8-4 w skali 9-cio stopniowej, w Kopaszewie notowano silniejsze porażenie przy zakresie 8-2. W Strzelcach w warunkach naturalnej infekcji w tym czasie nie obserwowano objawów choroby u znacznej większości badanych genotypów, zaledwie kilka form owsa uległo niewielkiemu porażeniu, zakres porażenia wynosił 9-6. Natomiast w tej miejscowości rdza koronowa wystąpiła na badanych genotypach owsa prawie w epidemicznym nasileniu pod koniec lipca, u przeważającej większości genotypów notowano porażenie w stopniu 1 i 2.

Spośród 26 form z doświadczeń wstępnych oplewionych wysoką połową odpornością na rdzę koronową w Grodkowicach odznaczało się 6 form, zaledwie 2 w Kopaszewie i 2 w Strzelcach w czasie całego okresu wegetacyjnego, klasa porażenia 9-7. Średnią odporność, notowano u 8 form w Grodkowicach i u 3 w Kopaszewie. Wartość współczynników zmienności CV% dla tych genotypów wskazuje na zróżnicowanie badanego materiału w poszczególnych miejscowościach i wynosi od 19,5% w Grodkowicach, 37% w Kopaszewie, zaś w Strzelcach 76,1%. Spośród 14 genotypów owsa nagonasiennego jedynie 3 znalazło się w pierwszej klasie porażenia (9-7) w Grodkowicach, 2 w Kopaszewie oraz 3 w Strzelcach, przy współczynnikach zmienności 29,5%, 42,4% i 89,8% odpowiednio.

Analiza 35 form owsa z doświadczeń przedwstępnych oplewionych wskazuje również na zróżnicowanie tego materiału pod względem odporności na rdzę koronową, współczynniki zmienności od 18% do 62,4%. W Grodkowicach i Kopaszewie jedynie 3 formy wykazały odporność w stopniu 9-7, podczas gdy w Strzelcach do tej grupy odpornych nie zaliczono żadnej.

Odmiany wzorcowe Bingo, Bohun, Jawor, Krezus, Maczo i Siwek wykazały znaczną wrażliwość na rdzę koronową we wszystkich miejscowościach, natomiast odmianę Celer, wzorzec odporności, dalej można zaliczyć do odpornych - porażenie w skali 9-6.

W bieżącym roku warunki klimatyczne przebiegu doświadczeń, nie pozwoliły na pełny rozwój mączniaka *B. graminis*, nie notowano porażenia zarówno badanych genotypów owsa

jak i wzorców w Grodkowicach i w Kopaszewie. Natomiast w Strzelcach zaledwie kilka form owsa uległo średniemu porażeniu w tym odmiany wzorce Jawor i Maczo.

Wśród 134 genotypów owsa z 3 rejonów uprawy, 30 odznaczało się wysoką odpornością polową na rdzę koronową w Grodkowicach, 45 znalazło się w klasie drugiej porażenia. W Kopaszewie do grupy pierwszej odporności 9-7 zaliczono 41 form, natomiast 79 form charakteryzowało się wysoką wrażliwością. W Strzelcach, gdzie rdza wystąpiła w dużym nasileniu pod koniec okresu wegetacji wysoką odporność notowano tylko u 7 genotypów spośród tych 134 badanych. Również w przypadku tych genotypów nie notowano wystąpienia mączniaka w Grodkowicach, w Kopaszewie wystąpił sporadycznie, w Strzelcach zaledwie 14 form uległo porażeniu.

W roku sprawozdawczym do badań włączono 4 genotypy owsa które w ubiegłym roku odznaczały się wysoką odpornością na rdzę koronową i mączniaka. Genotypy te zostały wysiane w doświadczeniu w Grodkowicach i Krzeczowicach w formie kolekcji źródeł odporności. Wybrane genotypy utrzymują odporność przez okres tych 2-ch lat badań w obu miejscowościach.

Podsumowując uzyskane wyniki można zauważyć, że badane genotypy owsa były w różnym stopniu porażane przez rdzę koronową *P. coronata* w poszczególnych miejscowościach, okazały się materiałem o dużym zróżnicowaniu.

Istotny wpływ na stopień porażenia miała zastosowana sztuczna inokulacja patogenem w Grodkowicach i Kopaszewie przy sprzyjających warunkach klimatycznych na przełomie czerwca i lipca. W tych miejscowościach o czym już wspomniano wyżej rdza wystąpiła już w znacznym nasileniu w pierwszej dekadzie lipca, podczas gdy w warunkach naturalnej infekcji w Strzelcach obserwowano w tym czasie znikome porażenie. Natomiast w tej miejscowości rdza koronowa wystąpiła na badanych genotypach owsa prawie w epidemicznym nasileniu pod koniec lipca. Spowodowane to mogło być nawiewem zarodników przy sprzyjających lokalnych warunkach klimatycznych - temperatura, wilgotność.

Przeprowadzona ocena materiału badawczego owsa w roku sprawozdawczym w trzech miejscowościach pozwoliła na wyodrębnienie jedynie 3 genotypów z doświadczeń wstępnych nagonasiennych o wysokim poziomie odporności polowej na rdzę koronową, oraz 4 z doświadczeń wstępnych oplewionych, przy czym u trzech notowano również odporność w stadium siewki. Warto zaznaczyć, że te formy odznaczały się odpornością również w innych doświadczeniach polowych prowadzonych w kraju w ramach prac Zespołu ds. Hodowli Owsa.

Wymienione genotypy odporne owsa zostaną wysiane wiosną przyszłego roku w formie kolekcji źródeł odporności, celem sprawdzenia czy ich odporność będzie trwała w czasie i będzie stabilna.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 52.

Tytuł projektu: Poszerzenie zmienności zawartości kwasów tłuszczowych, tłuszczu i glukozyolanów u rzepaku ozimego za pomocą metod rekombinacyjnych i biotechnologicznych.

Kierownik projektu: dr S. Spasibonek

Z większości obecnie uprawianych odmian rzepaku pozyskuje się olej typu uniwersalnego, który wykorzystywany jest zarówno do celów spożywczych jak i technicznych. Dla optymalnego dostosowania oleju rzepakowego do przerobu w różnych technologiach pożądane jest uzyskanie oleju naturalnie stabilnego, nie podlegającego szybkim procesom oksydacyjnym. Z tego względu prowadzone są badania nad otrzymaniem odmian

rzepaku o wysokiej zawartości kwasu oleinowego, powyżej 75% i obniżonej do około 3-4% kwasu linolenowego będącego wielonienasyconym kwasem tłuszczowym.

Kontynuowane są również prace nad dalszym obniżaniem zawartości związków antyżywnościowych - glukozyzolanów w celu zwiększenia wartości użytkowej nasion rzepaku i uzyskiwanej z nich pełnowartościowej śruty. Poziom glukozyzolanów w wyhodowanych dotąd odmianach rzepaku ozimego nie przekracza $15 \mu\text{M g}^{-1}$ nasion. Zawartość tych związków na takim poziomie nie wpływa niekorzystnie na przyrosty wagowe i rozwój zwierząt, jednak powoduje jeszcze zaburzenia w działaniu tarczycy i jej powiększenie.

Celem projektu jest uzyskanie genotypów rzepaku ozimego podwójnie ulepszonych o zróżnicowanym składzie kwasów tłuszczowych łączących cechy wysokiej zawartości tłuszczu, ekstremalnie niskiej zawartości glukozyzolanów oraz wysokiej plenności.

W Zakładzie Genetyki i Hodowli Roślin Oleistych IHAR-PIB Oddział w Poznaniu metodą mutagenyzy chemicznej oraz hodowli rekombinacyjnej uzyskano kolekcję linii wsobnych mutantów, rekombinantów oraz linii podwojonych haploidów (DH) rzepaku ozimego o zróżnicowanej zawartości kwasów tłuszczowych w oleju nasion: typu HO (ang. high oleic) o wysokiej zawartości kwasu oleinowego (około 78,4%) przy jednoczesnym obniżeniu zawartości kwasu linolowego (ok. 7,7%) i kwasu linolenowego (ok. 6,8%) oraz linii typu „LL” – (ang. low linolenic) o ekstremalnie niskiej zawartości kwasu linolenowego (ok. 2,8%) oraz kolekcję linii o ekstremalnie niskiej zawartości glukozyzolanów (poniżej $5 \mu\text{M g}^{-1}$ nasion) i wysokiej zawartości tłuszczu (od 46% do 49%).

W sezonie wegetacyjnym 2010/2011 przeprowadzono ocenę linii rzepaku ozimego wysianych na poletkach selekcyjnych oraz w doświadczeniach porównawczych pod względem ich przydatności do hodowli (wykonano ocenę najważniejszych cech gospodarczych tj. ocenę przetrzymywania, wczesności, wysokości roślin oraz plonu nasion). Natomiast w zebranych nasionach oznaczono zawartość tłuszczu (%) za pomocą szerokopasmowego analizatora magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR) firmy Newport Instruments Ltd.

Zawartości kwasów tłuszczowych: palmitynowego ($\text{C}_{16:0}$), stearynowego ($\text{C}_{18:0}$), oleinowego ($\text{C}_{18:1}$), linolowego ($\text{C}_{18:2}$), linolenowego ($\text{C}_{18:3}$), eikozenowego ($\text{C}_{20:1}$) i erukowego ($\text{C}_{20:0}$), w oleju oznaczano metodą chromatografii gazowej.

Analizy na zawartość i skład glukozyzolanów tj. glukonapiny (gln), glukobrassicinapiny (glbn), progoitryny (prog), brassicyny (brass), 4-hydroksybrassicyny (4-OHbras), sumy glukozyzolanów (s. gluk.), sumy glukozyzolanów alkenowych (s. gluk. alk.) zostały wykonane metodą chromatografii gazowej pochodnych siliolowych desulfoglukozyzolanów.

Rekombinanty otrzymane w wyniku krzyżowań (linie mutantów niskolinolenowego M681 x odmiany) oceniano pod kątem obecności zmutowanych alleli genu desaturazy *fad3*, enzymu odpowiedzialnego za syntezę kwasu linolenowego. Uzyskane próby badano metodą SNaPshot, z wykorzystaniem opracowanych w Zakładzie Genetyki i Hodowli Roślin Oleistych IHAR – PIB w Poznaniu allelo-specyficznych markerów SNP dla zmutowanych alleli genów desaturazy *fad3*.

Nietypowy przebieg pogody z nadmiernymi opadami w miesiącu sierpniu w dużym stopniu utrudnił terminową uprawę przedsięwzięcia, a następnie siew, który przeprowadzono w kilku etapach do końca sierpnia. Mała ilość opadów i niska temperatura w pierwszej dekadzie września spowodowały dość znaczne wydłużenie i niewyrównanie wschodów. Początek zimy już w listopadzie (z niskimi temperaturami i śniegiem) zastał rośliny w dość zróżnicowanym stadium rozwojowym, tj. 4-6 liści w rozecie. Fakt ten odzwierciedla bardzo niską ocenę bonitacyjną przetrzymywania roślin. Sucha i chłodna wiosna spowodowała, że rośliny w okresie kwitnienia weszły bardzo osłabione z małą liczbą rozgałęzień. Majowe przymrozki w fazie pełni kwitnienia spowodowały znaczne uszkodzenie roślin (wykręcanie i pęknięcie łodyg) co w następstwie skutkowało porażeniem osłabionych roślin chorobami grzybowymi. Duża

liczba opadów w miesiącu lipcu opóźniła dojrzewanie (młodzenie się roślin) i zbiór. Nietypowy przebieg pogody w czasie wegetacji znacząco wpłynął na bardzo niskie plony oraz zaburzył właściwy przebieg syntezy kwasów tłuszczowych i gromadzenia się tłuszczu w nasionach.

Badanie efektywności metod hodowli rekombinacyjnej z udziałem mutantów

Uzyskane w Zakładzie Genetyki i Hodowli Roślin Oleistych IHAR–PIB Poznań, w wyniku mutagenyzy indukowanej chemicznie mutanty M-10453, M-10464 i M-681 dostarczają niezbędnego źródła zmienności genetycznej potrzebnej do prac badawczych oraz hodowlanych nad rzepakiem o zmienionej zawartości kwasów wielonienasyconych. Uzyskane zmiany w zawartościach kwasów: oleinowego, linolowego i linolenowego przenoszone są do wartościowych gospodarczo odmian oraz rodów hodowlanych na drodze hodowli rekombinacyjnej.

W wyniku krzyżowania odmian polskich (Batory, Bazyl, Bojan, Gara, Kana) i zagranicznych (Bristol, Cabriolet, Californium, Castille, Contact, Libomir, Lirajet, Lisek, Orkan, Viking) z liniami mutantów wysokooleinowych i z liniami mutantów niskolinolenowego uzyskano rekombinanty pokoleń F₁₀—F₅ charakteryzujące się wzrostem zawartości kwasu oleinowego w oleju nasion (od 75,6% do 80,1%) i obniżoną zawartością kwasów: linolowego i linolenowego, odpowiednio do 6,0% i do 5,6%. Zawartości sumy glukozyolanów i glukozyolanów alkenowych u badanych linii wahały się odpowiednio (7,9–21,7 μM g⁻¹ nasion) i (4,8–18,9 μM g⁻¹ nasion).

W celu zwiększenia wigoru roślin jak również pogłębienia i utrwalenia jeszcze większych zmian pożądanych kwasów tłuszczowych przeprowadzono jedno- (BC₁) i dwukrotne (BC₂) krzyżowania wsteczne z odmianami (Californium, Contact, Cabriolet, Libomir Viking). Uzyskano rekombinanty pokoleń F₉—F₅ (BC₁) i (BC₂) typu „HOLL” - (skrót ang. od high oleic, low linolenic) wykazujące wzrost zawartości kwasu oleinowego w oleju nasion (do 80,0%) oraz obniżone zawartości kwasu linolenowego (do 5,6%) oraz rekombinanty typu „HO” - (skrót ang. od high oleic) charakteryzujące się podwyższoną zawartością kwasu oleinowego (do 78,9%) i obniżoną zawartością kwasów linolowego i linolenowego odpowiednio (do 6,6%) i (do 7,6%). Zawartości sumy glukozyolanów i glukozyolanów alkenowych u badanych linii wahały się odpowiednio (11,5–26,1 μM g⁻¹ nasion) i (7,4–21,9 μM g⁻¹ nasion).

Zbyt wysoka zawartość sumy glukozyolanów w niektórych badanych populacjach (w stosunku do obowiązującej normy 15 μM g⁻¹ nasion) wymaga dalszej selekcji.

Najlepsze linie rekombinacyjne oceniono w polowych doświadczeniach porównawczych pod względem składu kwasów tłuszczowych, zawartości tłuszczu, glukozyolanów oraz cech agronomicznych. Sporządzona synteza wyników dla 16 rekombinantów uzyskanych w wyniku krzyżowań (odmiany x linie mutantów) i 3 rekombinantów z krzyżowań (międzyliniowych i liniowo-odmianowych) wykazała, że plon nasion istotnie różnicował badane linie. Dziewięć linii plonowało istotnie wyżej (20,0–16,0 dt ha⁻¹) w stosunku do odmiany wzorcowej Artoga (15,5 dt ha⁻¹). Linie te nie przekroczyły poziomu plonowania drugiej odmiany wzorcowej Chagall (24,7 dt ha⁻¹). Stwierdzono, że badane linie mimo bardzo trudnych warunków pogodowych w okresie całego sezonu wegetacyjnego utrzymały wysoką zawartość kwasu oleinowego w przedziale (do 76,0%). Większość wybranych linii charakteryzowała się niską zawartością glukozyolanów. Niekorzystne warunki pogodowe w okresie dojrzewania nasion (nadmierne opady) były przyczyną niskiego gromadzenia się tłuszczu w nasionach. Pod względem zawartości tłuszczu 9 linii (43,6–42,0%) przewyższało odmianę wzorcową (Chagall–41,9%) natomiast odmianę Artoga (39,8%) 19 linii (43,6–40,0%).

Metody hodowli rekombinacyjnej z udziałem genotypów o ulepszonych parametrach jakościowych

W badaniach wykorzystano populacje rekombinantów międzyliniowych i liniowo-odmianowych oraz linie DH. Rekombinanty uzyskano z krzyżowań linii własnych o niskiej zawartości glukozyolanów (poniżej $5\mu\text{M g}^{-1}$ nasion) i o podwyższonej zawartości kwasu oleinowego (około 70%) z odmianą Contact. Wybrane linie charakteryzowały się również wysoką zawartością tłuszczu (do 49%) w nasionach. Selekcję indywidualną w następujących po sobie pokoleniach prowadzono na podstawie wyników analiz biochemicznych z zebranych nasion z pojedynczo izolowanych roślin.

Podwyższona zawartość kwasu oleinowego w badanych pokoleniach rekombinantów i liniach DH (stwierdzona w latach ubiegłych), potwierdziła się również w zebranych liniach pokoleń F_9 — F_{10} i w liniach DH mimo niekorzystnych warunków pogody wpływających na syntezę kwasów tłuszczowych. Najlepsze linie o wysokiej zawartości kwasu oleinowego są systematycznie krzyżowane z wartościowymi odmianami w celu podniesienia plenności i zwiększenia wigoru roślin, obniżonego zmianą składu chemicznego nasion oraz spowodowanego chowem wsobnym.

Z krzyżowań linii wysokooleinowych z odmianami polskimi (Lisek) i zagranicznymi (Contact, Californium i Viking) uzyskano rekombinanty liniowo-odmianowe pokolenia F_7 charakteryzujące się wysoką zawartością kwasu oleinowego (76,5–78,5%) oraz niską zawartością sumy glukozyolanów ($5,7$ – $8,3\mu\text{M g}^{-1}$ nasion) i bardzo niską zawartością sumy glukozyolanów alkenowych ($0,8$ – $3,5\mu\text{M g}^{-1}$ nasion).

W wyniku krzyżowań linii wysokooleinowych z liniami wysokotłuszczowymi oraz liniami o niskiej zawartości glukozyolanów uzyskano rekombinanty pokoleń F_7 — F_5 o wysokiej zawartości kwasu oleinowego (od 72,2–81,0%), niskiej zawartości sumy glukozyolanów ($3,4$ – $15,5\mu\text{M g}^{-1}$ nasion) oraz bardzo niskiej zawartości sumy glukozyolanów alkenowych ($0,4$ – $8,6\mu\text{M g}^{-1}$ nasion).

W doświadczeniu polowym oceniono 23 linie rekombinantów uzyskanych z krzyżowań międzyliniowych i liniowo-odmianowych pod względem stabilności cech ilościowych i jakościowych. Z obliczeń statystycznych plonu nasion stwierdzono istotne różnicowanie badanych obiektów. Linie plonowały na poziomie ($21,9$ – $8,3$ dt ha^{-1}) w stosunku do odmian wzorcowych – Chagall ($25,4$ dt ha^{-1}) i Artoga ($29,3$ dt ha^{-1}). Pod względem zawartości tłuszczu w nasionach 6 linii przewyższyło odmianę Chagall (46,6%), a 7 linii odmianę Artoga (46,3%). Istotne różnicowanie badanych obiektów stwierdzono pod względem zawartości kwasów tłuszczowych (oleinowy, linolowy i linolenowy), przezimowania, wczesności roślin i długości kwitnienia.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 53.

Tytuł projektu: Badanie zjawiska heterozji u genotypów rzepaku ozimego o zmienionych cechach jakościowych.

Kierownik projektu: mgr W. Popławska

Zadanie 1

Skład kwasów tłuszczowych obecnie uprawianych odmian rzepaku ozimego podwójnie ulepszanego czyni olej pozyskiwany z nasion przydatnym tak dla celów spożywczych jak i technicznych, do produkcji biopaliw. Jednak dla zwiększenia jego wartości zwłaszcza na cele paliwowe konieczne jest uzyskanie form wysokooleinowych i niskolinolenowych, a dla celów spożywczych (zwłaszcza głębokiego smażenia) pożądane są formy o podwyższonej do ponad 75% zawartości kwasu oleinowego przy niewielkiej obniżce kwasu linowego i linolenowego. Jednakże obniżka zwłaszcza kwasu linolenowego wpływa niekorzystnie na plenność tego

typu genotypów. Uzyskanie odmian o takim profilu kwasów tłuszczowych i jednocześnie plennych możliwe jest poprzez hodowlę odmian mieszańcowych. Z tego względu rozpoczęto badania celem szybkiego wytworzenia linii CMS *ogura* i linii restorerów o zmienionych cechach jakościowych z wykorzystaniem metod biotechnologicznych.

W sezonie 2011 w warunkach szklarniowych wykonano krzyżowania pomiędzy 5 liniami CMS *ogura* pokolenia BC₇ (uzyskanymi w wyniku kolejnych wstecznych krzyżowań 3 linii CMS *ogura* PN 64, PN 66, PN 68 z liniami rzepaku podwójnie ulepszanego pokolenia F₂, F₃, F₄, F₅, F₆, F₇ o wysokiej zawartości tłuszczu w nasionach od 46,4 do 50,2% oraz kwasu oleinowego od 76,1 do 80,4%) i otrzymanymi z Pracowni Hodowli Jakościowej 10 wysokoplennymi liniami rzepaku pokolenia F₈ o zawartości glukozyolanów w nasionach od 5,0 do 8,6 $\mu\text{mol g}^{-1}$ nasion oraz kwasu oleinowego od 77,0 do 79,8%.

Wyselekcjonowano 18 linii męskosterylnych typu *ogura* pokolenia BC₈, które charakteryzowały się zawartością kwasu oleinowego w zakresie od 74,6 do 79,1% (średnia zawartość 77,4%) oraz kwasu linolenowego od 6,4% do 8,3%.

Sezon wegetacyjny 2010-2011 charakteryzował się niekorzystnym układem warunków meteorologicznych, które wpłynęły na ograniczenie zbioru rzepaku. Niskie temperatury dobowe w początkowej fazie wegetacji rzepaku (wrzesień, październik) zahamowały jego wzrost i uniemożliwiły wytworzenie prawidłowych rozet, które gwarantowały by bezpieczne przetrwanie roślin. Silne mrozy występujące w lutym, przy braku dostatecznej okrywy śnieżnej chroniącej rośliny przed nadmiernym wychłodzeniem, spowodowały 50% wymarnięcia. Ponadto słaba kondycja rzepaku po zimie sprzyjała intensywnemu rozwojowi chorób grzybowych. W maju w fazie pełnego kwitnienia rzepaku odnotowano dodatkowe straty już zaizolowanych roślin wywołane przymrozkami. Nadmierne opady w końcowej fazie wegetacji rzepaku opóźniły jego zbiór pogarszając jakość zebranych nasion.

W efekcie z 850 zaizolowanych roślin zebrano nasiona zaledwie ze 185 pojedynczków.

Uzyskano ograniczone ilości nasion mieszańców pokolenia F₁ o nowych cechach jakościowych uniemożliwiającej założenie doświadczeń polowych jesienią 2011 r. W związku z tym, trzy linie CMS *ogura* pokolenia BC₇: T9, T12, T30 o wysokiej zawartości tłuszczu w nasionach oraz kwasu oleinowego ponownie wysiano w układach z 6 restorerami o zmienionym składzie kwasów tłuszczowych, w celu wytworzenia nasion 18 mieszańców testowych F₁.

W ramach poszerzania puli linii restorerów o podwyższonej zawartości kwasu oleinowego (HO) i obniżonej zawartości kwasu linolenowego (LL) badano populację roślin pokolenia F₅, będącą rozmnożeniem 28 rekombinantów pokolenia F₄, uzyskanego w wyniku krzyżowania 4 plennych linii restorujących - podwojonych haploidów (DH): PN 17/5, 18/5, 19/2, 21/4 z linią mutanta PN 2185/1/05 o zmienionym składzie kwasów tłuszczowych. Analizy chemiczne nasion na zawartość kwasów tłuszczowych, glukozyolanów wykonano na nasionach zebranych z 50 izolowanych roślin z allelami genu restorera pokolenia F₅. Dla 26 rekombinantów stwierdzono wzrost zawartości kwasu oleinowego w oleju powyżej wartości średniej dla całej populacji, która wynosiła 76,4%. Natomiast obniżeniu uległa zawartość kwasu linolenowego w zakresie od 4,9 do 9,2% przy średniej zawartości 7,5%. Zawartość glukozyolanów w analizowanych nasionach wahała się od 6,5 do 13,9 $\mu\text{mol g}^{-1}$ nasion, średnia zawartości glukozyolanów wyniosła 11,6 $\mu\text{mol g}^{-1}$ nasion.

W 2009 roku w wyniku wykonanego krzyżowania pomiędzy 9 restorerami o zawartości kwasu oleinowego powyżej 80% i wysokiej zawartości tłuszczu w nasionach, wyselekcjonowanymi w pokoleniu F₃ i 5 liniami DH₂ o zawartości kwasu oleinowego od 80,4% do 81,3% i wysokiej zawartości tłuszczu w nasionach, uzyskano nową pulę 39 rekombinantów z allelami genu restorera pokolenia F₁. W sezonie wegetacyjnym 2010/2011 prowadzono obserwację i selekcję wśród 38 rekombinantów pokolenia F₂ wysianych na poletkach rozmnożeniowych. Zaizolowano 300 roślin produkujących pyłek. Z powodu

majowych przymrozków i dużego porażenia roślin w fazie zawiązywania łuszczyń, zebrano nasiona z 90 pojedynków i wykonano dla nich analizy chemiczne na zawartość kwasów tłuszczowych i glukozyolanów.

Dla 50 rekombinantów F₂ stwierdzono wzrost zawartości kwasu oleinowego w oleju powyżej wartości średniej dla całej populacji, która wynosiła 76,1%. Natomiast obniżeniu uległa zawartość kwasu linolenowego w zakresie od 4,7 do 10,0% przy średniej zawartości 8,0%. Zawartość glukozyolanów w analizowanych nasionach wahała się od 4,1 do 14,9 $\mu\text{mol g}^{-1}$ nasion, średnia zawartości glukozyolanów wyniosła 12,2 $\mu\text{mol g}^{-1}$ nasion.

Równolegle w roku 2010 w szklarni wykonano nowy cykl krzyżowań 10 rekombinantów z allelami genu restorera pokolenia F₁ z 4 mieszańcami F₁ (♀ DH₂ x ♂ odmiany) o zmienionym składzie kwasów tłuszczowych, otrzymanymi z Pracowni Hodowli Jakościowej. Uzyskana populacja 22 rekombinantów pokolenia F₁ była przedmiotem badań i selekcji w roku 2011. W tym celu zaizolowano 285 roślin produkujących pyłek, z tego do analiz chemicznych zebrano nasiona

z 45 pojedynków. Nasiona nowych rekombinantów pokolenia F₁ charakteryzowały się zawartością kwasu oleinowego w zakresie od 72,6 do 78,3%, kwasu linolenowego od 6,0 do 9,4% i glukozyolanów od 6,3 do 13,8 $\mu\text{mol g}^{-1}$ nasion.

Uzyskane w sezonie wegetacyjnym 2010/2011 wyniki, umożliwiły opracowanie charakterystyki cech jakościowych dla 50 rekombinantów z allelami genu restorera pokolenia F₅. Stwierdzono wyraźną stabilizację składu kwasów tłuszczowych dla restorerów z podwyższoną zawartością kwasu oleinowego (od 70,6 do 81,9%) i obniżoną zawartością kwasów: linolowego (od 5,6 do 14,6%) i linolenowego (od 4,9 do 9,2%). Wyselekcjonowane restorery cechują się niską zawartością glukozyolanów (od 6,5 do 13,9 $\mu\text{mol g}^{-1}$ nasion).

Problemem do rozwiązania, jak wykazały wyniki doświadczenia PN 2 z 2010 roku, pozostaje w dalszym ciągu ich stosunkowo niska plenność oraz ocena ich przydatności jako komponentów do hodowli odmian mieszańcowych o zmienionych cechach jakościowych.

Natomiast 18 męskosterylnych linii typu *ogura* o zmienionym profilu kwasów tłuszczowych, uzyskane w efekcie ośmiokrotnego krzyżowania wstecznego, może być już w pełni wykorzystane, jako komponenty mateczne, do tworzenia zrestorowanych mieszańców testowych.

Zadanie 2

W roku 2011 metodą kultury izolowanych mikrospor, opracowaną w Pracowni Kultur Tkankowych, uzyskano łącznie 1327 androgenicznych roślin z 14 dawców mikrospor rzepaku ozimego otrzymanych z Hodowli Roślin Strzelce Spółki z o.o Grupa IHAR Oddział w Borowie i Oddział w Małyszynie oraz Hodowli Roślin Smolice Spółki z o.o. Grupa IHAR Oddział w Bąkowie. Około 1550 zarodków mikrosporum z 7 dawców znajduje się w trakcie regeneracji roślin androgenicznych. Z jednego dawcy MA-4037 nie uzyskano indukcji androgenezy. Natomiast trwają prace nad stymulacją androgenezy w kulturze mikrospor czterech genotypów dawców: BO-913, BO-925, BO-927, MA-4036.

Ponadto zebrano nasiona ze 125 linii DH otrzymanych z trzech dawców rzepaku ozimego: BK 15 -5 linii DH, BK 16 – 23 linie DH i BK17 -97 linii DH.

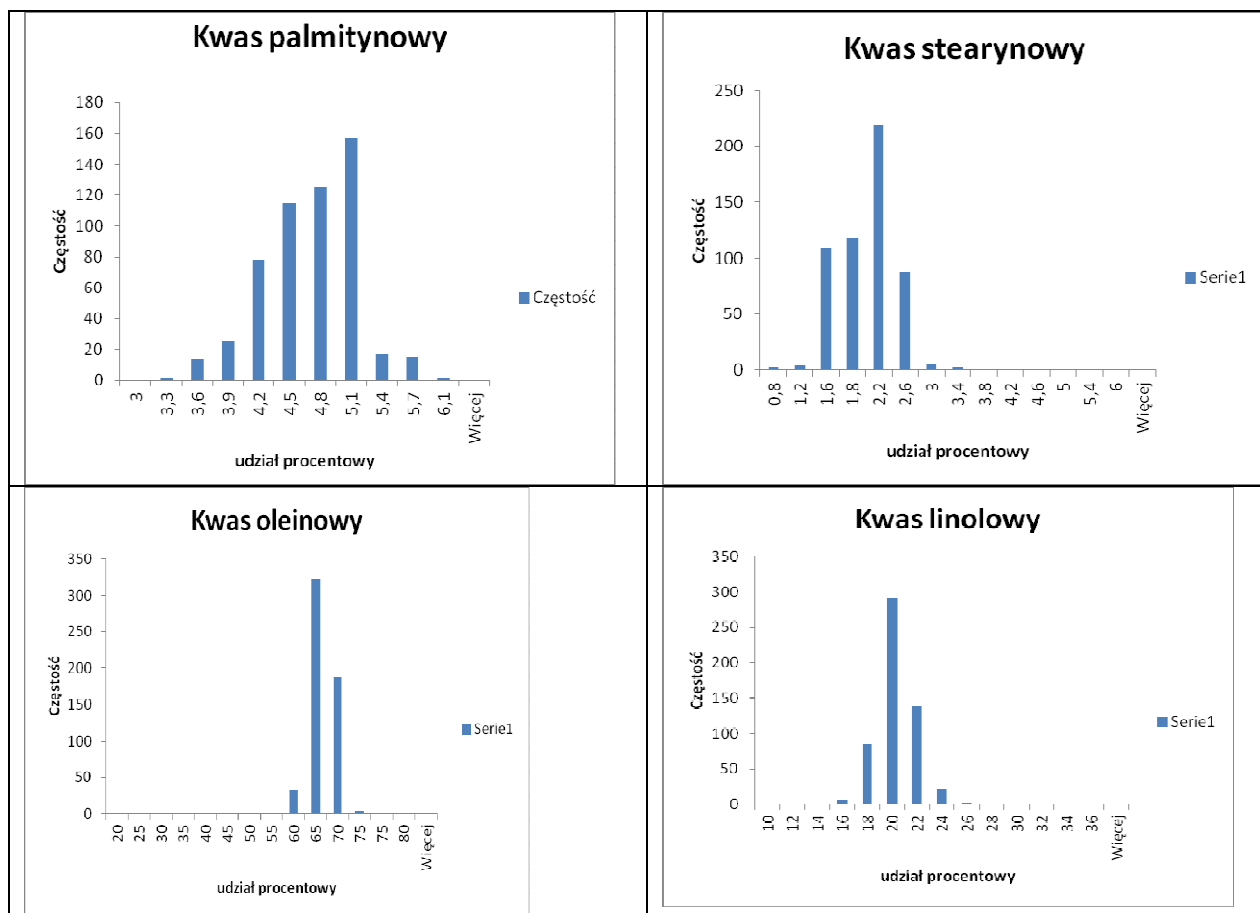
W prowadzonych badaniach z 21 różnych dawców mikrospor rzepaku ozimego uzyskano zróżnicowane liczby roślin androgenicznych. Potwierdza to fakt, że wydajność androgenezy wiąże się ze zdolnościami genetycznymi do stymulacji mikrospor do podziałów lub indukcji konwersji zarodków w rośliny. Dlatego konieczne jest stosowanie różnych modyfikacji, poza optymalnym schematem metodycznym, zwiększających indukcję androgenezy, pobudzanie zarodków do organogenezy czy podwajanie liczby chromosomów w późniejszej fazie rozwoju androgenicznej rośliny.

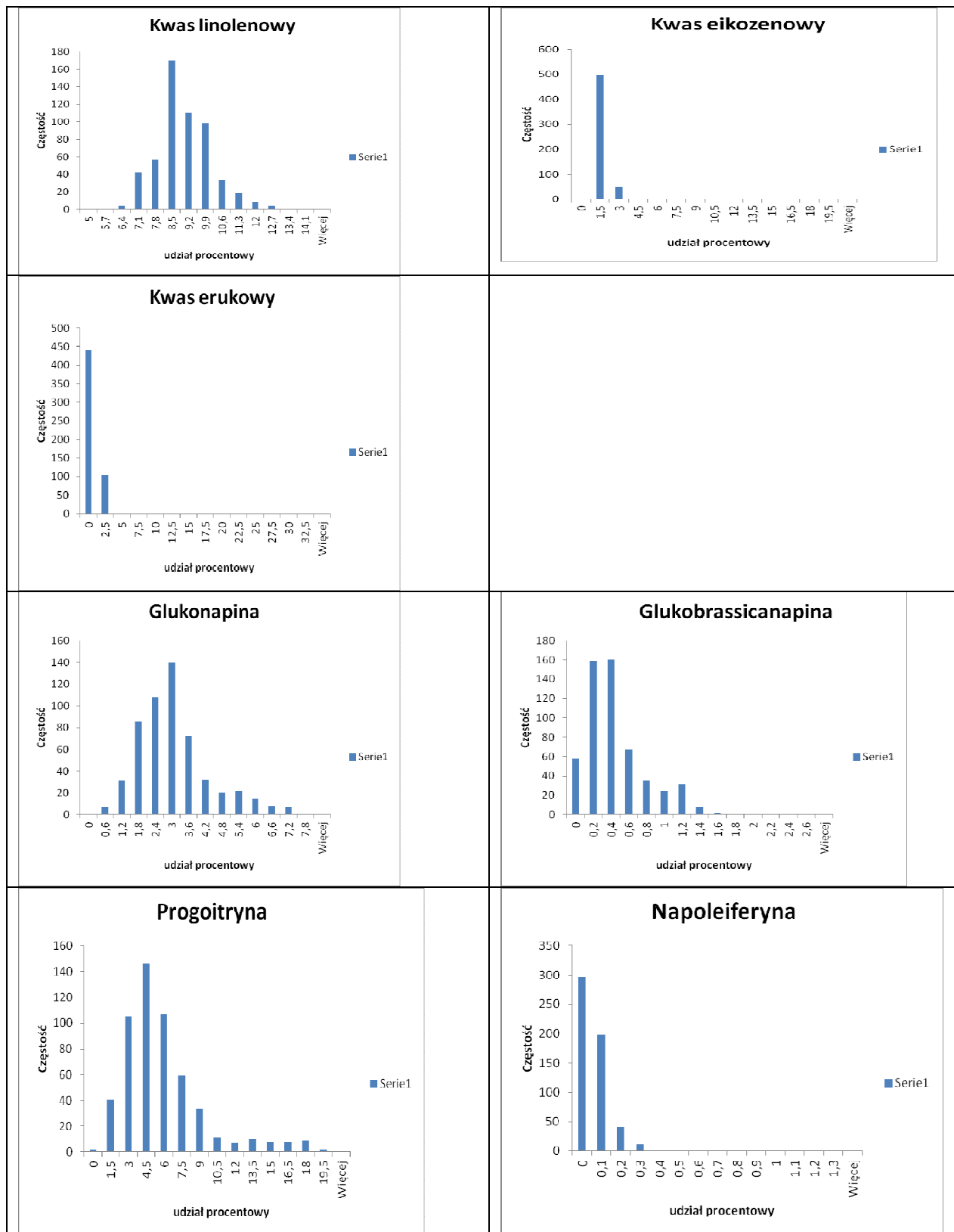
Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 54.

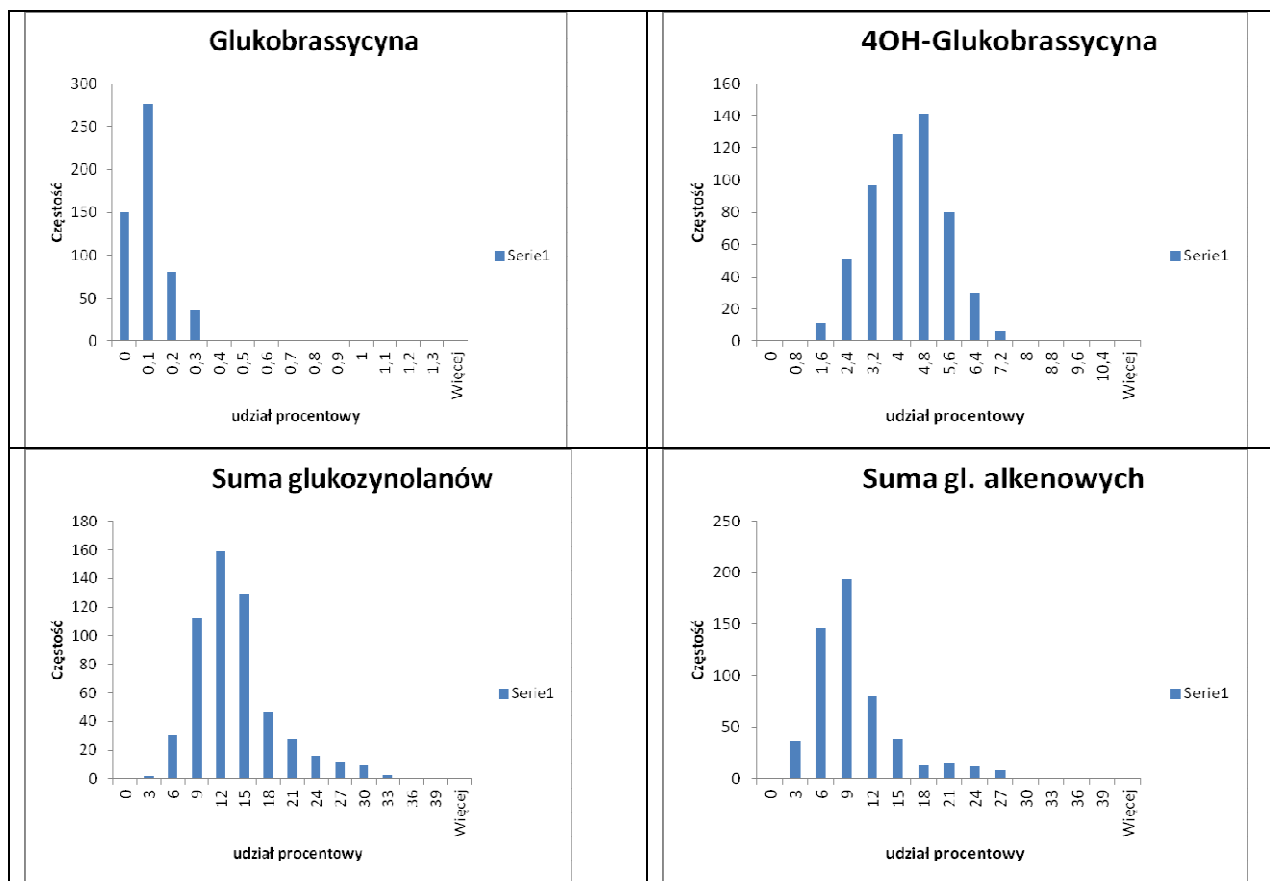
Tytuł projektu: Określenie zmienności zawartości kwasów tłuszczowych w nasionach rzepaku i lnu, glukozyolanów w rzepaku oraz alkaloidów w makowinach maku lekarskiego w celu opracowania modeli kalibracyjnych NIRS.

Kierownik projektu: dr K. Michalski

W roku 2011 pozyskano do celów kalibracyjnych ok. 500 próbek rzepaku o zróżnicowanych cechach jakościowych zebranych w różnych miejscowościach oraz 80 próbek makowin. Dane referencyjne otrzymano za pomocą analizy chemicznej glukozyolanów - analiza chromatograficzna silylowych pochodnych desulfogluukozyolanów (metoda ze wzorcem wewnętrznym); skład kwasów tłuszczowych – analiza chromatograficzna estrów metylowych kwasów tłuszczowych (metodą normalizacji do 100%); morfina - analiza kolorymetryczna. Zebrane próbki zostały następnie zeskanowane na aparacie NIRS 6500 aby pozyskać widma w bliskiej podczerwieni. Poniżej przedstawiono histogramy rozkładu zawartości poszczególnych składników aby uwidocznic reprezentowaną przez nie wariancję. W załączonej tabeli zestawiono zakresy zmienności chemicznej poszczególnych składników. Zbiór obejmuje zmienność występującą w roku 2011 w obszarze Polski zachodniej (Borowo, Bąków, Małyszyn), co pozwala wprowadzić zmienność geograficzną i gwarantuje równomierne wypełnienie kalibrowanego zakresu a w efekcie pozwala na otrzymanie równań odpornych na nieprzewidziane zmiany składu mierzonych próbek. Jak wynika z załączonych histogramów udział próbek o skrajnych wartościach jest niewielki w danej populacji, co wymaga przebadania możliwie dużego zbioru próbek aby zapewnić dostateczną liczbę próbek o pożądanym składzie chemicznym.

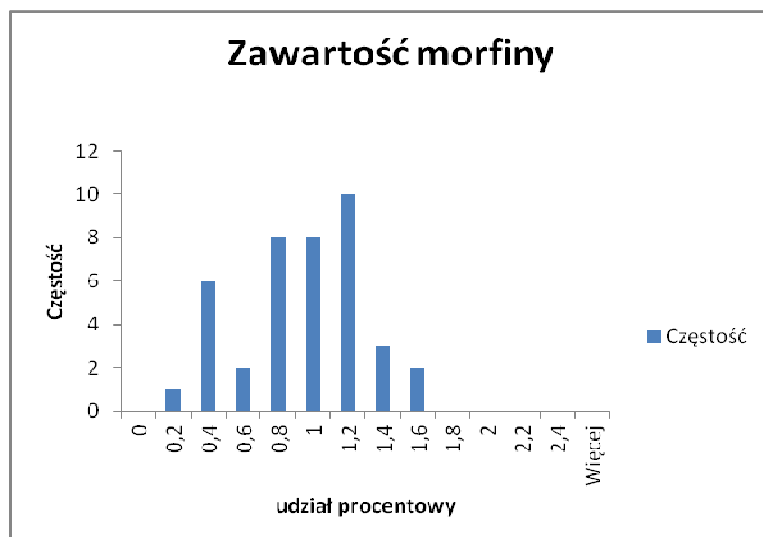






Zakres zmienności poszczególnych składników

Składnik	Zakres zmienności		Jedn.
	minimum	maximum	
kw. Palmitynowy	3,3	5,8	%
kw. Stearynowy	0,1	3,3	%
kw. Oleinowy	24,6	71,8	%
kw.linolowy	11,6	27	%
kw. Linolenowy	5,3	12,8	%
kw. Eikozenowy	0,8	17,1	%
kw. Erukowy	0,0	30	%
Glukonapina	0,2	7,3	uM/g
Glukobrassicapina	0,1	2,0	uM/g
Progoitryna	1,5	19,3	uM/g
Napoleiferyna	0,1	0,9	uM/g
Glukobrassycyna	0,1	0,9	uM/g
4OH-glukobrassycyna	1,1	9,5	uM/g
Suma glukozyzolanów alkenowych	0,2	27,9	uM/g
Suma glukozyzolanów	2,4	31,4	uM/g



Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 55.

Tytuł projektu: Opracowanie markerów molekularnych sprzężonych z ważnymi cechami użytkowymi roślin oleistych oraz badanie zmienności genetycznej różnych populacji za pomocą markerów molekularnych.

Kierownik projektu: prof. dr hab. I. Bartkowiak-Broda

Zadanie 1. Ocena zróżnicowania genetycznego w obrębie rodzaju *Brassica* za pomocą markerów molekularnych typu AFLP.

Celem podjętych badań jest ocena zróżnicowania genetycznego umożliwiającego utworzenie odrębnych pul genetycznych. Badania obejmowały linie hodowlane i materiały kolekcyjne rzepaku służące do hodowli zarówno odmian populacyjnych jak i odmian mieszańcowych rzepaku ozimego w oparciu o system CMS *ogura*.

Materiałem do badań było 191 linii rzepaku ozimego, które otrzymano do analiz w latach 2008, 2009, 2010 i 2011.

Analizy wykonano metodą AFLP wg metody opracowanej przez Vos'a i in. (1995). 191 linii rzepaku ozimego analizowano za pomocą dwóch starterów AFLP nieznakowanych fluorescencyjnie: E-AGG : M-CAC i E-AGG : M-CAG; których produkty amplifikacji rozdzielano na 13,35% żelu poliakrylamidowym oraz dziewięciu kombinacji starterów, w których wszystkie startery typu *EcoRI* (E) były znakowane fluorescencyjnie. Zastosowano następujące kombinacje starterów: E-ACC NED: M-CAC, E-ACC NED: M-CTC, E-ACT FAM: M-CTC, E-AGG JOE: M-CAT, E-AGG JOE: M-CTA, E-AGG JOE: M-CTC, E-ACA FAM: M-CAT, E-AAC NED: M-CAC (AFLP[®] Amplification Core Mix Module, Applied Biosystem). Produkty reakcji poddano elektroforezie w aparacie ABI PRISM 3130XL, w kapilarach o długości 36 cm, polimerze POP7, stosując filtr G5 (NED, FAM0) lub F (JOE) i standardowy moduł elektroforezy FragmentAnalysis_36_POP7.

Dystans genetyczny (DG) badanych obiektów oszacowano stosując miarę Nei i Li (1979), korzystając z pakietu statystycznego PHYLIP 3,5, a obraz graficzny otrzymano stosując program STATISTICA.

Na podstawie badań wszystkimi – 11 kombinacjami starterów typu AFLP otrzymano 442 produkty amplifikacji, w tym 365 polimorficznych. Jeden starter generował średnio 36,5 markera. Liczba polimorficznych fragmentów DNA dla pojedynczego startera wahała się od 22 do 52. W reakcji ze starterem E-ACC : M-CAG (E3M3) otrzymano największą liczbę polimorficznych fragmentów DNA – 52 oraz najwyższy poziom polimorfizmu – 100%. Poziom polimorfizmu dla poszczególnych kombinacji starterów wyniósł średnio 81,51%.

Jeden ze starterów znakowanych fluorescencyjnie E-ACA FAM: M-CAT nie różnicował analizowanych genotypów.

Wartości dystansu genetycznego wyniosły od 0.09 do 0.52. Najniższą wartość dystansu genetycznego otrzymano dla genotypów DG 25/08 i DG26/08 – 0.09, a najwyższą dla genotypów DG30/10 i DG 33/08 – 0,52.

Dendrogram utworzony na podstawie 365 markerów AFLP podzielił badane genotypy na trzy zasadnicze grupy.

Zadanie 2. Badanie za pomocą markerów molekularnych frekwencji występowania genu restorera *Rfo* w populacjach rzepaku o zróżnicowanych cechach jakościowych

Analizowano występowanie markerów genetycznych dla komponentów mieszańców F1 systemu CMS *ogura*. Męsko-sterylną cytoplazmę typu *ogura* oraz gen restorer *Rfo* identyfikowano przy użyciu analizy ‘multipleks PCR’ (PCR wielokrotny), wykorzystując w jednej amplifikacji PCR trzy pary starterów specyficznych dla markerów SCAR, odpowiednio – dla genu restorera *Rfo*, CMS *ogura*, z włączeniem kontroli wewnętrznej - dla zachowawczej sekwencji kodującej genu konstytutywnego aktyny7 *B. napus* (Mikołajczyk i wsp., 2010). Materiał roślinny stanowiły linie rodzicielskie mieszańców F1, linie restorery z genem *Rfo* oraz linie posiadające męsko-sterylną cytoplazmę typu *ogura*. Łącznie przeanalizowano 592 genotypy. Genomowy DNA z badanych linii izolowano z liści metodą ekstrakcji buforem CTAB (Doyle i Doyle, 1990). Wszystkie otrzymane próby DNA charakteryzowały się wysoką jakością. Jednak, w przypadku analiz rutynowych na dużą skalę staje się to czynnikiem ograniczającym, ponieważ w ciągu dnia można otrzymać 24 próby DNA, natomiast przeanalizować markerami można przynajmniej 80 prób. Aby zwiększyć przepustowość izolacji DNA, zastosowano wypożyczoną stację do homogenizacji tkanek FastDNA firmy MPBio.

Ponadto, we współpracy z dr M. Dabert z Pracowni Technik Biologii Molekularnej Wydziału Biologii UAM w Poznaniu opracowano nowy test - ‘multipleks fluorescencyjny’. Celem była jednoczesna identyfikacja markerów genetycznych dla systemu CMS *ogura* oraz alleli desaturazy *FAD3* (Mikołajczyk i wsp., 2010) w rekombinantach niskolinolenowych mutantów rzepaku ozimego. W opracowanej metodzie, jednocześnie identyfikowane są markery dla systemu CMS *ogura* oraz dla kontroli wewnętrznej – fragmentu genu *aktyny7 B. napus*, a także dla alleli *FAD3* (Mikołajczyk i wsp., w druku). W pierwszym etapie, równolegle prowadzone są: amplifikacja PCR z zastosowaniem nowych par znakowanych fluorescencyjnie starterów (system CMS *ogura* i kontrola wewnętrzna) oraz analiza dla alleli *FAD3*. Następnie, wszystkie produkty rozdzielane są na jednej kapilarze i odczytywane automatycznie. Materiał roślinny wykorzystany do opracowania testu stanowiły formy rodzicielskie: linie restorery z genem *Rfo* i linie CMS *ogura* oraz linie niskolinolenowego mutantu M681, jak również: rekombinanty otrzymane w wyniku krzyżowań - linii *Rfo* z liniami M681, linii CMS z liniami M681 oraz mieszańce F1 otrzymane w wyniku krzyżowania zrekombinowanych komponentów. Opracowana metoda umożliwia precyzyjną identyfikację niskolinolenowych mutantów posiadających gen restorer *Rfo*, jak również męsko-sterylną cytoplazmę typu *ogura*. Ponadto, zwiększona została efektywność prowadzonych analiz poprzez obniżenie kosztów, skrócenie czasu i eliminację ewentualnych błędów spowodowanych prowadzeniem obu analiz w różnym czasie i miejscu. Metoda ta będzie dalej stosowana w programach hodowli mieszańcowej i rekombinacyjnej rzepaku.

Zadanie 3. Opracowanie warunków reakcji dla markera specyficznego dla genu warunkującego zawartość kwasu oleinowego w nasionach rzepaku

W Oddziale IHAR-PIB w Poznaniu wytworzono dwa mutanty rzepaku o wysokiej zawartości kwasu oleinowego w nasionach (M10453, HOR3 i M10464, HOR4). Zespół badawczy z INRA w Le Rheu we Francji określił sekwencje genu *fad2* mutantów i form dzikich. Wyniki tych prac objęte są europejskim patentem. W oparciu o poznane sekwencje

opracowano trzy różne markery dla tych mutacji: marker dominujący specyficzny dla mutantu HOR3 (H3Dom – 428pz), marker dominujący specyficzny dla mutantu HOR4 (H4Dom – 506pz) oraz uniwersalny marker kodominujący (H3H4CoDom). Potwierdzono użyteczność markerów dominujących dla wykrywania obecności zmutowanych form genu *fad2*, jednak istniała potrzeba dalszego dopracowania warunków reakcji PCR.

W tym celu w bieżącym roku sprawozdawczym badano DNA dla zestawu 24 linii rzepaku. Wśród badanych linii znalazły się: wyjściowa forma ze zmutowanym genem *fad3* (M681) – z genem *fad2* w formie dzikiej bez mutacji; wyjściowe formy ze zmutowanym genem *fad2* (M10453, HOR3 i M10464, HOR4); wysokooleinowe linie wsobne uzyskane z krzyżowań pomiędzy opisanymi formami zmutowanymi, a różnymi odmianami „00”; wysokooleinowe rekombinanty z krzyżowań pomiędzy odmianami „00”, a odmianą Contact (inne źródło cechy wysokiej zawartości kwasu oleinowego); odmiana Monolit – jako kontrola bez mutacji genu *fad2*; linie pokolenia BC₄ z krzyżowań różnych linii CMS *ogura* z różnymi zapylaczami stanowiącymi opisane formy zmutowane. Wymienione linie analizowano za pomocą markerów dominujących (H3Dom i H4Dom), stosując różne stężenia jonów magnezu (Mg²⁺) oraz dwie różne temperatury przyłączania starterów (T_a) (tab. 1). Przeprowadzone testy pozwoliły na wybór optymalnych warunków reakcji, pozwalających w sposób maksymalnie wyraźny odróżnić formy z allelem zmutowanym od form bez takiego allela (tab. 2).

Tabela 1. Testowane markery i parametry reakcji PCR.

Marker H3Dom		Marker H4Dom			
T _a	Stęż. Mg ²⁺	T _a	Stęż. Mg ²⁺	T _a	Stęż. Mg ²⁺
60°C	1,90mM	60°C	1,50mM	65°C	1,25mM
60°C	1,50mM	60°C	1,25mM	65°C	1,10mM
60°C	1,25mM	60°C	1,00mM	65°C	1,00mM
60°C	1,00mM	60°C	0,90mM	65°C	0,90mM
60°C	0,70mM	60°C	0,80mM	65°C	0,80mM
		60°C	0,70mM		

Tabela 2. Oracowane optymalne warunki reakcji PCR dla testowanych markerów.

Marker	Optymalna temperatura przyłączania starterów (T _a)	Optymalne stężenie jonów magnezu (Mg ²⁺)
H3Dom	60°C	1,00mM – 1,50mM
H4Dom	60°C	0,90mM – 1,00mM
	65°C	1,25mM

Jednocześnie stwierdzono, że przy wykorzystaniu opracowanych warunków reakcji, wśród 24 linii rzepaku o różnym pochodzeniu zidentyfikowano w sposób prawidłowy 6 linii posiadających allel genu *fad2* typu HOR3 oraz 7 linii posiadających allel genu *fad2* typu HOR4. Należy też zaznaczyć, że komercyjne wykorzystanie opracowanych markerów dla tworzenia nowych odmian wiąże się z koniecznością uregulowania opłat licencyjnych za ich stosowanie.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 56.

Tytuł projektu: Zastosowanie krzyżowań oddalonych w obrębie plemina *Brassicaceae* do badań nad odpornością na patogeny pochodzenia grzybowego.

Kierownik projektu: dr hab. M. Starzycki

Zakres prac realizowanych w danym roku obejmował:

- Otrzymywanie mieszańców międzygatunkowych techniką *in vitro* poprzez:
 - ✓ krzyżowanie spokrewnionych gatunków z plemienia *Brassicaceae*,
 - ✓ izolowanie *in vitro* zarodków mieszańcowych,
 - ✓ klonowanie *in vitro* pokolenia F1 mieszańców międzygatunkowych.
- Prowadzenie badań nad odpornością mieszańców międzygatunkowych z plemienia *Brassicaceae* w warunkach polowych na porażenie powodowane przez grzyby z rodzaju *Leptosphaeria* sp.
- Izolowanie patotypów *Leptosphaeria* spp. niezbędnych do przeprowadzania testów odpornościowych.
- Testowanie w warunkach polowych odporności na grzyby z rodzaju *Leptosphaeria* sp. rodów hodowlanych rzepaku ozimego (w doświadczeniach DW1, DW2).
- Wykonanie wstępnych testów odporności roślin z plemienia *Brassicaceae* na kiłę kapuścianą (*Plasmodiophora brassicae*) w warunkach *in vitro* i *in vivo*.

Omówienie wykonanych prac i uzyskanych wyników:

Otrzymywanie mieszańców międzygatunkowych:

W Pracowni Metod Hodowli Odpornościowej IHAR PIB w Poznaniu od szeregu lat wykonywane są prace związane z mieszańcami międzygatunkowymi w obrębie plemienia *Brassicaceae* (komponenty do krzyżowań: *B. campestris*, *B. oleracea* – odmiany botaniczne, *B. taurica*, *B. cretica*, a także *B. juncea* i *B. carinata*). Badania te mają na celu wytworzenie nowych genotypów *Brassicaceae* o podwyższonej odporności na patogeny pochodzenia grzybowego. Komponentami rodzicielskimi użytymi do krzyżowań międzygatunkowych w 2011r. były 52 formy powyższych gatunków, dla których komponentami ojcowskimi w większości przypadków były klonowane rośliny rzepaku *B. napus* L. charakteryzujące się podwyższoną, sprawdzoną w warunkach polowych odpornością na patogeny z rodzaju *Leptosphaeria* spp. W obrębie powyższych form wykonano łącznie ponad 78 krzyżowań z których wypreparowano 166 żywych zarodków. Obecnie rozklonowano 84 nowe genotypy w warunkach *in vitro*. W obrębie nowych przekrzyżowań międzygatunkowych otrzymano rośliny z następujących kombinacji: CMSogu PN 1398/09 x *B. campestris* – 84 zarodki oraz kombinacji: *B. napus* x *B. campestris* – 34 zarodki 82 zarodki.

Technika otrzymania zarodków mieszańcowych z plemienia *Brassicaceae* polegała na: Przygotowaniu do kwitnienia roślin matecznych i ojcowskich - 420 roślin w komorach jaryzacyjnych. Następnie na zapyłaniu wybranych roślin do krzyżowania międzygatunkowego, preparowaniu (po 3 lub 4 tygodniach) i nakładaniu zarodków na pożywkę agarową B₅, a następnie ukorzenianiu ich w kulturach hydroponicznych. Klonowano także *in vitro* pokolenia F1 najważniejszych mieszańców międzygatunkowych z kombinacji dla których nie prowadzi się hodowli komponentów rodzicielskich. Po testach odpornościowych na patogeny grzybowe z rodzaju *Leptosphaeria* (w 2011 roku), do dalszych krzyżowań międzygatunkowych wyselekcjonowano kolejne odporne gatunki z plemienia *Brassicaceae*: *B. oleracea*, *B. nigra*, *B. juncea*, *B. cretica*, *B. taurica*. Dołączono także nowe komponenty krzyżówkowe w obrębie *B. oleracea* (łącznie 45 roślin): *B. oleracea* jarmuż x *B. taurica*; *B. oleracea* kapusta biała x *B. oleracea* kapusta brukselska; *B. taurica* x *B. cretica*; *B. oleracea* kapusta brukselska x *B. cretica*; *B. oleracea* jarmuż x *B. cretica*.

Prowadzenie badań nad odpornością mieszańców międzygatunkowych z plemienia *Brassicaceae* w warunkach polowych na porażenie powodowane przez grzyby z rodzaju *Leptosphaeria* spp.:

W warunkach polowych Małyszyna i Borowa 2010/2011 założono doświadczenia z formami alloplazmatycznymi. Obiektami były pojedynki selekcjonowane na porażenie przez *Leptosphaeria* spp. Pod koniec wegetacji oceniano 40 roślin z poletka wyliczając wg skali indeks porażenia (IP):

0 – brak porażenia, 1 – średnie porażenie, 2 – silne porażenie. W Małyszynie otrzymano wyniki po inokulacji mieszaniną agresywnych patotypów *Leptosphaeria* spp. i uszeregowano je na podstawie testu Duncan'a na poziomie $\alpha=0,05$ NIR = 2,400449E-02. Najodporniejsze były: 38 B.t x B.n. (304 TP) IP=0,01; 301 x 303TP/06 p.(Choryń x Bn)xCalifor.xBn IP=0,1; 300/06 p.(Choryń x Bn) x Lisek BC3 IP=0,2; 405/08 53 Bru Bn Bn IP=0,4; 297/06 p.(Jar x Bn) x Californium IP=0,4; 301 x Digger/06 (Choryń x Bn)xCalif BC3 IP=0,4; 414/08 24 Tau x Bn IP=0,4; 413/08 10 Tau IP=0,4. Także w Borowie wyniki dla form alloplazmatycznych uszeregowano dla grup jednorodnych na podstawie testu Duncan'a (na poziomie $\alpha=0,05$ NIR=0,0694567). Wyniki otrzymano po naturalnej infekcji *Leptosphaeria* spp. Najodporniejsze były: 300/06 (Choryń x Bn) x Lisek BC3 IP=0,1; 414/08 24 Tau x Bn IP=0,1; 264/3 x Castille/06 (B.t x Bn) BC4 IP=0,2; 264/3x Castille/06 (B.t x Bn) BC4 IP=0,2; 301 x 303TP/06 (Choryń x Bn)xCalifor.xBn IP=0,2. W wyniku przeprowadzonych doświadczeń nad odpornością nowych genotypów rzepaku z cytoplazmami kapust, stwierdzono na podstawie indeksu porażenia, wysoki poziom ich odporności (IP w najlepszych kombinacjach wynosił 0,01). Równocześnie odnotowano brak istotnych różnic wyników porażenia roślin inokulowanych do naturalnie zainfekowanych (test t-Studenta; 25 obiektów, wariancja 0,000719, df 23, P(T<=t) jednostronny 0,5, P(T<=t) dwustronny 1

Izolowanie patotypów *Leptosphaeria* spp. niezbędnych do przeprowadzenia testów odpornościowych:

W 2011r. po zbiorze rzepaku wyizolowano z łodyg **67 izolatów z Bąkowa, 66 z Borowa i 11 z Małyszyna**. Izolaty określonych gatunków grzybów *Leptosphaeria* spp. (*L. maculans* i *L. biglobosa*) po rozpoznaniu ich patogeniczności, zostaną włączone do zestawu testowego złożonego z mieszaniny wybranych patotypów.

Testowanie w warunkach polowych odporności rodów hodowlanych rzepaku ozimego na grzyby z rodzaju *Leptosphaeria* spp. (w doświadczeniach DW1 i DW2):

Łącznie w 3 miejscowościach oceniono 13,5 tys. roślin rzepaku na porażenie powodowane przez *Leptosphaeria* spp. w doświadczeniu DW1 i DW2. Wybrano obiekty wykazujące podwyższony poziom odporności (DW1): Małyszyn -MA-245 IP=0,03, MA-242 IP=0,02, BO1143/08 IP=0,01, Borowo - MA 242 IP=0,00, CASOAR IP=0,01, BO 886/08 IP=0,01, Bąków - MA 244 IP=0,00, CHAGALL IP=0,02, MA 247 IP=0,02. Podwyższony poziom odporności (DW2): Małyszyn - WH 01-09.276 IP=0,00, MR 3254 IP=0,01, MR 2974 IP=0,01, Borowo - WH 01-09.276 IP=0,00, MR 3153 IP= 0,00, CASOAR IP= 0,00, Bąków-MR 2811 IP=0,01, CASOAR IP=0,03, VISBY IP= 0,02. Wyniki oszacowano statystycznie na podstawie testu Duncan'a na poziomie $\alpha=0,05$. Najodporniejsze i najwyżej plonujące z rodów zostaną użyte jako komponenty ojcowskie w programie badań nad mieszańcami międzygatunkowymi.

Wykonanie wstępnych testów (oraz oceny) odporności roślin z plemienia *Brassicaceae* na kiłę kapuścianą (*Plasmodiophora brassicae*) w warunkach *in vitro* i *in vivo*:

W warunkach polowych Bąkowa, Borowa i Małyszyna po zbiorze rzepaku z doświadczeń oraz pól produkcyjnych wykopano ok. 4000 łodyg razem z korzeniami i nie stwierdzono żadnego porażenia powodowanego przez *Plasmodiophora brassicae*. Wykonano także wstępne próby w warunkach *in vitro* atestacji odporności roślin z plemienia *Brassicaceae* na kiłę kapuścianą. Do inokulacji wybrano następujące gatunki: *B. napus* Tosca, *B. napus* Monolit, *B. napus* Mendel, *B. napus* Granat, *B. napus* SB1, *B. napus* Visby, *B. napus* MS8AW, *B. carinata* AW, *B. campestris* ssp. *pekinensis*, *Brassica campestris* ssp. *trilocularis*, *B. rapa* Lennox, *B. napus* Tekila zaprawiana, PR45 D04 zaprawiana, PR46 W31 zaprawiana, PR46 W31 nie zaprawiona. Badania są obecnie prowadzone wspólnie z IGR PAN w Poznaniu (testy glebowe), a spodziewane wyniki porażenia i ich odczytanie nastąpi w roku 2012.

Najważniejsze osiągnięcia:

- W obrębie krzyżowań międzygatunkowych wykonano 7 udanych (łącznie ponad 78) z których wypreparowano do warunków *in vitro* 166 zarodków.
- Uzyskano po raz pierwszy nowe mieszańce międzygatunkowe rzepaku CMS z *B. campestris*, a także nowe genotypy po krzyżowaniach w obrębie kapust - *Brassica oleracea*.
- Testowano odporność w doświadczeniach: z formami alloplazmatycznymi (5,5 tys.) oraz DW1 i DW2 (13,5 tys.). Oceniono ponad 19 tys. roślin na porażenie przez *Leptosphaeria* spp.
i na podstawie otrzymanych wyników wybrano najodporniejsze.
- W badaniach po raz pierwszy zastosowano nową metodę *in vitro* atestacji odporności roślin z płemienia *Brassicaceae* na kiłę kapuścianą.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 57.

Tytuł projektu: Poszerzanie puli genowej rzepaku ozimego poprzez resyntezę z homozygotycznych gatunków podstawowych.

Kierownik projektu: dr hab. T. Cegielska-Taras prof. nadzw. IHAR-PIB

Rzepak (*Brassica napus* L.), posiadający genom AACC (2n=38), jest naturalnym amfidiploidem, który powstał w wyniku spontanicznych krzyżowań pomiędzy diploidalnymi gatunkami *Brassica rapa* (2n=20, genom AA) i *Brassica oleracea* (2n=18, genom CC). Geograficzne ograniczenie uprawy rzepaku połączone z intensywną hodowlą jakościową (odmiany podwójnie ulepszone, 00), spowodowały znaczne zawężenie puli genetycznej tego gatunku. Natomiast oba gatunki podstawowe: *Brassica rapa* and *Brassica oleracea* są wysoce polimorficzne, dlatego mogą być źródłem genetycznej zmienności i mogą być wykorzystywane dla dalszego ulepszania rzepaku poprzez odległe krzyżowania (resyntezę). Jedną z najczęściej wykorzystywanych metod resyntezy rzepaku jest krzyżowanie wybranych podgatunków *Brassica rapa* i *Brassica oleracea* i uzyskanie roślin poprzez kultury *in vitro* izolowanych zarodków we wczesnym stadium ich rozwoju.

Pierwsze rośliny rzepaku resyntetyzowanego (RS) otrzymano w wyniku krzyżowania kapusty chińskiej i jarmużu (*Brassica rapa* ssp. *chinensis* var. *chinensis* i *Brassica oleracea* ssp. *acephala* var. *sabellica*). W Pracowni Heterozji wykorzystano je jako zapyłacz do krzyżowań z liniami DH z genem restorerem. Otrzymane nasiona z mieszańców F₁ analizowano pod względem składu kwasów tłuszczowych i zawartości glukozyolanów. Do dalszych badań wybrano trzy mieszańce: 1202/3 x RS 2=12r, 1215/4 x RS 2=17r, 1229.2xRS 3=29r. Do krzyżowań użyto dwóch linii RS i trzech linii DH z genem restorerem. Były to mieszańce o dobrze wykształconych nasionach oraz o obniżonej zawartości kwasu erukowego i glukozyolanów. Po potwierdzeniu w tych mieszańcach obecności genu restorera metodą izoenzymatyczną, w Pracowni Heterozji, rośliny z tych trzech form poddano jaryzacji. Po tym okresie rośliny rozwijały się w fitotronie oraz były dawcami mikrospor w procesie androgenyzy *in vitro* w kulturze izolowanych mikrospor. Z mieszańca 12r otrzymano 414 androgenicznych roślin, z mieszańca 17r - 395 roślin androgenicznych, a z mieszańca 29r otrzymano 246. W Pracowni Heterozji wszystkie rośliny badano pod kątem obecności markera genu restorera przy pomocy analizy izoenzymatycznej PGI. Obecność genu restorera wykazano u 30,7% roślin z mieszańca 12r, 40,3% roślin androgenicznych z mieszańca 17r oraz 32,1 % roślin androgenicznych z mieszańca 29r (tabela 2). Wyselekcjonowane rośliny poddano badaniu ploidalności przy pomocy cytometru przepływowego, oznaczając ilość jądrowego DNA. Z mieszańca 12r 49,6% roślin było podwojonymi haploidami, z mieszańca 17r - 46,1% a z mieszańca 29r - 48,0%. Haploidom podwajano liczbę chromosomów, poprzez zanurzanie korzeni młodych roślin w roztworze

0,05% kolchicyny. Wszystkie rośliny uzyskane z trzech mieszańców po okresie jarowizacji rozwijają się w szklarni

W 2011 roku wykonano nowe krzyżowania *Brassica rapa* x *Brassica oleracea*, w których wykorzystano dwie odmiany rzepiku jarego zeroerukowego Kova i Skye oraz jarmuż. Uzyskano 10 roślin rzepaku RS poprzez kultury *in vitro* zarodków we wczesnej fazie ich rozwoju.

Tabela 2

Liczba roślin androgenicznych, roślin z genem restorerem oraz procent podwojonych haploidów rzepaku ozimego

Dawca mikrospor mieszańca F ₁	Liczba uzyskanych androgenicznych roślin	Rośliny z genem restorerem		Podwojone haploidy
		%	liczba	
12r	414	30,7	127	46,9
17r	395	40,3	159	46,1
29r	246	32,1	79	48,0
ogółem	1055		365	

Tabela 3

Liczba uzyskanych nowych roślin rzepaku resyntetyzowanego

Krzyżowanie <i>Brassica rapa</i> x <i>Brassica oleracea</i>	Liczba zapylnych słupków	Liczba wyłożonych, powiększonych załączków	Liczba uzyskanych roślin
rzepik jary odm. Kova x jarmuż	107	115	7
rzepik jary odm. Skye x jarmuż	122	75	3

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 58.

Tytuł projektu: Wyodrębnienie genotypów rzepaku ozimego o zwiększonych zdolnościach adaptacyjnych do różnych warunków agroklimatycznych przy zastosowaniu analizy interakcji środowiskowo-genotypowej oraz analizy ogólnej i specyficznej zdolności kombinacyjnej genotypów.

Kierownik projektu: mgr M. Ogrodowczyk

Celem badań było wyodrębnienie spośród zróżnicowanych pod względem cech fenotypowych linii i mieszańców rzepaku ozimego, genotypów o zwiększonych zdolnościach adaptacyjnych do różnych warunków agroklimatycznych.

Szczegółowej analizie poddano cztery zestawy linii rzepaku ozimego i zrestorowanych mieszańców F₁ ocenionych w różnych środowiskach. Każde z doświadczeń polowych z wybranymi liniami oraz dwoma wzorcami — Casoar i Chagall założono w pięciu miejscowościach w układzie bloków niekompletnych, w trzech powtórzeniach i wykonano pomiary określonych cech jakościowych i ilościowych. Kolejnym etapem było wykonanie analizy statystycznej z uwzględnieniem interakcji genotypowo-środowiskowej i wyodrębnienie genotypów do dalszych badań.

Warunki meteorologiczne występujące w okresie wegetacji rzepaku w stacjach, w których prowadzone były badania przedstawiono w tabeli podając miesięczne dane o temperaturze powietrza (temperaturę minimalną i maksymalną) oraz miesięczne sumy opadów.

Wykonano charakterystyki linii biorących udział w czterech doświadczeniach — każde przeprowadzone w pięciu miejscowościach. Tabele zawierają informacje na temat plonowania badanych linii, bonitacyjną ocenę stanu roślin wiosną, wczesności kwitnienia (na podstawie liczby dni od początku roku do początku kwitnienia) i końca kwitnienia oraz wysokość roślin. Dla każdego doświadczenia wykonano pojedyncze analizy wariancji, a następnie syntezę — ogólną analizę wariancji.

Na podstawie ogólnej analizy wariancji określono zmienność genotypów, zmienność środowisk oraz testowano interakcję genotypów ze środowiskiem.

W celu porównania uzyskanych wyników wartości badanych cech wyrażono także w % dwóch wzorców Casoar i Chagall biorących udział we wszystkich doświadczeniach.

Przeprowadzone analizy statystyczne uwzględniające interakcję genotypowo-środowiskową pozwoliły na ocenę stabilności i zdolności adaptacyjnych genotypów biorących udział w doświadczeniach. Reakcja fenotypowa roślin na zmianę środowiska nie jest jednakowa dla wszystkich genotypów, w konsekwencji różnice obserwowane między porównywanymi liniami zależą od środowiska, w którym to porównanie ma miejsce. Szczegółowa analiza testowania linii rzepaku ozimego i mieszańców F_1 i ich interakcji ze środowiskami objętymi doświadczeniami dostarcza pełniejszych informacji o genotypach. Dobrze ilustrują to również wykonane rysunki, na których przedstawione są proste regresji interakcyjnych genotypów względem środowiska. Na podstawie tych prostych regresji można wskazać genotypy, które uzyskując wysokie przeciętne plony są równocześnie dobrze plonującymi we wszystkich środowiskach — są genotypami stabilnymi, ich plonowanie w małym stopniu zależy od zmiany warunków środowiska.

Analizie poddano również biorące udział we wszystkich doświadczeniach jako wzorce odmianę Casoar i odmianę mieszańcową Chagall.

Wykonane pomiary cech jakościowych i ilościowych posłużyły również do klasyfikacji genotypów badanych w każdym z doświadczeń w sensie oceny stopnia ich podobieństwa. Za miarę określającą podobieństwo pary obiektów została przyjęta odległość Mahalanobisa, stosowana w przypadku, gdy obiekty określane są kilkoma zmiennymi tworzącymi przestrzeń wielowymiarową. Przez normalizację zmienne doprowadzono do wzajemnej porównywalności, następnie dla genotypów każdego doświadczenia wyznaczone zostały macierze, których elementy są wartościami odległości Mahalanobisa każdej pary obiektów. Stanowią one podstawę do wykonania dendrogramów przy zastosowaniu analizy skupień, metodą Warda. Im bliżej siebie są położone analizowane genotypy, tym większe jest ich podobieństwo. Uzyskane wyniki przedstawiono w postaci dendrogramów, ilustrujących struktury analizowanych doświadczeń pod względem podobieństwa fenotypowego obiektów (dla analizowanych cech). Dendrogramy można wykorzystać przy doborze nowych rekombinantów o największym dystansie fenotypowym do dalszych badań.

Przedstawione badania pokazują, że niezbędne jest prowadzenie doświadczenia w wielu miejscowościach/środowiskach dla ekspresji wszystkich genów danego rodu/mieszańca decydujących o plonie i zdolnościach adaptacyjnych do środowiska.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 62.

Tytuł projektu: Identyfikacja źródeł genetycznych form ziemniaka jadalnego przydatnego do upraw ekologicznych i niskonakładowych.

Kierownik projektu: dr hab. B. Flis prof. nadzw. IHAR-PIB

W produkcji rolniczej coraz większego znaczenia nabierają proekologiczne sposoby gospodarowania, których celem jest uzyskanie optymalnych plonów o dobrej jakości przy użyciu technologii chroniących środowisko. Podstawowymi cechami odmiany ziemniaka przydatnej do takich upraw jest zdolność do wczesnego gromadzenia plonu, odporność na zarazę ziemniaka oraz odporność na wirusy (zwłaszcza wirusa Y ziemniaka - PVY). Cechy te powinny łączyć się z cechami ziemniaka jadalnego.

Celem tematu jest analizowanie puli genetycznej ziemniaka pod kątem cech warunkujących przydatność do upraw ekologicznych. W szczególności analizowane będą związki genetyczne pomiędzy odpornością (na zarazę naci/bulw i/lub na PVY), a wybranymi cechami użytkowymi (długością wegetacji, plonem bulw i cechami ich jakości). Ponadto szacowane będzie zróżnicowanie genetyczne puli ziemniaka tetraploidalnego pod względem cech jakościowych.

Materiał i metody

Materiał. Analiza związków pomiędzy odpornością na zarazę ziemniaka a wybranymi cechami użytkowymi prowadzona jest na danych z niselekcjonowanych potomstw (łącznie 253 klonów z 4 kombinacji krzyżówkowych). Pochodzą one z krzyżowania form odpornych na zarazę ziemniaka. Ich odporność warunkowana jest dwoma różnymi genami, a mianowicie genem *Rpi-phu1* z *Solanum phureja* oraz genem *R9* z *S. demissum*. Formy rodzicielskie z tymi genami krzyżowano z odmianami o różnym poziomie odporności horyzontalnej. Klony potomne prowadzono w polu (poletka 7 krzakowe) wraz z odmianami wzorcowymi (Miłek, Satina, Tajfun).

Ponadto w doświadczeniu polowym oceniano cechy użytkowe 97 klonów pochodzących z krzyżowań odmian jadalnych z formami własnymi charakteryzującymi się dobrym poziomem cech jakościowych i odpornością na patogeny (wirusy lub zarazę ziemniaka). Klony te porównywano do 3 odmian wzorcowych (Jelly, Tajfun, Zeus).

Dla badania zdolności kombinacyjnej odmian/klonów jadalnych przydatnych do upraw ekologicznych i niskonakładowych pod względem wybranych cech jakościowych przeprowadzono doświadczenia polowe. Doświadczenia zostały założone w układzie losowanych bloków w trzech różnych środowiskach glebowo-klimatycznych. Łącznie w doświadczeniach oceniano klony potomne z 70 kombinacji pochodzących z krzyżowań przeprowadzonych w układzie czynnikowym, w których użyto 21 odmian i 8 rodów hodowlanych.

Ocena odporności. Odporność badanych materiałów na wirusy Y ziemniaka (PVY) i M ziemniaka (PVM) oceniono przeprowadzając sztuczną inokulację 5 roślin z każdego klonu. Zakażenia dokonywano szczepiąc rośliny ziemniaka infekcyjnymi zrazami tytoniu (z izolatem PVY^N Wi) lub pomidora (z izolatem PVM-U). Po zakażeniu opisano objawy porażenia oraz oceniono obecność wirusa w roślinie stosując test ELISA. Za odporne na PVY uznano rośliny bez objawów (lub z drobnymi lokalnymi objawami w postaci nekroz), w których wirus nie był wykrywany. W przypadku zakażenia PVM, formy odporne reagowały nekrozą pędu wyrastającego pod miejscem szczepienia (top-nekroza), przy czym wirus nie był wykrywany w innych częściach rośliny.

Odporność na zarazę ziemniaka oceniano za pomocą testu listkowego (5 listków × 2 powtórzenia × 2 terminy; łącznie 20 listków z każdego klonu). Do inokulacji użyto wysoko wirulentnego izolatu *Phytophthora infestans* MP324.

Oceniane cechy. W sezonie wegetacyjnym przeprowadzane są opisy wzrostu roślin, ich zdrowotności i kwitnienia (barwa kwiatów i obfitość kwitnienia). Po zbiorze bulw oceniany jest ogólny i handlowy plon bulw, morfologia bulw (wielkość, regularność zarysu, głębokość oczek, typ kształtu) oraz zawartość skrobi. Przeprowadzana jest ocena właściwości kulinarnych (smakowitość, ciemnienie, barwa oraz jednorodność miąższu) oraz występowanie wad miąższu.

W doświadczeniach założonych dla oceny zdolności kombinacyjnej szacowano dla każdego klonu plon i wielkość bulw, głębokość oczek, stan skórki oraz obecność wad zewnętrznych. Na zbiorczych próbach bulw (z każdej kombinacji i każdego powtórzenia) przeprowadzono oceny ciemnienia miąższu bulw (enzymatycznego i bulw gotowanych) oraz występowania wad wewnętrznych bulw.

Wyniki

Analiza związków pomiędzy cechami jakości, a odporności na patogeny. W celu określenia genetycznych związków odporności ziemniaka na patogeny z cechami agronomicznymi w 2011 r. oceniano cechy użytkowe i długość wegetacji klonów pochodzących z 4 kombinacji krzyżówkowych łączących odporność na zarazę ziemniaka warunkowaną genem *Rpi-phu1* lub *R9* z cechami użytkowymi i odpornością na wirusy. W sezonie wegetacyjnym przeprowadzono standardowy opis roślin oraz przeprowadzono ocenę odporności na zarazę ziemniaka w teście listkowym. Po zbiorze oceniono plon i morfologię bulw oraz zawartość skrobi.

W kombinacjach, w których źródłem odporności jest gen *Rpi-phu1* stwierdzono rozkłady odporności charakterystyczne dla segregującego genu dominującego, a korelacja pomiędzy ocenami z 2010 i 2011 była bardzo wysoka ($r=0,91$, $P<0,01$). W przypadku potomstwa, w którym segreguje gen odporności *R9*, korelacja ocen pomiędzy obydwoma latami badań była znacznie niższa ($r=0,66$, $P<0,01$). Rozkład ocen odporności wskazywał na „załamanie się” odporności warunkowanej tym genem. W efekcie średnia ocena wszystkich ocenianych klonów w 2011 r. była wyraźnie niższa od średniej uzyskanej w 2010.

Na podstawie uzyskanych wyników można wnioskować o braku wpływu wysokiego poziomu odporności na zarazę ziemniaka warunkowanej genami *Rpi-phu1* lub *R9* na najważniejsze cechy użytkowe klonów w badanym materiale. Wskazują na to niskie współczynniki korelacji pomiędzy ocenami odporności otrzymanymi w teście listkowym i poziomem wybranych cech użytkowych. Dotyczy to zarówno korelacji otrzymanych dla potomstw, w których segreguje gen *Rpi-phu1* jak i gen *R9*. Wskazuje to na możliwość uzyskania form odpornych o dobrym plonie, poprawnej morfologii bulw i krótszym okresie wegetacji.

Stwierdzono też zupełny brak związku pomiędzy odpornością w teście listkowym, a cechami kulinarnymi (smakowość i ciemnienie bulw gotowanych).

Poszukiwanie form łączących cechy ziemniaka jadalnego z wysokim poziomem odporności na patogeny. W celu wyróżnienia form łączących cechy ziemniaka jadalnego z wysokim poziomem odporności na patogeny w 2011 roku w doświadczeniu polowym oceniano 97 klonów i porównywano je do odmian: Jelly, Tajfun i Zeus. Klony plonowały na poziomie odmian wzorcowych, ale przewyższały je pod względem udziału plonu handlowego w plonie ogólnym. Oceny morfologii bulw były bardzo zbliżone dla obydwu grup.

Przeprowadzono ocenę odporności klonów na PVY i PVM. Zidentyfikowano 42 klony odporne na PVY oraz 19 odpornych na PVM, a wśród nich są formy o dobrym poziomie cech użytkowych.

W polu prowadzono także grupę materiałów młodszych, tj. linie siewkowe pochodzące z krzyżowań wykonanych w 2009 r. W krzyżowaniach tych wykorzystano odporne na zarazę ziemniaka odmiany Batja i Sarpo Mira oraz klon własny z genem *Rpi-phu1*. W materiale tym selekcionowane będą klony do doświadczenia polowego.

Ocena zdolności kombinacyjnej odmian jadalnych przydatnych do upraw ekologicznych i niskonakładowych. Przeprowadzono trzy doświadczenia polowe, opisano zestawy cech i przygotowano dane do obliczeń.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 63.

Tytuł projektu: Opracowanie metod wyróżniania form ziemniaka łączących różne sposoby użytkowania z odpornością na ważne gospodarczo patogeny ziemniaka.

Kierownik projektu: prof. dr hab. E. Zimnoch-Guzowska

Zadanie 1. Opracowanie metod uzyskiwania form o złożonej odporności na patotypy mątwika ziemniaczanego *Globodera rostochiensis* i mątwika agresywnego *Globodera pallida*

Zakres prac obejmował ocenę kolekcji 25 odmian mątwikoodpornych pod kątem cech agronomicznych oraz porównanie ich pod tym względem do wybranych form podatnych na mątwiki. Ocena plonowania (plon ogólny, plon handlowy, procentowa zawartość oraz plon skrobi) i morfologii bulw (wielkość, regularność zarysu, kształt i głębokość oczek) wykazała, że odmiany odporne charakteryzują się większymi bulwami oraz większym procentowym udziałem plonu handlowego w plonie ogólnym. Wartości pozostałych cech były porównywalne.

Ponadto do kolekcji odmian mątwikoodpornych sprowadzono sześć nowych odmian odpornych na patotypy Pa2 i Pa3 mątwika agresywnego (*Globodera pallida*): Amanda, Bronka, Estima, Hunter, Dali oraz Etoile du Leon. Odmiany te posiadają w pochodzeniu klon *Solanum tuberosum* ssp. *andigena* CPC 2802, w którym zidentyfikowano QTL *GpaIV^{adg}* nadający odporność na dwa patotypy mątwika agresywnego. Rozpoczęto również prace nad sprawdzeniem przydatności do selekcji markera molekularnego 57R genu *H1*, nadającego odporność na *Globodera rostochiensis* patotypy Ro1 i Ro4. Pod kątem posiadania tego markera przebadano część odmian zgromadzonych w kolekcji.

Zadanie 2. Charakterystyka tworzonej puli form odpornych na mątwiki.

Od jesieni 2010 oceniano cechy użytkowe pięciu populacji siewkowych prowadzonych w polu w 2010 r. Oceniano takie cechy jak: liczba bulw, plon bulw, ciężar bulwy oraz morfologia bulw (wielkość, regularność zarysu, kształt, głębokość oczek). Materiały te charakteryzowały się dość drobnymi bulwami o zadowalających cechach morfologicznych. W 2011 roku do doświadczenia polowego wybrano 34 z 53 zebranych klonów. Obecnie trwa charakterystyka agronomiczna tych materiałów.

W doświadczeniu polowym 2011 oceniano również cechy agronomiczne klonów pochodzących z krzyżowań 2008. Materiały prowadzono wariantowo po zakażeniu i bez zakażenia wirusem Y ziemniaka. Selekcję w obu grupach wykonano pod kątem posiadania markera genu *H1*, warunkującego odporność na *G. rostochiensis* patotypy Ro1 i Ro4. Wybrano również klony wolne od wirusa Y ziemniaka. W obu wariantach występują klony o dobrym poziomie cech agronomicznych. Nie wykazano istotnych różnic w cechach agronomicznych dla obu wariantów selekcyjnych.

Zadanie 3. Identyfikacja form 2x i 4x ziemniaka wykazujących odporność na wirus M ziemniaka (PVM) i wirus S ziemniaka (PVS).

W Pracowni Genetyki realizowano następujące zadania częściowe: (1) Identyfikowano obecność markera DNA sprzężonego z genem odporności *Gm* (2) Kontynuowano ocenę odporności na PVM klonów 2x (3) Prowadzono w szklarni rozmnożenia dwóch populacji typu *Ns x Ns*. Określono obecność markera DNA sprzężonego z genem *Ns* dla klonów z tych populacji.

W Pracowni Wirusologii realizowano następujące cele: (1) Wyróżniano formy odporne na PVM z genami odporności *Gm* lub *Rm* w puli form tetraploidalnych (2) Poszukiwano formy odporne na PVS w odmianach i rodach z hodowli materiałów wyjściowych.

W 14 klonach 2x odpornych na PVM nie stwierdzono obecności markera sprzężonego z genem *Gm* odporności na PVM. Na podstawie biologicznych ocen – zakażenia mechanicznego oraz dwóch cykli zakażenia przez szczepienie wyselekcjonowano 10 klonów

ziemniaka 2x odpornych na PVM. Wyselekcjonowano kolejną grupę klonów 2x, które po pierwszym cyklu zakażenia przez szczepienie lub po zakażeniu mechanicznym nie poraziły się PVM. Rozmnażano w szklarni dwie populacje ziemniaka 2x typu *Ns x Ns*, przeprowadzono obserwacje kwitnienia i płodności pyłku, zabezpieczono bulwy ze wszystkich genotypów. W tych populacjach zastosowano marker Ns811 sprzężony z genem odporności. W jednej populacji ze 114 testowanych form wyróżniono 57 genotypów posiadających marker, w drugiej ze 101 form wyróżniono 51 genotypów z markerem Ns811. Oceniono reakcję 16 odmian ziemniaka na inokulację silnym szczepem PVM (Uran) wg następującej procedury:

Wirus M ziemniaka jest utrzymywany i namnażany w roślinach pomidora *Lycopersicon esculentum* odm. Najwcześniejszy. Nasiona wysiewa się do kuwet z torfem. Po ok. 14 dniach rośliny pikuje się do doniczek o średnicy 8 cm. Rośliny będące w fazie 3-4 liści zakaża się silnym szczepem wirusa z odmiany Uran. Po 3-4 tygodniach od inokulacji sprawdza się infekcyjność źródła testem ELISA. Inokulum do zakażeń uzyskuje się przez roztarcie liści pomidora z buforem fosforanowym $0,057\text{mol}(\text{K}_2\text{HPO}_4)\text{dm}^{-3}$.

Bulwy do zakażeń podkiewkuje się na świetle, z każdego rodu przeznacza się 10 wycinków z kiełkami. Po ok. 15 dniach od wysadzenia wycinków (rośliny ziemniaka w stadium 5-6 liści) liście pociera się gąbką namoczoną w inokulum. Zakażenie powtarza się po 2 dniach. Inokulowane rośliny rosną w szklarni 4-7 dni.

W celu uzyskania charakterystycznych objawów infekcji silnym szczepem PVM, rośliny inokulowane wysadza się w polu. Po okresie wegetacji zbiera się plon każdej rośliny osobno i przechowuje w temp. nie przekraczającej 8°C , następnie przeprowadza się próbę oczkową, gdzie ocenia się nasilenie wtórnych objawów chorobowych (w 3 i 5 tygodniu od wysadzenia) oraz wykonuje się test ELISA celem wykrycia i oszacowania koncentracji wirusa.

Wśród ocenianych odmian wyróżniono odmiany reagujące słabo, średnio i silnie na PVM:

objawy słabe: przejaśnienie nerwów liści, słaba deformacja górnych liści, słabe pomarszczenie blaszek liściowych, dosyć bujny wzrost roślin (odmiany Aruba, Jutrzenka, Wiarus, Roko i Zagłoba)

objawy średnie: zdrobnienie i stulanie górnych liści, silne pomarszczenie liści i pofalowanie brzegów, czasem niewielkie zahamowanie wzrostu (odmiany Bosman, Ewelina, Flaming, Soplica, Tetyda)

objawy silne: silne zwijanie i deformacja liści, nekrozy na nerwach i ogonkach liściowych oraz na łodygach, deformacja i skarlenie roślin.

Dwie z ocenianych odmian: Ametyst i Finezja nie uległy porażeniu PVM, co wskazuje na obecność w nich genu *Rm*. Obecność tego genu została potwierdzona w obu odmianach poprzez szczepienie, w obu zaobserwowano nekrotyczną reakcję na infekcję świadcząca o obecności genu *Rm*.

Oceniono w teście szczepieniowym podatność na zakażenie PVM 11 klonów 4x ziemniaka, które w 2010 r. nie uległy porażeniu PVM po inokulacji mechanicznej. Silną reakcję nadwrażliwości na porażenie PVM, wskazującą na obecność genu *Rm*, wykazało sześć klonów oraz odmiana wzorcowa Korona. Rośliny jednego z klonów nie uległy porażeniu PVM, z równoczesnym brakiem objawów reakcji nadwrażliwości.

Obecności PVS nie stwierdzono w próbkach sadzeniaków 47 odmian polskich i 26 odmian zagranicznych, natomiast porażone częściowo było 11 odmian. Oceniono w teście szczepieniowym podatność na zakażenie PVS dwóch klonów 4x ziemniaka, które w 2010 r. wyróżniły się odpornością na PVS i w których wykryto obecność genu *Ns*, a także podatność pięciu odmian ziemniaka, w tym dwóch pochodzących od rodów z genem *Ns*. Obydwa klony wykazały silną reakcję nadwrażliwości na porażenie PVS, potwierdzającą obecność genu *Ns*. Silną reakcję nadwrażliwości na PVS, sugerującą obecność genu *Ns*, wykazały również

rośliny odm. Tajfun. Porażenia PVS nie wykryto w roślinach odm. Sonda, nie stwierdzono również reakcji nadwrażliwości.

Zadanie 4. Doskonalenie metod identyfikacji puli genetycznej ziemniaka obejmującej odporność na różne patotypy raka *Synchytrium endobioticum*.

Zakres prac obejmował: (1) Opracowanie zestawu odmian/rodów ziemniaka identyfikujących i różnicujących patotypy *S. endobioticum*. (2) Wyróżnienie puli genotypów ziemniaka z odmian i klonów 2x odpornych kompleksowo na najważniejsze, wirulentne patotypy raka ziemniaka. (3) Ocenę odporności odmian ziemniaka na nowo wykryty patotyp 39(P1) grzyba *S. endobioticum*.

Po 4 latach badań znaleziono większość odmian, które spełniają kryteria odmian różnicujących i są jednocześnie alternatywą dla testerów klonów i starych odmian ziemniaka opisanych w Protokole diagnostycznym PM 7/28. Odmiany te są ogólnodostępne, oraz pozwalają odróżnicować patotypy z regionu EPPO i z Polski, włączając w to najnowszy patotyp 39(P1). Zostały przetestowane metodą Glynne-Lemmerzahla. Uwzględniają również uzgodnienia wynikające z harmonizacji metody oceny identyfikacji patotypów *S. endobioticum* w UE. Potwierdzono odporność najnowszych odmian ziemniaka na wirulentne patotypy raka. Stwierdzono, że odm. jadalne Legenda i Gawin są odporne również na patotyp 39(P1).

Zadanie 5. Doskonalenie metod identyfikacji puli genetycznej ziemniaka obejmujących odporność na różne patotypy mątwików atakujących ziemniak.

Założeniem zadania dotyczącego identyfikacji puli genetycznej ziemniaka w kontekście odporności na mątwika ziemniaczanego i mątwika agresywnego jest prowadzenie oceny opisanej w nowym projekcie Dyrektywy Unii Europejskiej (EPPO Dokument, No. 92/3784) związanej z weryfikacją stopnia odporności puli tetraploidalnej europejskich i krajowych odmian ziemniaka w cyklu badań 3 i 4 letnich. Badania te są prowadzone na 5 patotypach *Globodera rostochiensis* Ro1-Ro5 i 3 patotypach *Globodera pallida* Pa1-Pa3. Na podstawie uzyskanych wyników opracowywany jest zestaw genotypów ziemniaka różnicujący patotypy mątwika ziemniaczanego i agresywnego.

Badania stopnia porażenia linii hodowlanych przeprowadzone na łącznie 2371 liniach hodowlanych wykazały podatność na mątwika ziemniaczanego Ro1 u 578 linii w stopniu od 1 do 4. Odmianami reagującymi skrajnie na porażenie patotypami Ro1-Ro4 były odmiany Medea i Irys. Weryfikacja stopnia odporności 14 polskich odmian ziemniaka wpisanych do Krajowego Rejestru Odmian na patotyp Ro1 mątwika ziemniaczanego potwierdziła odporność w stopniu 9 odmian Cyprian, Cekin, Irga, Ibis, Gawin, Gustaw, Zeus, Jasia, Skawa, Rudawa.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 64

Tytuł projektu: Opracowanie nowych metod hodowlanych dla ziemniaka: zastosowanie markerów molekularnych w selekcji oraz uzyskiwanie form typu dupleks pod względem wybranych cech odporności.

Kierownik projektu: dr hab. B. Flis prof. nadzw. IHAR-PIB

Celem projektu jest próba oceny skuteczności markerów molekularnych oraz określenie etapu w procesie hodowli, w którym zastosowanie markera będzie najbardziej efektywne. Projekt jest związany także z problematyką usprawniania selekcji. Usprawnienie takie można osiągnąć stosując markery molekularne oraz zwiększając frekwencję pożądanych genotypów w potomstwach. W ramach projektu prowadzone są prace związane z otrzymaniem najbardziej przydatnych w hodowli markerów genu odporności na mątwika ziemniaczanego (patotyp Ro1). Planuje się także tworzenie form typu dupleks pod względem

wybranych genów odporności, co prowadzi do istotnego zwiększenia frekwencji form odpornych w ich potomstwach.

Jednym z celów projektu jest także molekularne charakteryzowanie form ziemniaka pochodzących z różnych pul genetycznych. W szczególności dotyczy to charakteryzowania klonów ziemniaka pod względem krańcowej odporności na wirus Y ziemniaka (PVY), która została wprowadzona do różnych pul hodowlanych.

Materiał i metody

W pracach nad prowadzeniem efektywnej selekcji z użyciem markerów oraz w pracach związanych z identyfikacją form dupleks wykorzystywane są nioselekcjonowane potomstwa (łącznie 532 klony z 5 kombinacji krzyżówkowych). Pochodzą one z krzyżowań z udziałem form charakteryzujących się krańcową odpornością na PVY (z genem *Ry fsto*) i odpornością na patotyp Ro1 mątwika ziemniaczanego (*Globodera rostochiensis*) warunkowaną genem *H1*. W innych pracach wykorzystuje się rody własne i odmiany. Materiały prowadzone są w polu na poletkach 7 lub 15 krzakowych lub w warunkach szklarniowych. Wraz z klonami z nioselekcjonowanych potomstw wysadzany jest zestaw odmian wzorcowych (Miłek, Satina, Tajfun).

Do oceny odporności na wirus PVY stosuje się mechaniczne zakażenie młodych roślin ziemniaka. Rośliny ziemniaka zakażane są sokiem z roślin tytoniu z izolatem PVY^{NTN}. Ponadto stosuje się inokulację za pomocą szczepienia roślin ziemniaka infekcyjnymi zrazami tytoniu (z izolatem PVY^{NWi}). Opisywane są objawy porażenia, a obecność wirusa jest weryfikowana testem ELISA.

Testy odporności na mątwika ziemniaczanego przeprowadzane są w warunkach laboratoryjnych (zakażanie 2 lub 5 bulw).

Molekularna charakterystyka badanego materiału opiera się na wykorzystaniu techniki PCR z użyciem markerów związanych z poszukiwanymi genami odporności. Do detekcji genu *Ry fsto* stosowany jest marker GP122. Jest to marker typu CAPS, który po reakcji PCR wymaga trawienia uzyskanego produktu przy użyciu enzymu restrykcyjnego *EcoRV*. Dla klonów posiadających gen *Ry fsto* uzyskuje się produkt o długości 564bp.

Natomiast do detekcji genu *H1* stosuje się marker TG689 typu SCAR – niewymagający trawienia. Dla klonów posiadających gen *H1* marker ten generuje produkt o długości 141bp.

Wyniki

Metody masowej selekcji form ziemniaka w oparciu o markery molekularne. W 2011 r. przeprowadzono doświadczenie polowe w celu oceny cech użytkowych genotypów z 3 populacji pochodzących z krzyżowań mających na celu uzyskanie form ziemniaka charakteryzujących się krańcową odpornością na wirus Y ziemniaka (PVY) oraz odpornością na patotyp Ro1 mątwika ziemniaczanego. W sezonie wegetacyjnym przeprowadzono standardowy opis roślin (bujność wzrostu, zdrowotność, barwę kwiatów i obfitość kwitnienia). Po zbiorze oceniono: plon bulw, udział plonu handlowego, zawartość skrobi oraz morfologię bulw i nasilenie występowania wad (wzrostu wtórnego, kiełkowania, pękania).

W poprzednich sezonach zakończono identyfikację markerów GP122 (dla genu *Ry fsto*) i TG689 (dla genu *H1*) oraz wstępne fenotypowe oceny odporności na PVY (na podstawie mechanicznej inokulacji) i patotyp Ro1 mątwika ziemniaczanego (na podstawie ocen laboratoryjnych). Na tej podstawie oceniono częstość rekombinantów tj. form, dla których stwierdzono niezgodność oceny fenotypowej z oceną na podstawie genotypu (obecnością markera). Stwierdzono, że częstości te są niewielkie i nie przekraczają 8% w przypadku odporności na PVY i markera GP122 oraz 9% w przypadku odporności na mątwika ziemniaczanego i markera TG689.

Na podstawie dwuletnich danych stwierdzono, że klony potomne, w których zidentyfikowano marker GP122 charakteryzują się wyższym plonem bulw, często bardziej bujnym wzrostem i lepszą zdrowotnością roślin w porównaniu z formami potomnymi bez markera.

W niektórych z trzech potomstw, klony z markerem GP122 charakteryzowały większymi bulwami lub większym nasileniem wad bulw.

W przypadku porównań przeprowadzonych dla markera TG689 stwierdzono mniej wyraźne zależności: jedynie w niektórych kombinacjach klony ze zidentyfikowanym markerem charakteryzowały się wyższym plonem bulw, lepszą regularnością zarysu, zdrowotnością roślin w polu lub większym nasileniem wad bulw.

Identyfikacja form dupleks. W ramach prac dotyczących identyfikacji form dupleks wytypowano formy rodzicielskie typu simpleks wraz z potomstwami, wśród których potencjalnie będzie można zidentyfikować za pomocą techniki Real Time PCR formy typu dupleks. Przeprowadzono fenotypową ocenę odporności na patotyp Ro1 mątwika ziemniaczanego dla klonów z dwóch wybranych nieselekcjonowanych potomstw.

Wybrano dwa markery genu *HI*, które zostaną zsekwencjonowane w celu opracowania odpowiednich techniki Real Time PCR starterów. Planuje się optymalizację reakcji w dwóch wariantach: z użyciem barwnika SYBR Green oraz ze specjalnie zaprojektowanymi w tym celu sondami TaqMan.

Prace koncentrują się nad poszukiwaniem form dupleks genu *HI*, ale w badanych potomstwach można oczekiwać również segregacji genu *Ry fsto*, warunkującego krańcową odporność na wirus Y ziemniaka.

Markery molekularne do identyfikacji odporności na patotyp Ro1 mątwika ziemniaczanego.

W ramach poszukiwań markerów przydatnych do selekcji form odpornych na patotyp Ro1 mątwika ziemniaczanego rozpoczęto prace z markerem 57R genu *HI*. Marker ten generuje prążek o długości 450 bp dla form odpornych oraz prążek o długości 1 500 bp dla wszystkich genotypów, dzięki czemu nie wymaga stosowania dodatkowych markerów, jako wewnętrznej kontroli reakcji PCR. Zoptymalizowano parametry reakcji oraz przetestowano 48 odmian odpornych. Marker wykryto w 37 badanych odmianach.

Ponadto przeprowadzono porównanie fenotypowej oceny odporności na mątwika ziemniaczanego z obecnością markera molekularnego TG689 genu *HI* w grupie materiałów hodowlanych. Marker został zidentyfikowany wyłącznie w formach odpornych, co potwierdza jego użyteczność w selekcji.

Identyfikacja wybranych genów odporności markerami molekularnymi w różnych pulach materiałów.

Oceniono pulę własnych genotypów różniących się pochodzeniem i przydatnością pod kątem obecności markera genu krańcowej odporności na PVY. Przeprowadzono fenotypową ocenę odporności (mechaniczna inokulacja roślin izolatem PVY^{NTN}). Stwierdzono, że marker GP122 był wykrywany wyłącznie w formach charakteryzujących się odpornością, tj. na zakażonych rośliny nie występowały objawy porażenia lub drobne, lokalne nekrozy, a wirus nie był w nich wykrywany (wartości absorbancji w teście ELISA na poziomie wartości z roślin kontrolnych niezakażanych).

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 65.

Tytuł projektu: Opracowanie procedur i wytworzenie materiałów diagnostycznych do wykrywania *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus*.

Kierownik projektu: dr W. Przewodowski

W 2011r. w ramach tematu kontynuowano prace nad uzyskaniem materiałów diagnostycznych do wykrywania i identyfikacji bakterii *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (Cms). W tym celu zoptymalizowano uzyskiwanie przeciwciał anty-Cms skierowanych na komórki bakterii o różnym stopniu mukoidalności. Podjęto również badania zmierzające do uzyskania immunoglobulin skierowanych na szczepy średnio- i silnie mukoidalne poprzez immunizację królików odpowiednio przygotowanym antygenem oraz

wprowadzenie dodatkowego etapu oczyszczania na złożu z antygenem zawierającym komponenty śluzu bakteryjnego. Uzyskane immunoglobuliny stosowano do powlekania matrycy do immunokoncentracji i przyżyciowej izolacji bakterii Cms oraz w konstrukcji testów paskowych, których skuteczność w obecności tkanki bulw ziemniaka przebadano przez trzy niezależne laboratoria zewnętrzne. Podjęte działania pozwoliły na poprawę jakości opracowanego testu. Jego czułość w obecności komponentów tkanki i soku bulw różnych odmian ziemniaka (w tym odmian skrobiowych) oceniano w trzech niezależnych laboratoriach porównując wyniki z wynikami klasycznego testu immunofluorescencyjnego (IFAS) wykonanego na tych samych próbach.

Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że zastosowanie testów paskowych do identyfikacji bakterii poprawia znacząco obiektywność oceny wyniku. Ponadto w porównaniu z testem IFAS, test paskowy wykazał się większą czułością i powtarzalnością oraz nie wymagał stosowania dodatkowych, drogich urządzeń. Przy pomocy testu paskowego uzyskano podobne wyniki zarówno dla odmian jadalnych, jak i skrobiowych. Stąd wniosek, iż obecność składników soku oraz skrobi nie przeszkadza w prawidłowej diagnostyce badanych prób pod kątem obecności bakterii Cms. Wyniki korelowały z wynikami uzyskanymi w próbie ślepej stanowiącej próby z bakteriami bez soku. Wyniki uzyskane natomiast klasycznym testem IFAS zależały w dużym stopniu od doświadczenia osoby oceniającej próbę i charakteryzowały się często brakiem powtarzalności nie odwzorowując ilościowej koncentracji bakterii w badanych próbach. Szczególnie problemy w przypadku testu IFAS zaobserwowano przy pracy z odmianami skrobiowymi, gdzie albo liczba komórek bakterii była bardzo zaniżona w stosunku do kontroli pozytywnej, albo uzyskiwano wynik negatywny w próbach o koncentracji powyżej progu czułości metody IFAS.

Kontynuowano również badania nad możliwościami rozprzestrzeniania i przeżycia gatunku bakterii Cms w środowisku glebowym o różnym składzie mechanicznym, przy różnej wilgotności i temperaturze. Otrzymane wyniki badań wskazują, iż czynniki takie, jak skład gleby, poziom wilgotności i temperatury mają istotny wpływ na badany szczep bakterii Cms, który w środowisku glebowym wykazał się ograniczoną przeżywalnością. Najdłuższy czas przeżycia bakterii Cms wyniósł około 60 dni w środowisku piasku słabo gliniastego lekkiego, gliniastego lekkiego i gliny lekkiej, o niskiej wilgotności i temperaturze poniżej 0°C. Natomiast szybszą redukcję liczebności bakterii Cms zaobserwowano w wyższej temperaturze w środowisku gliny lekkiej niż w piasku słabogliniastym i gliniastym lekkim.

Rozpoczęto również badania mające na celu opracowanie nowego sposobu utylizacji odpadów roślin ziemniaka potencjalnie porażonych bakteriami Cms w procesie fermentacji beztlenowej. W tym celu wykonano i badano działanie modelowych, laboratoryjnych bioreaktorów odwzorowujących bioreaktory fermentacji metanowej stosowane w biogazowniach.

Istotnym zadaniem wykonanym w ramach tematu było zbadanie wpływu różnych frakcji białkowych wyizolowanych ze ścian komórkowych ziemniaka na wzrost bakterii Cms. Zaobserwowano znaczne zahamowanie wzrostu komórek bakteryjnych przy stosowaniu preparatu białkowego uzyskanego bezpośrednio po izolacji ze ścian komórkowych ziemniaka oraz frakcji białek o charakterze zasadowym. Nieznaczne działanie antydeobnowkowe stwierdzono dla frakcji białek uzyskanych po izolacji na kwaśnym polisacharydzie, natomiast nie stwierdzono negatywnego wpływu na żywotność badanych szczepów Cms w obecności frakcji białek o charakterze kwaśnym. Wbrew przewidywaniom najbardziej podatnymi na oddziaływanie protein okazały się szczepy średnio- i silnie mukoidalne. Dla opracowania niekosztownego, pro-ekologicznego środka dezynfekcyjnego pozwalającego eliminować bakterie *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* z zainfekowanych tkanek ziemniaków, badano skuteczność roztworu zawierającego nanocząsteczki srebra koloidalnego. Wstępne badania w roku poprzednim wykazały toksyczny wpływ koloidu srebra na żywotność bakterii

Cms znajdujących się na różnych powierzchniach skażonych bakteriami Cms. Wykazano zarówno działanie doraźne, jak i prewencyjne opracowanego preparatu.

W bieżącym roku potwierdzono skuteczność koloidu srebra w zwalczaniu bakterii Cms w obecności tkanki ziemniaka. W prawidłowej realizacji doświadczenia pomocna okazała się opracowana metoda przyżyciowej, specyficznej izolacji bakterii Cms z badanych prób przy zastosowaniu złoża magnetycznego z przeciwciałami anti-Cms opracowanymi w Pracowni Diagnostyki Molekularnej i Biochemii w Boninie.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 66.

Tytuł projektu: Opracowanie procedury wykrywania infekcji wirusowych w bulwach ziemniaka bezpośrednio po zbiorze lub w stanie spoczynku.

Kierownik projektu: dr A. Przewodowska

W badaniach mających na celu wytworzenie materiałów diagnostycznych do wykrywania infekcji wirusowych w roślinach ziemniaka podjęto próbę opracowania procedury izolacji wirusów na drodze chromatografii jonowymiennej. W efekcie poprawy jakości antygeny oraz wydajności jego preparatyki wytworzone przeciwciała i oparte o nie testy diagnostyczne będą charakteryzowały się wysoką czułością i specyficzną detekcji. Wirusem modelowym był wirus PVM ziemniaka. Po rozdziale chromatograficznym obecność wirusa PVM stwierdzono w obu uzyskanych frakcjach (kwaśnej i zasadowej). Zdecydowanie większą ilość frakcji zawierającej wirusa odnotowano w wypływie z kolumny kationowymiennej co świadczy o kwaśnym charakterze białek. Uzyskane wyniki pozwalają na stwierdzenie, że jonowymienna chromatografia membranowa jest obiecującą techniką przygotowania antygenów wirusowych. Krótki czas izolacji i łagodne warunki rozdziału sprawiają, że izolowany wirion nie ulega rozpadowi. W toku dalszych badań optymalizacji wymagają warunki rozdziału i doczyszczania wirusa.

W ubiegłych latach sprawozdawczych opracowano koktajlową wersję testu ELISA, pozwalającą na detekcję PLRV, PVY i PVM w ekstraktach z bulw. Badania porównujące próbę oczkową z testem koktajlowym na bulwach były prowadzone w latach 2008-2010 przez trzy niezależne laboratoria diagnostyczne. W latach 2008-2009 wyniki badań testem koktajlowym na bulwach były w dużym stopniu zgodne z wynikami prób oczkowych. W roku 2010 wyniki te nadal były zgodne w wykrywaniu PLRV, jednak w przypadku wirusów PVM i PVY test koktajl-ELISA na bulwach był mniej skuteczny niż klasyczna próba oczkowa.

Kondycjonowanie bulw w temperaturze pokojowej, opisywane w literaturze, jako zwiększające wykrywalność wirusów nie ma jednoznacznie takiego wpływu w opisanych wynikach badań. W porównaniu z ubiegłym rokiem sprawozdawczym znacznie lepiej wychodzi zgodność pomiędzy testem koktajl-ELISA na bulwach, a próbą oczkową dla wirusa PVM, co jest zgodne z wynikami z lat 2008-2009. Jednocześnie po raz pierwszy wystąpiła znacząca rozbieżność w detekcji PLRV pomiędzy obiema metodami, niekorzystna dla testu na bulwach. W związku z tym, może to być wynik incydentalny. Podobnie jak w roku ubiegłym drastyczna jest rozbieżność pomiędzy testem na bulwach, a próbą oczkową w detekcji PVY. Podsumowując można stwierdzić, że w obecnej postaci test koktajl-ELISA na bulwach nie nadaje się do oceny zdrowotności bulw, głównie z uwagi na znacząco mniejszą niż próba oczkowa wykrywalność wirusa PVY.

W ubiegłych latach realizacji projektu wykazano, że czułość detekcji wirusa PVY przy izolacji RNA izolowanego na krzemionce jest wyższa w porównaniu z innymi metodami pozyskiwania RNA. Wykazano również, że immunopułapkowanie bakterii przy wykorzystaniu przeciwciał poliklonalnych osadzonych na powierzchni probówek do PCR pozwala pominąć etap izolacji RNA, przez co jest metodą szybszą i łatwiejszą w wykonaniu,

ale o nieco niższej czułości. W celu poprawy czułości metody opartej na immunoadsorpcji cząsteczek wirusa, w roku bieżącym, wypróbowano technikę, w której wyłapywanie wirusa ma miejsce w mikroplątce. Równolegle prowadzono reakcję RT-PCR opartą na izolacji RNA na krzemionce tak jak w latach ubiegłych. Czułość testu IC-RT-PCR okazała się nieznacznie niższa, ale nie wymaga etapu izolacji RNA, przez co procedura jest zdecydowanie szybszą i łatwiejszą w wykonaniu.

Celem ostatniego zadania było opracowanie i sprawdzenie przydatności immunochromatograficznego testu paskowego typu Lateral Flow (LF) w szybkiej i skutecznej detekcji wirusów ziemniaka. Do konstrukcji testu paskowego wyselekcjonowano i użyto poliklonalne królicze przeciwciała skierowane na wirus PVM ziemniaka. Wykorzystano je do wytworzenia koniugatu ze złotem koloidalnym oraz powlekano powierzchnię uprzednio wyselekcjonowanych materiałów stanowiących podzespoły opracowywanych testów paskowych. Koloid złota wytworzono i standaryzowano w Pracowni Diagnostyki Molekularnej i Biochemii w Boninie. Następnie dla tak wytworzonego koloidu opracowano system standaryzacji pozwalający uzyskać roztwór charakteryzujący się zawartością jednorodnych i powtarzalnych nanocząsteczek złota o określonej liczebności w mililitrze. Złoto koloidalne charakteryzowano spektrofotometrycznie określając widmo w zakresie długości fal 200–900 nm oraz analizę wielkości i rozkładu nanocząsteczek złota w zawiesinie wodnej na podstawie pomiaru potencjału zeta uzyskanych nanocząsteczek. Po wystandaryzowaniu koloidu złota, nanocząsteczki koloidu koniugowano z przeciwciałami IgG anty-PVM stosując zorientowany sposób immobilizacji przeciwciał.

Oprócz koniugatu złota koloidalnego z IgG, konieczny był dobór odpowiednich materiałów umożliwiających konstrukcję paska testowego i w konsekwencji uzyskanie wizualnego efektu w postaci widocznych nieuzbrojonym okiem prążków świadczących o obecności cząstek wirusa M w badanej próbce. W tym celu przetestowano szereg dostępnych komercyjnie membran nitrocelulozowych i z regenerowanej celulozy dobierając membranę o odpowiedniej porowatości. Dobrano również odpowiednie podłoże do osadzenia koniugatu przeciwciał ze złotem koloidalnym oraz sorbenty pozwalające na podsiąkanie siłami kapilarnymi roztworu przez membranę nitrocelulozową.

Do opracowania prążka kontrolnego użyto przeciwciał drugorzędowych anty IgG anty- PVM, natomiast do konstrukcji prążka testowego i koniugatu IgG-złoto koloidalne użyto przeciwciał skierowanych na wirusa PVM. Na podstawie dobranych materiałów, opracowano test paskowy, którego czułość oceniano stosując do badań liofilizaty liści ziemniaka porażonego wirusem M. Czułość testu badana względem KN pozwalała na detekcję przy 40-krotnym rozcieńczeniu badanych liofilizatów soków ziemniaka porażonych wirusem PVM. Dalszym etapem będzie poprawa jakości i czułości opracowanego testu oraz porównanie z innymi technikami diagnostycznymi stosowanymi powszechnie w diagnostyce wirusa PVM. Podjęte zostaną również próby opracowania pasków testowych Lateral Flow na inne wirusy ziemniaka.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 67.

Tytuł projektu: Opracowanie metod szybkiego rozmnażania genotypów ziemniaka.

Kierownik projektu: inż. D. Sekrecka

Szybkie rozmnażanie (mikrorozmnażanie) jako jedna z metod biotechnologicznych ułatwia przygotowanie materiałów wyjściowych dla dalszej hodowli, zarówno w postaci roślin *in vitro*, minibulw, jak i mikrobulw.

Głównym celem projektu jest opracowanie metody uzyskiwania w szybki i prosty sposób bulw (minibulw i mikrobulw) o tak dużych rozmiarach, by nadawały się one do

bezpośredniego wysadzenia w polu. Zaleca się poszukiwanie systemów produkcji wolnych od hormonów roślinnych, ze względu na możliwość uniknięcia zmian genetycznych w bulwach potomnych, które mogą być wywoływane przez stosowanie tych związków. Prace badawcze prowadzono w 3 zadaniach:

Zadanie 1. Opracowanie i zastosowanie technik *in vitro* dla mikrorozmnażania ziemniaka (Pracownia Zasobów Genowych i Kultur *in vitro* Bonin)

W 2011 roku ocenie poddano 3 genotypy ziemniaka: Ametyst, Gawin i Michalina pod kątem opracowania metod ich szybkiego rozmnażania.

Celem zadania było określenie wpływu zastosowanych technik mikrorozmnażania na wzrost, rozwój i plonowanie ocenianych odmian.

Wiosną 2011 roku podczas mikrorozmnażania roślin *in vitro* przeprowadzono pod osłonami doświadczenie, w którym sprawdzano wpływ gęstości sadzenia roślin na 1 m² na uzyskane plony minibulw. Zastosowano 4 gęstości sadzenia: 24, 36, 48 i 60 roślin *in vitro* na 1 m². Najwyższy współczynnik uzyskano u odmiany Ametyst, niższe – u odmiany Gawin i Michalina. Gęstość sadzenia roślin na 1m² ma istotny wpływ na uzyskane współczynniki rozmnażania. W miarę zwiększania się obsady na 1m² uzyskuje się niższe współczynniki, nawet do 70% (odmiana Ametyst z 9,11 do 3,49).

Mikrotuberyzacja to proces tworzenia bulw ziemniaka w warunkach *in vitro*. Do ich produkcji stosuje się kulturę wyprowadzoną z jednowęzłowych fragmentów roślin, którą poddaje się działaniu chemicznych i fizycznych czynników indukujących tuberyzację. Oprócz składników pożywki warunki świetlne i termiczne odgrywają również istotną rolę w produkcji mikrobulw.

W roku sprawozdawczym przeprowadzono ocenę 3 ww. genotypów pod kątem ich przydatności w produkcji mikrobulw. Do indukcji procesu tuberyzacji zastosowano zwiększoną koncentrację sacharozy (8%) oraz benzylaminopurynę (BAP), kinetynę, węgiel aktywowany i kwas jasmonowy. Rośliny *in vitro* prowadzono w kontrolowanych warunkach w czterech wariantach:

- 3 tygodnie utrzymywane w fitotronie w temperaturze 20⁰C, oświetlenie ok.3000 lux, przy zachowaniu dobowego cyklu dzień/noc (16/8h) → przeniesione do ciemnego pomieszczenia (temp. 18-20⁰C) na okres 9 tygodni;
- 3 dni w fitotronie; warunki j.w.; dzień/noc → przeniesienie kultur do ciemnego pomieszczenia - noc, temperatura 18-20⁰C, 12 tygodni;
- 3 tygodnie w fitotronie dzień/noc, 20⁰C → przeniesienie kultur do ciemnego pomieszczenia – noc, temperatura 8-10⁰C, 9 tygodni;
- 3 dni w fitotronie, temperatura 20-22 ⁰C, oświetlenie ok. 3 tys lux, dobowy cykl dzień/noc (16/8h) następnie przeniesienie do pomieszczenia ciemnego, temperatura 8-10⁰ C, 12 tygodni.

Przeprowadzono ocenę genotypów pod kątem ich przydatności w produkcji mikrobulw – tj. bulw wyprodukowanych w szkle. Pomiędzy odmianami stwierdzono różnice istotne, natomiast rodzaj zastosowanej pożywki jak i warunki utrzymywania kultur *in vitro* nie miały istotnego wpływu na ich produkcję. Najwyższy współczynnik rozmnażania uzyskano dla odmiany Ametyst, natomiast Gawin i Michalina plonowały na podobnym niskim poziomie (współczynnik 0,6).

Uzyskane rok wcześniej mikrobulwy odmian Ametyst, Gawin i Michalina zostały wysadzone do skrzynek zawierających ok. 15 l podłoża kompostowo-torfowego. Zastosowano 3 gęstości sadzenia mikrobulw na 1m², tj. 36, 60 i 120 roślin w sześciu powtórzeniach (cyklach). W miarę zwiększenia obsady roślin na 1 m² zmniejsza się istotnie współczynnik rozmnażania. Zbyt duże zagęszczenie zwiększa konkurencję roślin o składniki pokarmowe oraz o światło, a uzyskane współczynniki rozmnażania są nawet o 50% niższe.

Minibulwy odmian Ametyst, Gawin i Michalina wysadzono w warunkach polowych rozmnożeń w roku 2011. Doświadczenie polowe z wybranymi odmianami założono w układzie bloków losowanych w trzech powtórzeniach. Zastosowano trzy wielkości wysadzanych minibulw:

- minibulwy o średnicy > 3 cm
- minibulwy o średnicy 3-2 cm
- minibulwy o średnicy < 2 cm

Zarówno odmiana, jak i wielkość wysadzonej minibulwy miały istotny wpływ na liczbę wytworzonych bulw z poletka. Najmniej bulw wytworzyła odmiana Michalina, najwięcej odmiana Ametyst, która uzyskała bardzo wysoki współczynnik rozmnażania. W warunkach polowych minibulwy o średnicy poniżej 2 cm dały plon o ok. 23-37 % niższy w porównaniu z minibulwami większymi. Odmiana Michalina zareagowała najwyższym, bo 37-procentowym spadkiem plonu.

Zadanie 2. Badania nad szybkim mnożeniem minibulw z wykorzystaniem technologii hydroponicznej i zbiorem w trakcie wzrostu roślin macecznych (Pracownia Fizjologii Zakładu Agronomii Ziemiaka w Jadwisinie

Opracowano III etap technologii produkcji minibulw uwzględniającej wielokrotne zbiory w trakcie wzrostu roślin macecznych. Projekt realizowano w trzech prototypowych urządzeniach do aeroponicznej uprawy ziemiaka. Instalacja do podawania pożywki w każdym z trzech urządzeń składała się ze zbiornika, pompy pobierającej pożywkę ze zbiornika przez rurociąg ssący, filtra dyskowego oraz instalacji zamgławiającej, znajdującej się w komorze aeroponicznej. Zabezpieczenie pompy przed pracą na sucho stanowił czujnik poziomu pożywki w zbiorniku. Układ zaworów PCV pozwalał manualnie ustawić żądane ciśnienie. Pracą każdego z urządzeń aeroponicznych zarządzały sterowniki czasowe. Program podtrzymywany był zasilaniem z baterii. Dodatkowo zainstalowano system powiadamiania o alarmach.

Materiał nasienny stanowiły mikrobulwy odmian ziemiaka: Owacja (wczesna) i Zebra (średnio wczesna). Minibulwy mnożono również metodą tradycyjną - w substracie glebowym.

W doświadczeniu przeprowadzonym metodą tradycyjną współczynnik rozmnażania był wyższy u odmiany Zebra (12,33) niż u odmiany Owacja (9,92). W doświadczeniu wykorzystującym urządzenie do aeroponicznej uprawy, współczynnik ten u odmiany Zebra wynosił średnio 24,05, a u odmiany Owacja - średnio 12,13. Zróżnicowane proporcje makroskładników w pożywce miały istotny wpływ na wszystkie badane bioparametry odmiany Owacja. Wpływu takiego nie stwierdzono w przypadku odmiany Zebra. Współczynnik rozmnażania badanych odmian ziemiaka uzyskany z roślin rosnących w systemie aeroponicznym, wyrażony w procentach w stosunku do współczynnika uzyskanego z roślin rosnących w substracie glebowym wyniósł u odmiany Owacja średnio 122, a u odmiany Zebra - 195 i był znacznie niższy od spodziewanego. Prawdopodobnie spowodowany był zbyt wczesnym wzbogaceniem pożywek w azot, co wywołało intensywny wzrost części nadziemnej i brak wystarczająco silnej dystrybucji asymilatów do bulw.

Zadanie 3. Adaptacja technik *in vitro* dla mikrorozmnażania wybranych genotypów (Pracownia Zasobów Genowych i Kultur *in vitro* Bonin)

W roku sprawozdawczym za pomocą termoterapii i izolowania merystemów uzyskano zdrowy materiał *in vitro* z 14 genotypów ziemiaka. W doświadczeniu stosowano metodę połączoną: termoterapii z hodowlą tkanek merystematycznych *in vitro*. Do doświadczenia pobrano genotypy ziemiaka w 100% porażone wirusami S, M i Y. Wstępnie materiał został przebadany na obecność bakterii *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* i *Ralstonii solanaceum*. Wykonano 42 testy metodą pośredniej immunofluorescencji z zastosowaniem

przeciwciał poliklonalnych (Cma, Rsol) i monoklonalnych (Cms). Nie stwierdzono obecności bakterii w badanym materiale. Przebadane bulwy wysadzono do doniczek. Po wschodach rośliny były umieszczone w komorach fitotronowych pod światłem jarzeniowym o natężeniu ok. 4,5 tys lux, przy dobowym cyklu dzień/noc 16/8 h i odpowiednio temperaturach 35-37⁰C i 30-33⁰C. Okres działania temperatur był różny od 4 do 8 tygodni. W 3. tygodniu wzrostu, za pomocą elektroforezy powrotnej oraz PCR (reakcja łańcuchowa polimerazy), wykonano 42 testy pod kątem występowania wiroida wrzecionowatości bulw ziemniaka (PSTVd). Badania potwierdziły zdrowotność badanego materiału. Do izolowania merystemów pobrano pąki kątowe i szczytowe roślin, z których następnie izolowano merystemy (0,1-1 mm). Odkazony chloraminą materiał roślinny umieszczano w kropli sterylnej wody na płytce Petriego, a następnie pod mikroskopem, przy pomocy igły preparacyjnej i skalpela, izolowano merystemy. Z każdego genotypu izolowano po trzy wielkości merystemów i umieszczano na pożywce Murashige-Skooga (1962) zestalonej agarem. Probówki z merystemami umieszczono w fitotronie (temperatura 16-20⁰C; dobowy cykl dzień/noc - 16/8h; natężenie światła ok. 3 tys lux). Na podstawie wykonanych badań można stwierdzić, że małe wycinki tkanki izolowanej z pąków kątowych i szczytowych roślin poddanych termoterapii dają większe szanse na uzyskanie zdrowych roślin (60% zdrowych kultur). Największe trudności sprawia wirus S, najczęściej stwierdzany w przebadanych kulturach. Ponowna termoterapia (z roślin *in vitro*) i izolowanie merystemów pozwala na uzyskanie zdrowych kultur. Dla większej pewności każdy genotyp powinien przejść co najmniej 3-krotne badanie testem ELISA potwierdzające jego zdrowotność.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 68.

Tytuł projektu: Wyróżnienie biochemiczno molekularnych wskaźników tolerancyjności genotypów ziemniaka na suszę glebową.

Kierownik projektu: Prof. dr hab. B. Zagdańska

Ziemniak (*Solanum tuberosum* L) jest uznawany za roślinę wrażliwą na niedobory wody w glebie praktycznie w każdej fazie rozwojowej (Schlafleitner i in. 2007). Wystąpienie chociażby niewielkich niedoborów wody w glebie powoduje obniżenie plonu, ponieważ rozwój bulw zależy od ich zaopatrzenia w cukry. Dlatego celem naukowym projektu jest przebadanie, w jakim stopniu wysoka zdolność do tolerowania odwodnienia przez rośliny ziemniaka w fazie gromadzenia plonu powiązana jest z utrzymywaniem potencjału redukcyjnego tkanek oraz zdolnością do utrzymywania stabilnej struktury białek.

W ramach realizowanego tematu w roku 2011 przeprowadzono dwa doświadczenia: polowe oraz wazonowe w hali wegetacyjnej dla jedenastu genotypów ziemniaka. Wśród badanych odmian, jedna odmiana była bardzo wczesna (Lord), jedna wczesna (Michalina), jedna średnio późna (Gustaw) a pozostałe średnio-wczesne (Desiree, Katahdin, Stasia, Legenda, Tajfun, Gawin, Bursztyn i Cekin).

Przy doborze genotypów do badań kierowano się zarówno cechami biologicznymi tzn. określeniem zdolności rośliny do tolerowania odwodnienia, jak i rolniczymi tzn. określeniem spadku plonu bulw i pogorszeniem ich jakości w wyniku zastosowanej suszy w okresie największej wrażliwości ziemniaka na niedobór wody tzn. trzy tygodnie po rozpoczęciu tuberyzacji. Doświadczenie wazonowe prowadzono w naturalnych warunkach temperatury i nasłonecznienia z zachowaniem ochrony przed naturalnymi opadami. Rośliny były podlewane zgodnie z zapotrzebowaniem na wodę, przy przestrzeganiu zasady, że wszystkie rośliny otrzymywały taką samą ilość wody dostosowaną do ich stanu rozwojowego. Wilgotność podłoża była utrzymywana na poziomie ok. 70% pojemności kapilarnej gleby.

Liczba roślin każdej odmiany wynosiła 20, w tym 10 roślin stanowiły rośliny kontrolne z zaopatrzeniem w wodę, pozostałe poddano suszy glebowej poprzez zaprzestanie podlewania wazonów. W trakcie trwania suszy dokonywano pomiarów stanu uwodnienia liści.

Przed rozpoczęciem suszy dokonywano pomiarów destrukcyjnych, aby uchwycić moment rozpoczęcia tuberyzacji i dostosować występowanie suszy do tego samego okresu rozwojowego dla każdej odmiany.

Stan uwodnienia liści oceniano jako względną zawartość wody (RWC) zgodnie ze wzorem:

$$\text{RWC (\%)} = (\text{FM}-\text{DM})/(\text{TM}-\text{DM})$$

gdzie:

FM – świeża masa (fresh mass)

DM – sucha masa (dry mass)

TM – masa liści w pełnym turgorze (turgid mass)

Przeprowadzono ocenę zdolności do unikania i do tolerowania odwodnienia przez wyżej wymienione odmiany ziemniaka, określono występujące zmienności w obrębie badanych odmian pod względem cech pogarszających wygląd (podatność na spękania fizjologiczne, deformacje). Podczas suszy obserwowano stan części nadziemnej rośliny: powierzchnię asymilacyjną, zieloność liści oraz przeprowadzono ocenę wizualną posługując się skalą wędnięcia i regeneracji.

Oceny badanych genotypów roślin ziemniaka dokonano również pod względem produkcji biomasy, skrobi, cukrów redukujących i sacharozy w warunkach suszy glebowej.

Kolejnym etapem była charakterystyka parametrów biochemicznych: przeprowadzono ocenę aktywności enzymów odpowiedzialnych za utrzymanie potencjału redoks rośliny: oksydazy polifenolowej. Dokonano również analizy proteomu roślin ziemniaka celem identyfikacji białek decydujących o odporności lub wrażliwości na odwodnienie.

Dla wszystkich badanych odmian przeprowadzono również doświadczenie polowe, w celu porównania reakcji na nawadnianie badanych odmian w warunkach polowych.

Doświadczenie przeprowadzono metodą rozlosowanych bloków w trzech powtórzeniach na poletkach o powierzchni 22,8 m². W doświadczeniu były dwie kombinacje, pierwszą stanowiły rośliny, które rosły w normalnych warunkach środowiska, wykorzystujące opady, których suma w sezonie wegetacyjnym 2011 wynosiła 413 mm od maja do sierpnia. Drugą kombinację stanowiły rośliny podlewane dodatkową dawką wody przy użyciu nawadniania kroplującego. Dodatkowe nawadnianie kroplujące wynosiło 11,1mm podane w czterech dawkach w czerwcu.

Otrzymane wyniki pozwoliły na sformułowanie następujących wniosków:

- Do odmian najbardziej odpornych na niedobór wody należą: Desiree, Lord i Michalina.
- Zawartość cukrów (sacharozy, glukozy i fruktozy) w bulwach roślin poddanych suszy wydaje się być cechą odmianową, niezwiązaną ze zdolnością roślin do tolerowania odwodnienia.
- Aktywność oksydazy polifenolowej zwiększa się w liściach roślin wrażliwych na odwodnienie. Takiej zależności nie zaobserwowano w przypadku tego enzymu występującego w bulwach.
- Proteom bulw ziemniaka odmiany odpornej na suszę glebową różni się od proteomu odmiany wrażliwej. W bulwach ziemniaka odmiany odpornej na suszę nie zidentyfikowano nowych białek, a tylko zwiększoną ekspresję pięciu białek, natomiast w przypadku odmiany wrażliwej zidentyfikowano cztery nowe białka. Wszystkie zidentyfikowane białka to białka opiekuńcze w stosunku do RNA i innych białek oraz inhibitory proteaz.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 69.

Tytuł projektu: Opracowanie oraz weryfikacja procedur badawczych określających wartość agrotechniczną i użytkową genotypów ziemniaka z uwzględnieniem warunków środowiska, uprawy i przechowywania.

Kierownik projektu: dr W. Nowacki

Prace zrealizowane w projekcie przez IHAR-PIB Oddział w Jadwisinie w roku 2011, miały na celu uzyskanie i zgromadzenie danych eksperymentalnych pozwalających na ocenę zakresu zmienności puli genetycznej materiałów hodowlanych *Solanum tuberosum* oraz dokonanie analizy interakcji genotypowo–środowiskowej wybranych cech tego gatunku. Przedmiotem realizowanych badań były właściwości determinujące wartość agrotechniczną i użytkową ziemniaka w tym również te, które decydują o bezpieczeństwie żywieniowym i paszowym bulw ziemniaka.

Dla spełnienia powyższych zadań przeprowadzone zostały eksperymenty polowe i przechowalnicze oraz badania i oceny laboratoryjne stanowiące następujące zadania badawcze:

- Analiza parametrów rozwoju roślin ziemniaka determinujących plon i jego strukturę.
- Ocena zakresu zmienności uwarunkowanych abiotycznie cech pogarszających wygląd bulw (podatność na spęknięcia fizjologiczne, deformacje, pustowatość, rdzawa plamistość) w puli genetycznej ziemniaka.
- Analiza zależności pomiędzy warunkami środowiska uprawy a genotypem w powstawaniu chorób skórki bulw powodowanych przez: *Rhizoctonia solani*, *Helminthosporium solani*, *Streptomyces ssp.*
- Poszukiwanie genotypów ziemniaka łączących małe wymagania nawozowe oraz niską kumulację azotanów i glikoalkaloidów w bulwach ziemniaka.
- Klasyfikacja genotypów ziemniaka pod względem zdolności do produkcji biomasy, skrobi i jej jakości oraz białka.
- Ocena zmienność parametrów kiełkowania sadzeniaków ziemniaka (długość okresu spoczynku, liczba oczek kiełkujących, intensywność wzrostu kiełków itp.).
- Stabilność cech konsumpcyjno-technologicznych determinowanych genotypowo w okresie przechowywania.
- Określenie trwałości przechowalniczej genotypów ziemniaka w zależności od warunków przechowywania.
- Kwantyfikacja cech określających przydatność odmian ziemniaka do produkcji ekologicznej i niskonakładowej.

Powyższe zadania badawcze dotyczyły łącznie 69 genotypów ziemniaka zgłoszonych przez krajowe jednostki hodowli tego gatunku. Z tej liczby 35 genotypów objęto w bieżącym roku pełnym zakresem badań polowych oraz laboratoryjnej oceny jakości plonu dokonywanej bezpośrednio po zbiorze. Natomiast dla 38 genotypów, uwzględnionych w badaniach polowych w sezonie wegetacyjnym 2010 i przechowanych w okresie przechowalniczym 2010/2011 wykonano badania w zakresie trwałości przechowalniczej, porażenia parchem srebrzystym oraz oceny użytkowo-technologicznej. Ponadto 8 genotypów oceniono w aspekcie ich przydatność do produkcji ekologicznej.

Polowe doświadczenia obserwacyjno-pomiarowe prowadzono w 4 miejscowościach, w różnych warunkach glebowo-klimatycznych kraju. Każdy uwzględniony w badaniach genotyp uczestniczył w doświadczeniu prowadzonym w 2 punktach a wszystkie badania i oceny laboratoryjne uzyskanych plonów zostały wykonane w IHAR-PIB Oddział w Jadwisinie, w Zakładzie Agronomii Ziemniaka oraz w Zakładzie Przechowalnictwa i Przetwórstwa Ziemniaka.

Sezon wegetacji 2011 roku był pod względem układu warunków meteorologicznych średnio korzystnym dla upraw ziemniaka z uwagi na wiosenną suszę i okresowe chłody oraz obfite opady w lipcu i na początku sierpnia. Odnotowano też znaczne, regionalne zróżnicowanie przebiegu pogody. Jednak pomimo nadmiarów opadów, w doświadczeniach, w żadnym z punktów badań nie wystąpiły zjawiska klęskowe (zalania, podtopienia) i zebrane plony były generalnie wysokie.

Wyniki pomiarów i analiz oraz zebrane dane obserwacyjne pozwalają na sformułowanie następujących wniosków:

- Opady znacznie przekraczające zapotrzebowanie ziemniaka na wodę, jakie występowały w niektórych okresach, w poszczególnych punktach badań, w warunkach gleb lekkich, na jakich założono doświadczenia, nie spowodowały widocznych zaburzeń w rozwoju roślin a uzyskane plony były bardzo wysokie – w niektórych sytuacjach przekraczające 70t/ha.
- Odnotowano, podobnie jak w roku ubiegłym, że niektóre z genotypów zakwalifikowanych do grupy wcześniejszych, w warunkach uprawy zachowują się jak kreacje średnio wczesne. Zatem wydaje się zasadnym by nowe genotypy ziemniaka były weryfikowane pod względem tej cechy przed końcowym zakwalifikowaniem ich co do kryterium wczesności.
- W warunkach bardzo dobrego zaopatrzenia w wodę, wszystkie oceniane materiały hodowlane wykazały przynajmniej średni potencjał plonowania.
- Stwierdzono, że znaczna liczba genotypów ze wszystkich grup wczesności charakteryzowała się wysokim udziałem bulw bardzo dużych (o średnicy powyżej 60 mm). Taki, genotypowo uwarunkowany model gromadzenia plonu może być istotnym czynnikiem utrudniającym uzyskanie plonu dobrej jakości handlowej w sytuacji stosowania przyjętych technologii uprawy.
- Zakres zmienności porażenia ospowatością bulw uzyskanych w zbliżonych warunkach uprawy był u nowych genotypów większy niż u odmian zarejestrowanych, natomiast porażenia parchem zwykłym - zbliżony.
- Materiały pochodzące ze zbiorów 2011 charakteryzowało istotne zróżnicowanie odporności na uszkodzenia mechaniczne bulw. Stwierdzono, że we wszystkich grupach wczesności przeważają kreacje o niepożądanym, niskim poziomie tej cechy.
- Materiały pochodzące ze zbiorów 2011 charakteryzowało istotne zróżnicowanie odporności na uszkodzenia mechaniczne bulw. Stwierdzono, że we wszystkich grupach wczesności przeważają kreacje o niepożądanym, niskim poziomie tej cechy.
- Występowanie spękań bulw było przede wszystkim determinowane genetycznie, tylko dla genotypów późniejszych odnotowano także środowiskowe uwarunkowanie występowania tej wady.
- W bieżącym roku w plonach genotypów wszystkich grup wczesności stwierdzono dużo bulw zdeformowanych. Przeprowadzone analizy wykazały istotne genotypowe uwarunkowanie ich występowania tylko dla grupy genotypów średnio wczesnych. Wpływ warunków środowiska uprawy na omawianą cechę jakości nie został udowodniony.
- Genotypy wczesne i średnio wczesne różniły się znacząco pod względem udziału bulw z rdzawą plamistością miąższu i pustowatością. Natomiast istotne oddziaływanie środowiska uprawy na tą cechę stwierdzono tylko w odniesieniu do występowania rdzawej plamistości miąższu.
- Oceniane genotypy charakteryzowały się średnią i niską kumulacją azotanów w bulwach. W odniesieniu do wszystkich badanych genotypów, z wyjątkiem A22 i A23 wykazano zbieżność środowiskową pod względem niskiego poziomu kumulowania azotanów.
- Wyodrębniono genotypy o wysokiej, średniej i niskiej kumulacji glikoalkaloidów w bulwach. Zbieżność środowiskowa, co do niskiej zawartości tego związku dotyczyła

12-stu genotypów (A19, A20, A25, B26, B27, B31, B48, B51, B52, C9, C14, C16) natomiast, co do wysokiej zawartości - jednego genotypu (C19).

- Plony uzyskane w 2011 były średnio o 22% wyższe niż w roku poprzednim, a niektóre z ocenianych genotypów plonowały bardzo wysoko. Uzyskane wyniki wskazują, że wiele z nich poprzez produkcję plonu suchej masy powyżej 13 t·ha⁻¹ i skrobi powyżej 9 t·ha⁻¹ w pełni wykorzystało potencjał plonowania ziemniaka w Polsce. Tym samym stanowią one cenny materiał genetyczny.
- Stwierdzono, że plony suchej masy i skrobi poszczególnych genotypów należących do wszystkich grup wczesności uzyskane w różnych miejscowościach różniły się istotnie.
- Spośród genotypów ocenianych w roku 2011 jednocześnie bardzo wysokie plony suchej masy i skrobi wydały: A16, A24, B46, B31, B30, C18, C17, C14 i C9.
- W warunkach sezonu wegetacyjnego 2011 najbardziej przydatnymi do uprawy ekologicznej okazały się: odmiana Finezja oraz materiały hodowlane B30 i B45.
- Po chłodnym i wilgotnym okresie wegetacji roku 2010, niezależnie od miejsca uprawy, większość genotypów charakteryzowała się długim okresem spoczynku.
- Po długotrwałym przechowywaniu genotypów późnych nie stwierdzono istotnych zmian w zawartości suchej masy niezależnie od miejsca uprawy oraz temperatury przechowywania (5°C, 8°C).
- Niską zawartością cukrów redukujących (poniżej 0,25%) niezależnie od miejsca uzyskania plonu charakteryzowały się genotypy: A13, A15, A16, B10, B18, B19, B28, B29, B30, B31, B35, B38, B39. Natomiast różnice w poziomie zawartości tego składnika w zależności od miejsca uprawy stwierdzono u genotypów: A12, A17, A18, B15, B23, B25, B27, B32, B33, B34, B40, B42, oraz C9 i C14.
- Spośród badanych genotypów tylko B28 po przechowywaniu w niskiej temperaturze (5°C) nie wykazał wyższego poziomu cukrów redukujących, jedynie z bulw tego genotypu otrzymano dobrej jakości frytki i chipsy.
- Ciemnienie enzymatyczne bulw zależało zarówno od genotypu jak i miejsca uprawy.
- Ciemnienie bulw genotypów wszystkich grup wczesności po ugotowaniu kształtowało się na tym samym poziomie.
- Warunki uprawy i zbioru ziemniaków wpłynęły na poziom całkowitych ubytków naturalnych w długotrwałym okresie przechowywania.
- Średnie porażenie genotypów chorobami przechowalniczymi w temperaturze 5°C wynosiło 0,93% a w temperaturze 8°C -1,35%
- W badanym zestawie znalazły się genotypy, które w żadnych warunkach nie uległy porażeniu chorobami przechowalniczymi (tj. niezależnie od miejsca uprawy i temperatury przechowywania).
- Mniejsze straty przechowalnicze bulw pochodzących z uprawy w punkcie 3 mogły wynikać z korzystniejszych warunków termiczno-wilgotnościowych w sezonie wegetacyjnym 2010.
- Spośród materiałów ocenianych w sezonie przechowalniczym 2010/2011 najwyższą i stabilną trwałość przechowalniczą po przechowaniu w temp. 5°C i w temp. 8°C charakteryzowały się genotypy: A10, B19, B28, B33, B35, B38, B41, B42, C14.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 70.

Tytuł projektu: Badania nad efektywnością indukcji haploidów w zróżnicowanych genotypach kukurydzy metodą gynogenezy.

Kierownik projektu: dr R. Warzecha

W 2011 roku prace obejmowały:

- Przeprowadzenie analizy fenotypowej nasion w kolbach matecznych kukurydzy w celu identyfikacji nasion o zarodkach haploidalnych (1x) spośród nasion diploidalnych (2x).
- Badania objęły 113 genotypów matecznych z puli genowej SH i 33 genotypy mateczne z puli genowej KB. Genotypy te były przedmiotem bezpośredniej indukcji haploidów w sezonie 2010 z wykorzystaniem induktora haploidów typu *embryo marker* (marker zarodkowy).
- Podwojenie liczby chromosomów w wyodrębnionych haploidach.
- Przeprowadzenie doświadczenia polowego z roślinami po ich kolchicynowaniu. Identyfikacja roślin haploidalnych i podwojonych haploidów (DH₀). Samozapylenie roślin podwojonych haploidów roślin DH₀ i wytworzenie nasion DH₁.
- Przeprowadzenie badań nad optymalizacją podwajania chromosomów w roślinach haploidalnych.
- Przeprowadzenie indukcji haploidów poprzez zapylenie roślin matecznych pyłkiem induktora haploidów typu *embryo marker*. Doświadczenie polowe ma na celu wytworzenie haploidów matecznych do badań w 2012 roku.

1. Przeprowadzono analizę nasion z kolb matecznych uzyskanych w wyniku indukcji haploidów. Zidentyfikowano łącznie 35343 nasiona „domniemych” haploidów do dalszych analiz i prac badawczych.

2. Przeprowadzono podwajanie liczby chromosomów przy zastosowaniu kolchicyny, w siewkach haploidalnych. Siewki po kolchicynowaniu wypikowano do wielodoniczek w szklarni, a po ich przyjęciu się wysadzono w polu do końca pierwszej dekady czerwca. Przed kwitnieniem roślin wyeliminowano rośliny wykazujące cechy mieszańcowe (diploidy). Zidentyfikowano i pozostawiono do dalszych badań rośliny, które wykazywały cechy roślin haploidalnych, w liczbie 14790 (100%). W tej grupie, były jednak rośliny, które nie wytworzyły znamion - 3804 (25,7%). Zidentyfikowano także grupę roślin - 6957 (47,0%) o fenotypie haploidalnym, które były sterylne (nie wytwarzały pyłku). 4029 (27,2%) roślin było płodnych. Identyfikacja tej grupy roślin - podwojonych haploidów - jest głównym celem prowadzonych badań. Rośliny te poddano samozapyleniu w celu wytworzenia nasion pokolenia DH₁. 2786 roślin (69,1%) spośród poddanych samozapyleniu zawiązało nasiona. Stopień zawiązywania nasion DH₁ na poszczególnych roślinach DH₀ był bardzo zróżnicowany.

Wyniki dla poszczególnych puli genowych:

2.1 Pula genowa SH:

- Liczba genotypów matecznych poddanych indukcji haploidów – 113,
- Liczba genotypów, w których wytworzono linie DH – 105,
- Liczba roślin haploidalnych ogółem – 10288 (100%)
 - w tym rośliny haploidalne bez znamion – 2694 (26,2%)
 - w tym rośliny haploidalne męsko niepłodne – 5026 (48,8%),
 - w tym rośliny haploidalne męsko płodne – 2568 (25,0%).
- Liczba roślin haploidalnych płodnych zawiązujących ziarniaki – 1828 (71,2%) w stosunku do ogólnej liczby roślin haploidalnych męsko płodnych poddanych samozapyleniu.

2.2 Pula genowa KB:

- Liczba genotypów matecznych poddanych indukcji haploidów – 33,
- Liczba genotypów, w których wytworzono linie DH – 31,
- Liczba roślin haploidalnych ogółem – 4502 (100%).
 - w tym rośliny haploidalne bez znamion – 1110 (24,7%)
 - w tym rośliny haploidalne męsko niepłodne – 1931 (42,9%),
 - w tym rośliny haploidalne męsko płodne – 1461 (32,5%)

- Liczba roślin haploidalnych płodnych zawiązujących ziarniaki – 958 (65,6%) w stosunku do ogólnej liczby roślin haploidalnych męsko płodnych poddanych samozapyleniu.

3. Wyniki badań nad optymalizacją kolchicynowania siewek.

Badania nad optymalizacją kolchicynowania przeprowadzono na 27 genotypach matecznych (17 genotypów z puli SH i 10 genotypów z puli KB).

Siewki otrzymane z tych genotypów poddano kolchicynowaniu roztworami kolchicyny o stężeniach 0,06 i 0,08% przez 10 i 12 godzin, w temperaturze 26°C.

Analiza genotypów SH wskazała, że najbardziej efektywnymi wariantami było traktowanie siewek roztworem kolchicyny w stężeniu 0,06% przy czasie ekspozycji 10 godzin i 0,08% stężenie przy czasie ekspozycji 12 godzin - efektywność kolchicynowania odpowiednio: 43,9% i 45,6%).

Warianty z roztworem kolchicyny 0,06% i ekspozycją siewek przez 12 oraz 0,08% stężenie kolchicyny przy 12 godzinnej ekspozycji były mniej efektywne. Uzyskano 39,6-40,6% podwojonych haploidów.

Najwyższą efektywność podwajania chromosomów zanotowano w genotypie SH189/2010 (66,2%).

Analiza genotypów KB wykazała że najbardziej efektywnymi wariantami było traktowanie siewek badanymi roztworami 0,06% i 0,08% odpowiednio przez 12 i 10 godzin. Efektywność kolchicynowania odpowiednio: 48,2 i 55,9%. Najwyższą efektywność podwajania chromosomów zanotowano w genotypie KB 14/10 (60,1%).

4. Założono blok krzyżówkowy w celu wykonania indukcji haploidów do badań w 2012 roku. Wysiano genotypy mateczne do zapylenia induktorem haploidów T2/1995. W celu synchronizacji kwitnienia zastosowano jeden termin wysiewu form matecznych i 2 terminy siewu induktora. Przedmiotem indukcji haploidów w 2011 roku były genotypy mateczne z puli genowej SH (187 genotypów) i z puli genowej KB (41 genotypów). Użyte do badań genotypy reprezentują formy zębokształtne (dent) i szkliste (flint). Uzyskano kolby do identyfikacji nasion z zarodkami

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 714.

Tytuł projektu: Badanie interakcji genotypowo-środowiskowej linii wsobnych i mieszańców kukurydzy dla oceny ich przydatności użytkowej.

Kierownik projektu: dr R. Warzecha

W 2011 roku prace badawcze obejmowały:

- Wytypowanie i przygotowanie do założenia doświadczeń mieszańców F₁ i linii wsobnych kukurydzy,
- Opracowanie metodyki i przygotowanie planów doświadczeń,
- Przeprowadzenie doświadczeń – wykonanie obserwacji i pomiarów głównych cech agrotechnicznych,
- Zestawienie wyników i wykonanie analiz statystycznych.

Wytypowano i przygotowano do doświadczeń na ziarno 66 mieszańców F₁, a do doświadczeń na kiszonkę z całych roślin 44 mieszańce F₁.

Przeprowadzono 3 serie doświadczeń z mieszańcami F₁ kukurydzy na ziarno (WZ1 – WZ3). W doświadczeniach tych było po 25 obiektów (22 mieszańce i po 3 odmiany wzorcowe). Odmiany wzorcowe reprezentowały 3 grupy wczesności: NK RAVELLO (FAO 190-200), grupa wczesna, ES PAROLI (FAO 250), grupa średnio wczesna i RONALDINIO (FAO 260), grupa średnio późna.

Przeprowadzono 2 serie z mieszanejami F₁ na kiszonkę z całych roślin (WK1 – WK2). Do tych doświadczeń włączono 44 obiekty. W doświadczeniach tych było po 25 obiektów (22 mieszaneje i 3 odmiany wzorcowe). Odmiany wzorcowe reprezentowały 3 grupy wczesności: AMADEO (FAO 230-240), grupa wczesna, PR39R86 (FAO 240), grupa średnio wczesna i SUBITO (FAO 280), grupa średnio późna.

Doświadczenia założono według metody bloków niekompletnych. Każdy obiekt w doświadczeniu był wysiany w 3. powtórzeniach. Powierzchnia poletka w doświadczeniach na ziarno wynosiła 10 m², a w doświadczeniu na kiszonkę 6,64 m².

Doświadczenia na ziarno i na kiszonkę założono w 6 miejscowościach o zróżnicowanych warunkach środowiskowych: Koberzyce i Pustków (woj. dolnośląskie), Dłoń i Smolice (woj. wielkopolskie), Mikulice (woj. podkarpackie) i Radzików (woj. mazowieckie).

Przedmiotem badań w doświadczeniach na ziarno były następujące cechy agrotechniczne: plon ziarna (t/ha, 15 % wilg.), zawartość suchej masy w ziarnie (%), wyleganie korzeniowe i ogólne przed zbiorem w (%), porażenie roślin przez głownię guzowatą (%).

Przedmiotem badań w doświadczeniach na kiszonkę z całych roślin były następujące cechy agrotechniczne: plon zielonej masy roślin (t/ha), plon ogólny suchej masy (t/ha), udział suchej masy kolb w plonie ogólnej suchej masy (%), zawartość suchej masy w roślinach przy zbiorze (%), wyleganie korzeniowe i ogólne przed zbiorem (%), porażenie roślin przez głownię guzowatą (%).

Na podstawie analiz wariancji dla poszczególnych doświadczeń i serii doświadczeń wykazano dużą zmienność badanych cech dla poszczególnych mieszanejców, o zróżnicowanym pochodzeniu genetycznym.

W mieszanejach ziarnowych stwierdzono znaczące różnice w plonie ziarna, od 13,2 – 15,0 t/ha. Potencjał plonowania był wysoki, dla najlepszych mieszanejców w poszczególnych doświadczeniach kształtował się od 14,5 do 15,0 t/ha. Zawartość suchej masy w ziarnie przy zbiorze kształtowała się w granicach od 71,2 do 81,0 %. Stosunkowo małe zróżnicowanie stwierdzono dla pozostałych cech.

Mieszaneje badane na kiszonkę z całych roślin wykazały zróżnicowany poziom cech, przy ogólnie rekordowym potencjale plonowania. Plon ogólny suchej masy kształtował się od 20,4 do 26,9 t/ha. Zawartość suchej masy w roślinach kształtowała się od 32,2 do 40,4 %.

Następnym etapem, była końcowa ocena interakcji genotypowo-środowiskowej. Dokonano podziału genotypów pod względem stabilności i poziomu plonowania. Wydzielono grupy genotypów stabilnych i niestabilnych (o istotnej interakcji genotypowo-środowiskowej). Grupę genotypów niestabilnych podzielono na genotypy intensywne (reagujące dodatnią interakcją w środowiskach lepszych), ekstensywne (reagujące dodatnią interakcją w środowiskach gorszych) i nieokreślone (reakcje nieistotne). Nadto każdą z grup podzielono na trzy podgrupy: genotypy z wysokimi wynikami (istotnie lepsze od wzorca), genotypy z niskimi wynikami (istotnie gorsze od wzorca) oraz genotypy przeciętne (nieróżniące się istotnie od wzorca).

Najważniejsze osiągnięcia.

W wyniku badań nad mieszanejami z kukurydzą ziarnową, ze względu na wysokość i stabilność plonowania, wyróżniono:

- 4 genotypy charakteryzujące się stabilną (nieistotną) interakcją genotypu i środowiska, o wysokim plonie ziarna, istotnie wyższym od wzorca. Takie genotypy mają szeroką zdolność adaptacyjną i plonują wysoko w większości środowisk,
- 1 genotyp, również o wysokim plonie ziarna, istotnie wyższym od średniego plonu obiektów w analizowanym doświadczeniu znalazł się w grupie genotypów o niestabilnej (istotnej) interakcji środowiskowej, w podgrupie intensywnej, co oznacza ich mniejszą adaptację do zróżnicowanych warunków środowiska. Takie genotypy równocześnie reaguje dodatnią interakcją w środowiskach lepszych,

- 7 genotypów o wysokim plonie ziarna, istotnie wyższym od średniego plonu obiektów w analizowanym doświadczeniu znalazł się w grupie genotypów o niestabilnej (istotnej) interakcji środowiskowej, w podgrupie nieokreślonej,

Na podstawie klasyfikacji genotypów ze względu na wysokość i stabilność poziomu zawartości suchej masy w ziarnie w czasie zbioru wyróżniono:

- 4 genotypy charakteryzujące się stabilną (nieistotną) interakcją genotypu i środowiska, o wysokiej zawartości suchej masy ziarna, istotnie wyższej od wzorca,
- 1 genotyp o niestabilnej (istotnej) interakcji genotypu i środowiska, o wysokiej zawartości suchej masy ziarna, istotnie wyższej od wzorca, w grupie ekstensywnej,
- 15 genotypów o niestabilnej (istotnej) interakcji genotypu i środowiska, o wysokiej zawartości suchej masy ziarna, istotnie wyższej od wzorca, w grupie nieokreślonej.

W wyniku badań na mieszańcami kukurydzy na kiszonkę z całych roślin, wyróżniono:

1. Ze względu na wysokość i stabilność plonowania (plon ogólny suchej masy całych roślin – t/ha):

- 4 genotypy o plonie wysokim, istotnie wyższym od wzorca i o stabilnej (nieistotnej) interakcji genotypu i środowiska,

2. Ze względu na wysokość i stabilność poziomu zawartości suchej masy w całych roślinach w czasie zbioru:

- 1 genotyp o poziomie zawartości suchej masy, istotnie wyższym od wzorca i o stabilnej (nieistotnej) interakcji genotypu i środowiska

3. Ze względu na wysokość i stabilność plonowania suchej masy kolb:

- 3 genotypy o plonie suchej masy kolb istotnie wyższym od wzorca i o stabilnej (nieistotnej) interakcji genotypu i środowiska

Stwierdzono, że badane genotypy są silnie zróżnicowane pod względem poziomu plonowania, wczesności, reakcji na warunki środowiskowe i zdolności adaptacyjnej. Są wśród nich genotypy, których linie składowe będzie można wykorzystać do tworzenia perspektywicznych materiałów wyjściowych do syntezy nowych mieszańców kukurydzy.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 72.

Tytuł projektu: Epidemiologia chorób powodowanych przez grzyby z rodzaju *Fusarium* spp. na kukurydzy oraz poszukiwanie nowych źródeł odporności.

Kierownik projektu: dr E. Kocharńska-Czembor

W ramach tematu realizowano dwa podzadania:

(A) charakterystyka linii wsobnych kukurydzy na fuzariozę kolb w warunkach polowych przy infekcji naturalnej oraz po inokulacji osobno *Fusarium graminearum* i *F. verticillioides*

(B) selekcja cykliczna mająca na celu pozyskanie źródeł odporności.

Materiał roślinny i metodyka prowadzonych prac:

Charakterystyka linii wsobnych kukurydzy w warunkach polowych przy infekcji naturalnej oraz po inokulacji osobno *Fusarium graminearum* i *F. verticillioides*

Scharakteryzowano 98 linii wsobnych. Linie były zróżnicowane pod względem pochodzenia i należały do następujących grup: dent, flint, IDT, Lancaster, SSS/IDT. Pochodzenie 11 linii nie było znane. Oceniono 5292 pojedynków w tym: 1764 po inokulacji grzybem *F. graminearum*, 1764 pojedynków po inokulacji grzybem *F. verticillioides* i 1764 pojedynków rosnących przy infekcji naturalnej (doświadczenie prowadzono w układzie trzech powtórzeń, oceniając stopień odporności 6 pojedynków w każdym powtórzeń dla każdej kombinacji).

Do inokulacji wykorzystano izolaty *F. graminearum* i *F. verticillioides* wyosobnione z porażonych prób ziarna w latach poprzednich.

Inokulację prowadzono zgodnie z metodyką stosowaną przez CIMMYT (International Maize and Wheat Improvement Center) oraz ośrodek hodowlano-naukowy w Szeged, Węgry wykorzystując drewniane patyczki pokryte pożywką SNA, na których namnażano poszczególne izolaty grzybów. Inokulacje prowadzono 7–9 dni od daty kwitnienia poprzez nakłuwanie kolby w odległości 1/3 od podstawy.

Do oceny fenotypowej stopnia porażenia kolb używano skali 1–7 (1–0% ziarniaków z objawami porażenia; 2 – od 1% do 3% ziarniaków porażonych; 3 – od 4% do 10% ziarniaków porażonych; 4 – od 11% do 25% ziarniaków porażonych; 5 – 26%-50% ziarniaków porażonych; 6 – od 51% do 75% ziarniaków porażonych; 7 – od 71% do 100% ziarniaków porażonych). Genotypy, których porażenie ocenione zostało w zakresie 1–3,5 należą do grupy odpornych i średnio odpornych i stanowią potencjalne źródła odporności. Genotypy, których kolby porażone są w zakresie 3,5–5,5 to formy średnio podatne, a formy ocenione w zakresie 5,5–7,0 bardzo podatne.

Analizując średnie temperatury powietrza w 2011 roku można stwierdzić, że w miesiącach lipiec i sierpień były one niższe niż w latach 2008–2010. Jednak maksymalne temperatury przekraczały 25 °C., a suma opadów i wilgotność powietrza były bardzo wysokie (na tle lat poprzednich, które również należały do lat o dużej ilości opadów). Były to warunki bardzo sprzyjające do rozwoju szczególnie *F. graminearum*.

Prowadzenie selekcji cyklicznej materiałów przekazanych do badań w latach 2008, 2009, 2010 i 2011 (odpowiednio pokolenie S4, S3, S2 i S1).

Rośliny charakteryzowano po zapyleniu wsobnym. Opisywano wczesność, odporność na fuzariozę kolb oraz odporność na zgorzel podstawy łodygi. Odnotowywano również występowanie główki pyłacej. Odporność na fuzariozę kolb oceniano po inokulacji grzybem *Fusarium graminearum* nakłuwając je drewnianymi patyczkami na których namnażano *F. graminearum* (zgodnie z metodyką opisaną wyżej). Zgorzel podstawy łodygi opisywano przy infekcji naturalnej. Łodygi krojono do wysokości 3 międzywęzła. Używano skali 1–9.

Potencjalne źródła odporności stanowiły pojedynki, których stopień odporności na fuzariozę kolb po inokulacji został oceniony w zakresie 1–3 co odpowiada stanowi, że maksymalnie na 10% ziarniaków widoczne było porażenie grzybem (skala została opisana wyżej). Doświadczenia zakładano w siewie rzędownym, 75 cm odległości pomiędzy rzędami, 25 roślin w każdym rzędzie. W badaniach uwzględniono populacje S₀, Linie S₁, linie S₂ i linie S₃. Stopień odporności populacji S₀, linii S₁, linii S₂ oceniany był po zapyleniach wsobnych i inokulacji kolb. Linie S₃ zostały ocenione przy sztucznym porażeniu kolb (inokulacja) bez zapylenia wsobnych. Oceniano 4 pojedynki w obrębie każdej rośliny. Uzyskane wyniki mają na celu potwierdzenie ocen stopnia odporności uzyskanych w latach poprzednich. Materiały, których odporność na fuzariozę kolb oceniona została w zakresie 1–3 (porażenie ziarniaków do 10% w kolbie) należy uważać za genotypy o podwyższonej odporności, które powinny być wykorzystywane w dalszych programach jako potencjalne źródła odporności.

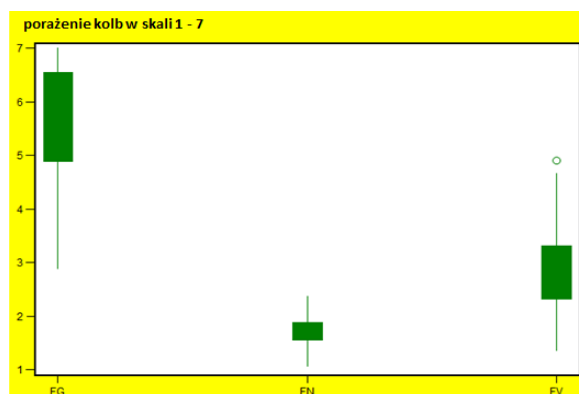
Uzyskane wyniki

Charakterystyka linii wsobnych kukurydzy kolb w warunkach polowych przy infekcji naturalnej oraz po inokulacji osobno *Fusarium graminearum* i *F. verticillioides*.

Analiza wariancji dla ocen stopnia odporności linii wsobnych na fuzariozę kolb w roku 2011 wskazuje, że linie te w sposób istotny różniły się pomiędzy sobą zarówno przy infekcji naturalnej jak i po inokulacji grzybem *Fusarium graminearum* jak i *F. verticillioides*. Linie reprezentowały odległe od siebie pod względem genetycznym grupy. Były to formy dent, flint, IDT, Lancaster, SSS/IDT. Pochodzenie 11 linii nie było znane. Stwierdzono istotne różnice pomiędzy grupami pod względem odporności na fuzariozę kolb przy infekcji naturalnej i po inokulacji *F. verticillioides*. Po inokulacji *F. graminearum* różnice te

obserwowano, jednak nie były one aż tak istotne, co stwierdzono za pomocą analizy wariancji. Średnio, nasilenie choroby po inokulacji *F. graminearum* było znacznie wyższe niż po inokulacji *F. verticillioides* oraz przy infekcji naturalnej, co zapewnia dużą presję ze strony patogena i możliwość uzyskania postępu genetycznego w programach, których celem jest poszukiwanie źródeł odporności. Odmianą wzorcową, uznawaną na podstawie wcześniejszych badań była średnio podatna odmiana Kozak. Średnio, prowadząc ocenę stopnia odporności linii wsobnych w skali 1–7 ich porażenie po inokulacji *F. graminearum* wahało się w zakresie od 4,9 do 6,5. Jednak zakres zmienności tych ocen wahał się od 2,8 do 7,0. Genotypy ocenione w zakresie 1–3,5 tworzyły grupę o wysokiej odporności, przy dużej presji selekcyjnej ze strony patogena, jakim był *F. graminearum*.

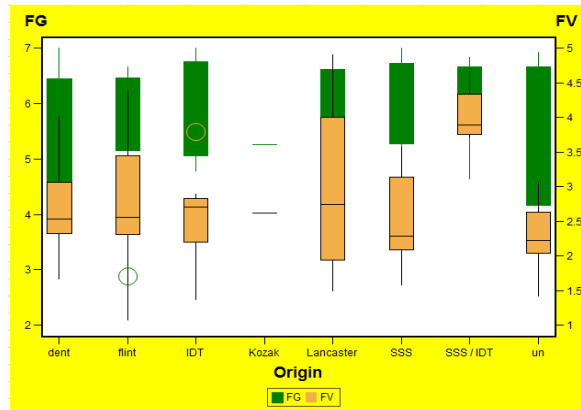
Rys. 1. Wartości średnie i zakresy zmienności dotyczące stopnia odporności linii wsobnych na fuzariozę kolb przy infekcji naturalnej (FN) oraz po inokulacji *F. graminearum* (FG) i *F. verticillioides* (FV)



Średnio, po inokulacji *F. verticillioides* linie wsobne były porażone w zakresie od 2,3 do 3,2. Jednak zakres zmienności stopnia odporności był bardzo szeroko i wahał się od 1,3 do 5,0. Odporność odmiany Kozak oceniona została na 2,6. Dlatego należy przyjąć, że przy inokulacji *F. verticillioides*, dla rozwoju którego w bieżącym roku warunki atmosferyczne nie były tak sprzyjające jak dla *F. graminearum*, formy średnio odporne i odporne to te, których stopień porażenia oceniony został poniżej 2,6.

Na rysunku 2 przedstawiono zakresy średnich stopni odporności na prażenie grzybami z rodzaju *Fusarium* spp. w poszczególnych grupach. Analizując odporność badanych genotypów na porażenie *F. graminearum* można stwierdzić, że najszerszym zakresem zmienności charakteryzowały się formy należące do grupy dent, flint i te, których pochodzenie nie było znane. W grupach tych można wyodrębnić genotypy, których stopień odporności został oceniony poniżej 3,5. Na szczególną uwagę zasługuje kilka genotypów z grupy flint (oznaczone na wykresie w postaci zielonego koła). Grupami najbardziej podatnymi były formy należące do grup IDT, Lancaster i SSS oraz SSS/IDT, co potwierdza również inne doniesienia literaturowe.

Rys. 2. Wartości średnie i zakresy zmienności dotyczące stopnia odporności poszczególnych grup linii wsobnych na fuzariozę kolb przy infekcji naturalnej (FN) oraz po inokulacji *F. graminearum* (FG) i *F. verticillioides* (FV)



Podobne wyniki uzyskano na podstawie danych ocen stopnia porażenia kolb po inokulacji *F. verticillioides*. Nasilenie choroby było niższe, ale formy SSS/IDT były bardzo podatne.

Prowadzenie selekcji cyklicznej

Analizując uzyskane wyniki należy brać pod uwagę, że bieżący rok był szczególnie sprzyjający rozwojowi choroby – duża ilość opadów i wysoka temperatura – dlatego presja selekcyjna była wysoka. Na podstawie średniego stopnia porażenia można stwierdzić, że selekcja cykliczna był skuteczna i uzyskano postęp genetyczny – średnio, po inokulacji stopień porażenia kolb pokolenia S_1 oceniono na 4,3, pokolenia S_2 na 4,0 a pokolenia S_3 na 3,4 (tab. 1).

Tab. 1. Procent potencjalnych źródeł odporności

Lp.	pokolenie	średni stopień porażenia		procent potencjalnych źródeł odporności
		fuzarioza kolb po inokulacji <i>F. graminearum</i>	Zgorzel podstawy łodygi przy infekcji naturalnej	
1	S_1	4,3	4,1	35,6
2	S_2	4,0	4,0	35,6
3	S_3	3,4	3,9	41,8

Najważniejsze osiągnięcia:

Scharakteryzowano 98 linii wsobnych po inokulacji dwoma grzybami osobno *F. graminearum* i *F. verticillioides*, które są głównymi sprawcami fuzariozy kolb oraz przy infekcji naturalnej, wykazano postęp genetyczny uzyskany podczas selekcji cyklicznej.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 76.

Tytuł projektu: Opracowanie efektywnej metody otrzymywania haploidów i podwojonych haploidów buraka cukrowego.

Kierownik projektu: dr hab. M. Gośka prof. nadzw. IHAR-PIB

Kontynuowano badania nad opracowaniem wydajnej metody otrzymywania haploidów i podwojonych haploidów w kulturach *in vitro* z niezapłodnionych załączków jednonasiennych i wielonasiennych linii buraka cukrowego.

Materiałem wyjściowym do badań były wielonasienne diploidalne zapylacze buraka cukrowego – typu cukrowego (16 genotypów), cukrowo-normalnego (73 genotypy) i normalnego (58 genotypów). Załączki do kultur *in vitro* pobierano z roślin rosnących w szklarni. Wykładano je na pożywkę Murashige i Skooga (MS) zawierającą 1 mg·dm⁻³ BAP

i $0,1 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ NAA. Ogółem wyłożono na pożywki 2055 niezapłodnionych zalążków typu cukrowego, 11175 cukrowo-normalnego i 7110 typu normalnego.

W celu określenia optymalnych stężeń regulatorów wzrostu dla zwiększenia procentu regeneracji haploidalnych zarodków z niezapłodnionych zalążków buraka zastosowano pożywki zawierające $1 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ BAP lub $1 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ TDZ w kombinacji z $100 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ proliny. Zalążki do kultur *in vitro* izolowano z 11 linii typu cukrowo-normalnego i 9 linii typu normalnego.

Dodatkowo w doświadczeniach jako eksplantaty wykładano pylniki w stadium jednojądrowych mikrospor celem określenia możliwości otrzymania haploidów buraka cukrowego na drodze androgenezy. Zastosowano pożywki zawierające BAP ($1 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$) lub TDZ ($1 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$) w kombinacji z proliną ($100 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$). Ogółem wyłożono na pożywki 800 typu cukrowo-normalnego i 1000 typu normalnego.

Przeprowadzone badania nad gynogenezą w kulturach *in vitro* zalążków buraków cukrowych wielonasiennych diploidalnych zapylaczy wykazały znaczne różnice pomiędzy testowanymi liniami pod względem zdolności do regeneracji roślin. Z analizowanych różnych genotypów buraka najwyższy procent roślin otrzymano z zalążków wielonasiennych zapylaczy typu normalnego (do 26,7%). Słabiej regenerowały zalążki wielonasiennych zapylaczy typu cukrowo-normalnego (do 21,3%) i cukrowego (do 6,7%). Ogółem z 20340 zalążków wielonasiennych diploidalnych zapylaczy wyłożonych na pożywki indukcyjne otrzymano 1096 (5,4%) regeneratów.

Wpływ regulatorów wzrostu i proliny na regenerację roślin z niezapłodnionych zalążków zależał od genotypu rośliny matecznej i rodzaju zastosowanej cytokininy. Procent roślin otrzymanych z zalążków był nieco wyższy na pożywkach z TDZ (średnio 4,2%) niż na pożywkach z BAP (średnio 3,8%). Obserwowano obniżenie zdolności do tworzenia roślin na pożywce zawierającej BAP w kombinacji z proliną (1,7–5,9%) w porównaniu do pożywki zawierającej TDZ (2,2–6,6%). Zastosowanie proliny w pożywkach indukcyjnych nie miało wpływu na częstotliwość regeneracji roślin z niezapłodnionych zalążków. Regeneracja roślin haploidalnych z zalążków zależała od typu buraka cukrowego jak również od genotypu w obrębie danego typu. Odsetek zalążków tworzących rośliny wynosił od 0,0 do 12,5% na pożywkach z BAP oraz od 0,0 do 15,6% na pożywkach zawierających TDZ. Zalążki pochodzące z roślin typu normalnego (5,9–6,6) charakteryzowały się wyższą zdolnością do gynogenezy w porównaniu do zalążków typu cukrowo-normalnego (1,7–2,3%).

Próby indukcji roślin haploidalnych buraka w kulturach *in vitro* pylników zakończyły się niepowodzeniem. Z pylników buraka otrzymano tylko kalus który prawdopodobnie pochodził z komórek somatycznych pylnika.

Po pierwszym pasażu określono ploidalność regenerantów przy użyciu cytometru przepływowego Partec CCA. Oznaczono stopień ploidalności 472 roślin uzyskanych z zalążków wielonasiennych zapylaczy. Wśród analizowanych roślin 385 było haploidami (81,6%), 39 diploidami (8,2%) a 48 posiadało różną liczbę chromosomów (10,2%). Przeprowadzono również analizy izoenzymatyczne diploidów w celu określenia czy regeneranty pochodzą z diploidalnych komórek somatycznych zalążka czy z haploidalnej komórki jajowej i uległy samorzutnej diploidyacji. Dla badanych 4 izoenzymów (PGI – izomeraza glukozy-6-fosforanowa, PGM – fosfoglukomutaza, MDH – dehydrogenaza jabłczanowa, IDH – dehydrogenaza izocytrynianowa) uzyskano wzory prążkowe typowe dla homo- i heterozygot. Stwierdzono wśród badanych 39 klonów obecność 28 (71,8%) diploidów homozygotycznych i 11 (28,2%) diploidów heterozygotycznych. Otrzymane w wyniku przeprowadzonych badań rośliny homozygotyczne są rozmnażane w kulturach *in vitro* w celu uzyskania większej ilości materiału potrzebnego do dalszych badań.

Prawidłowo rozwinięte haploidy pochodzące z różnych zalążków po rozmnożeniu, po trzecim pasażu poddano diploidyacji poprzez traktowanie kolchicyną w warunkach *in vitro*.

Otrzymane w wyniku przeprowadzonych badań rośliny diploidalne zostały rozmnożone i ukorzenione w kulturach *in vitro*. Prawidłowo rozwinięte rośliny wysadzono do doniczek w szklarni a następnie w polu. Ogółem wysadzono 34 linie podwojonych haploidów wyprowadzonych z wielonasiennych zapylaczy typu cukrowo-normalnego, 86 linii typu normalnego, obejmujących około 1200 roślin. Linie podwojonych haploidów otrzymane z załączków różnych genotypów były zróżnicowane pod względem cech morfologicznych przy jednoczesnej jednorodności wewnątrz linii. Obserwowano rośliny różniące się intensywnością barwy liści, od jasno do ciemnozielonej. Ponadto różniły się kształtem liści, długością ogonków i szerokością blaszek liściowych oraz brzegiem blaszki liściowej (od całego do podwójnie karbowanego). Podwojone haploidy charakteryzowały się dobrym ulistnieniem i wykształciły korzeń spichrzowy. Korzenie 120 linii podwojonych haploidów buraka zebrano i umieszczono w przechowalni.

Wiosną 2011 roku wysadzono w szkółkach hodowlanych korzenie 147 linii podwojonych haploidów, po jarowizacji w okresie zimy. Linie DH tworzyły kwiatostany na które zakładano izolatory w celu uzyskania nasion. Liczba linii DH z prawidłowo zawiązanymi nasionami w dużym stopniu zależała od samozgodności badanych materiałów. Z analizowanych 147 linii podwojonych haploidów 40 linii zawiązało nasiona (27,2%), 20 linii wybiło w pędy nasienne ale nie tworzyło nasion (13,6%). Obserwowano również linie tworzące nasiona puste (32,6%) lub słabo wykształcone (19,7%). Jednakże ostatecznym kryterium decydującym o przydatności podwojonych haploidów do selekcji wartościowych linii homozygotycznych buraka cukrowego będzie wielkość plonu korzeni i plonu technologicznego cukru.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 80.

Tytuł projektu: Badania nad odpornością grochu siewnego i bobiku na wybrane choroby grzybowe i wytworzenie materiałów wyjściowych.

Kierownik projektu: dr L. Boros

Badania obejmowały ocenę podatności na porażenie *M. pinodes* nowych genotypów grochu siewnego w doświadczeniu polowym z kontrolowaną infekcją (19) oraz w warunkach kontrolowanych (19+23). Łącznie badano 42 obiekty. Doświadczenie z kontrolowaną infekcją założono w 3 powtórzeniach, na poletkach 2-rzędowych 1.5mb. długich. Ocenę prowadzono w dwóch kombinacjach tj. kombinacji kontrolnej chronionej chemicznie oraz kombinacji z inokulacją mieszaniną izolatów o stężeniu 2×10^6 zarodników/ml. Przeprowadzono dwukrotną inokulację roślin, pierwszą w fazie 3-4 liścia gdy groch miał około 15 cm wysokości, drugą w okresie kwitnienia. Końcową ocenę porażenia przeprowadzono gdy większość genotypów osiągnęła fazę wypełnionego strąka. Oceniano porażenie dolnej, środkowej i górnej części roślin wg skali Xue i in. (0-9) gdzie 0 oznacza brak porażenia. Do porównania stopnia porażenia uwzględniano najwyższe porażenie z przeprowadzonych ocen w trakcie wegetacji dla każdego genotypu.

Badane genotypy różniły się istotnie pod względem wysokości roślin, wylegania i plenności oraz porażenia *M. pinodes*. Stwierdzono średnie porażenie roślin badanych genotypów w porównaniu do poprzednich sezonów wegetacyjnych. Obserwowany stopień porażenia przez *M. pinodes* powodował ponad 8% redukcję produktywności badanych genotypów przy dużej rozpiętości pomiędzy nimi. Różnice w redukcji produktywności pomiędzy genotypami były nieistotne. Wyodrębniono grupę genotypów o porażeniu na poziomie odmiany Radley – wzorca odporności. W warunkach kontrolowanych, w testach z inokulacją 20 dniowych siewek grochu, średnie porażenie liści i łodyg było wyższe od odpowiednich wartości dla odmiany wzorcowej Radley i znacząco niższe niż dla odmiany wzorcowej Rubin. Niezależnie wykonana ocena podatności w/w genotypów grochu techniką inokulacji odciętych liści

z wykorzystaniem komputerowej analizy obrazu potwierdziła dużą zgodność wyników oceny podatności na infekcję *M. pinodes* tą metodą z wynikami testu na siewkach w warunkach kontrolowanych oraz z wynikami oceny podatności w warunkach polowych z kontrolowaną infekcją. Nie stwierdzono istotnych różnic poziomu podatności badanych genotypów w zależności od miejsca wytworzenia.

Testowano w warunkach polowych linie F₇ (159) z ośmiu kombinacji z krzyżowań międzyodmianowych z odmianą Radley. Badane linie różniły się pod względem wczesności, wysokości roślin, wylegania. Średnie porażenie linii grzybem *M. pinodes* w 5 na 8 kombinacji krzyżowań było niższe od porażenia odpowiednich form matecznych. Produktywność wyrażona masą nasion z poletka była niższa od produktywności lepszych rodziców. Jednakże zakres zmienności dla tej cechy wskazuje na możliwość wyboru linii, które będą łączyły podwyższoną odporność na *M. pinodes* z innymi korzystnymi cechami użytkowymi. Za pomocą analizy skupień metodą Warda, wydzielono grupy obiektów o dużym podobieństwie pod względem porażenia *M. pinodes*, wysokości roślin, wylegania, plonu nasion z poletka, zawartości białka w nasionach oraz masy 1000 nasion.

Kontynuowano prace nad introgresją genów odporności z *Pisum fulvum* do *Pisum sativum*. W bieżącym sezonie wegetacyjnym wysiano populację F₇ na polu infekcyjnym. Obserwowano rośliny ze znacznymi deformacjami, z zaburzeniami chlorofilowymi czy całkowicie sterylne. Badane materiały wykazywały znaczną segregację dla szeregu cech morfologicznych (wysokość roślin, typ ulistnienia, barwa kwiatów, wczesność, wielkość nasion i kolor okrywy nasiennej). Wyselekcjonowano 83 pojedynki, zebrano ramsze z segregujących rodzin oraz 72 potomstwa pojedynków wyselekcjonowanych w poprzednim sezonie wegetacyjnym. Zebrane materiały będą przedmiotem dalszych prac.

W doświadczeniu polowym w warunkach prowokacyjnych z opóźnionym o miesiąc terminem wysiano 17 genotypów grochu, w tym zarejestrowane w 2011 roku odmiany Model, Mentor i Turnia oraz grupę genotypów odpornych na mączniaka prawdziwego. Ponadto wysiano 99 potomstw pojedynków 8 kombinacji krzyżowań z odporną linią. W przeciwieństwie do poprzedniego sezonu wegetacyjnego wystąpiło słabe porażenie mączniakiem właściwym. Ponadto silne wyleganie i podmoknięcia spowodowane nadmiernymi intensywnymi opadami w miesiącu lipcu (suma 294 mm) utrudniły przeprowadzenie właściwej selekcji w tym materiale. Zebrano 43 potomstwa pojedynków bez oznak porażenia mączniakiem właściwym. W okresie zimowym zebrane linie poddane zostaną ocenie podatności na porażenie mączniakiem właściwym w warunkach szklarniowych.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 83.

Tytuł projektu: Wytwarzanie energetycznych form hodowlanych traw wieloletnich o zwiększonej biomacie i wartości opałowej oraz nasiennej na gleby suche, ubogie i skażone.

Kierownik projektu: dr D. Martyniak

Zaplanowane na rok sprawozdawczy badania podjęto, w Pracowni Traw Pozapaszowych i Roślin Energetycznych, ze względu na ograniczone możliwości wykorzystania w kraju drewna opałowego z lasów i drewna odpadowego z przemysłu, dla osiągnięcia celu 15% OZE w 2020. Stąd konieczne jest szukanie nowych gatunków roślin energetycznych, zwłaszcza przydatnych na niezagospodarowane tereny, marginalne oraz gleby lekkie, ubogie i suche. Obecnie do zagospodarowania jest w Polsce ponad 1,0 mln ha gleb, głównie w postaci ugorów, terenów porolnych i nieużytków, na których mogłyby znaleźć się odpowiednie rośliny energetyczne. Taką możliwość może stworzyć uprawa niektórych gatunków traw wieloletnich. Wstępne rozpoznania wykazały iż spośród traw,

przydatnymi do produkcji biomasy w kraju mogą być zwłaszcza: perz wydłużony (*Agropyron elongatum*), stokłosa uniolowata (*Bromus unioloides*), kostrzewa trzcinowata (*Festuca arundinacea*), rajgras wyniosły (*Arrhenatherum elatius*). Wymienione, włączone do badań gatunki są wieloletnie i rozmnażają się przez nasiona, dlatego mogą stanowić względnie tanie źródło biomasy lignocelulozowej do spalania i produkcji biogazu. Badania podstawowe dotyczyły głównie określenia właściwości morfologiczno-biologicznych i nasiennych roślin, podstawowych parametrów jakościowych biomasy słomy i brykietu do spalania (wartości kalorycznej i opałowej, suchej masy, popiołu oraz procentu wilgotności biomasy), a także plonu świeżej zielonej masy i kiszonki do produkcji biogazu, w tym zawartości metanu.

Celem badań podstawowych było poznanie wymienionych właściwości ważnych cech morfologicznych i biologicznych, charakteryzujących poszczególne genotypy i formy badanych traw wieloletnich. Natomiast ustalenie ich parametrów jakościowych biomasy do spalania i produkcji biogazu (metanu) oraz właściwości nasiennych genotypów zadecyduje o możliwości i ekonomice ich uprawy na cele energetyczne.

Wszystkie badania polowe populacji genotypów i pojedynków *Agropyron elongatum* oraz pozostałych zlokalizowane zostały w Radzikowie. Cały analizowany materiał roślinny badanych gatunków i populacji traw energetycznych wykazał się dużą zmiennością większości cech. Spośród cech morfologicznych dotyczyło to zwłaszcza perzu wydłużonego w zakresie liczby pędów generatywnych, wysokości roślin, długości kłosów i liści. Populacje o dużej liczbie pędów generatywnych (np. nr 33) charakteryzowały się przeważnie mniejszą wysokością roślin i długością kłosa. Natomiast populacje o małej liczbie kwiatostanów (np. nr 35), miały korzystne parametry innych cech: były wysokie oraz miały długi i szeroki liść. Korzystnie w większości cech wyróżniały się dwie populacje - nr 34 i 32. Znaczną zmienność stwierdzono także, w zakresie cech nasiennych i to nie tylko u perzu, lecz w pozostałych gatunkach. Szczególnie dotyczyło to plonu nasion i liczby pędów generatywnych, dla których wyliczono największe współczynniki zmienności (c.v. %). Stwierdzono również znaczne zróżnicowanie materiału pod względem masy tysiąca nasion (MTN), szczególnie w przypadku perzu wydłużonego i stokłosa uniolowatej. Jakość nasion w większości badanych materiałów była dobra lub zadawalająca. Nieco niższą zdolność kiełkowania miały genotypy mozgi trzcinowatej i rajgrasu wyniosłego. Dotyczy to również energii kiełkowania, a zwłaszcza ich żywotności (niższy wskaźnik vitalności nasion – WVN).

Generalnie, przeprowadzone badania wykazały iż wytypowany do celów energetycznych materiał roślinny posiada dużą zmienność większości korzystnych cech biologicznych związanych z użytkową wartością energetyczną biomasy.

Ponadto analizowano materiał roślinny pod względem energetycznym t.j. dotyczącym jego wartości opałowej i produkcji biogazu. Zlecone badania jakościowe biomasy w Centralnym Laboratorium Zakładów Pomiarowo-Badawczych Energetyki „Energopomiar”, pozwoliły dokładnie ocenić przydatność biomasy poszczególnych gatunków traw wieloletnich i populacji do spalania i produkcji biogazu. Większość z nich w badanych parametrach jakościowych dorównywała, a nawet przewyższała węgiel brunatny. Dotyczy to zwłaszcza ciepła spalania i wartości opałowej u stokłosa uniolowatej i mozgi trzcinowej oraz niektórych form perzu wydłużonego. Jednocześnie w materiale roślinnym stwierdzono (wielokrotnie) mniejszą zawartość niekorzystnego popiołu i siarki niż w węglu brunatnym. Stwierdzono również zależność ciepła spalania od wilgotności biomasy - im wyższa wilgotność tym gorsza była wartość opałowa.

Dodatkowe analizy przydatności użytkowej perzu wydłużonego do produkcji biogazu wykazały zadawalającą (53%) zawartość uzyskanego metanu w biogazie z kiszonki w porównaniu z podawanymi w literaturze innymi roślinami (trawy w uprawie polowej czy kukurydza).

Reasumując, uzyskane w pierwszym roku wyniki badań poznawczych dowodzą ich

celowości, pozwalają na wstępną ocenę wybranych materiałów roślinnych, a także dalsze kontynuowanie prac.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 104.

Tytuł projektu: Choroby grzybowe i bakteryjne zagrażające fasoli zwyczajnej (*Phaseolus vulgaris* L.).

Kierownik projektu: dr L. Boros

Ocenie poddano 26 nowych obiektów fasoli szparagowej otrzymanych z trzech ośrodków hodowli. Materiały te wysiano w doświadczeniach w trzech powtórzeniach, na poletkach 1-rzędkowych 1,5 mb. długich przy rozstawie międzyrzędzi 50 cm, a w rzędzie 5 cm, wysiewając co każde 2 rządki testowanych form jeden rząd odmiany podatnej jako źródło naturalnej infekcji w zależności od typu doświadczenia. Kolejnym doświadczeniem założonym w układzie bloków losowanych w trzech powtórzeniach było doświadczenie z 17 obiektami w tym 11 odmianami testowymi i 6 genotypami fasoli z kolekcji roboczej w Regułach. Kombinacje kontrolne w w/w doświadczeniach chroniono Miedzianem. Zgodnie z sugestią Komisji Odbiorów z poprzedniego roku, dotyczącej potrzeby podjęcia prac nad wytworzeniem materiałów wyjściowych fasoli karłowej na suche nasiona z odpornością na rasę gamma *C. lindemuthianum* wysiano dwa doświadczenia polowe na bazie własnych materiałów. W pierwszym doświadczeniu oceniano 16 obiektów a w drugim 114 linii z różnych kombinacji krzyżowań. Ponadto do oceny porażenia zgnilizną twardzikową (*S. sclerotiorum*) na innym polu założono doświadczenie z 32 obiektami w tym 26 obiektów to nowe rody fasoli szparagowej i 6 to genotypy agraniczne z określonymi cechami.

Stopień porażenia odmian i linii antraknozą, bakteriozą i zgnilizną twardzikową określano wg 9-stopniowej skali: 1 – > 75% porażonych roślin; 3 – 51-75% porażonych roślin; 5 - 26-50% porażonych roślin; 7 - do 25% porażonych roślin; 9 – brak porażenia.

Do oznaczenia patogena *Colletotrichum lindemuthianum* wykorzystano opis w podręcznikach (Kochman i Majewski, 1970; Marcinkowska, 2003). Potwierdzeniem diagnozy opartej na symptomatologii było badanie pod mikroskopem preparatów wykonanych z porażonych tkanek zawierających organy zarodnikowania grzyba. Z kultur pierwotnych przygotowywano kultury jednozarodnikowe metodą kolejnych rozcieńczeń na szalkach Petriego z pożywką Mathura. Następnie kultury jednozarodnikowe przeszczepiono na skosy. Do dalszych badań z każdego izolatu przygotowano po 2 skosy kultur jednozarodnikowych pochodzących z jednej i tej samej kultury pierwotnej.

Badania podatności na porażenie rasą gamma *C. lindemuthianum* w warunkach kontrolowanych w teście z inokulacją nasion wykonanym według metodyki opisanej w CPVO-TP/012/3.

Do identyfikacji sprawców bakteriozy fasoli wykorzystano zestawy diagnostyczne Adgen Phytodiagnosics Express Kit firmy NEOGEN Europe Ltd.

Ocenę podatności na zgniliznę twardzikową wybranych genotypów fasoli w warunkach kontrolowanych przeprowadzono testem pośrednim, wykorzystującym reakcję siewek na kwas szczawiowy. Test ten prowadzono na siewkach 20 dniowych (otwierający się 3 liść trójlistkowy). Odcięte siewki u podstawy łodygi mocowano na platformach styropianowych i umieszczano w pojemnikach na powierzchni roztworu 20mM kwasu szczawiowego o pH 4, a w przypadku kombinacji kontrolnej na wodzie destylowanej doprowadzonej HCl do pH 4. Test prowadzono w temperaturze 24 ± 2 °C z doświetlaniem 12/24 godz. Po upływie 24 godzin wykonano ocenę więdnienia, będącego miarą podatności na zgniliznę twardzikową. Materiały testowane w doświadczeniu, oceniano w skali 1 – 6, gdzie 1 = brak oznak, 2 = zwiędnięty jeden liść (2 listki zarodkowe lub liść trójlistkowy = jeden liść), 3 = 2 liście

zwiędnięte, 4 = 3 liście zwiędnięte, 5 = zwiędnięte ogonki liściowe i 6 = zwiędnięta cała roślina.

Przeprowadzone badania wykazały istnienie zróżnicowania w obrębie odmian szparagowych oraz na suche nasiona na porażenie *C. lindemuthianum* w warunkach naturalnej infekcji. W końcowej ocenie podatności genotypów fasoli szparagowej, odnotowano porażenie na 9 obiektach, a z odmian testowych na Michelite, Michigan DRK, Perry Marrow i Widusa. Średnie porażenie antraknozą badanych linii wyniosło 8.4 przy zakresie zmienności od 2 do 9. Nie stwierdzono objawów porażenia na roślinach 93 linii, a dla 21 linii porażenie średnie i mocne.

W warunkach kontrolowanych przeprowadzono badania podatności na porażenie rasą gamma *C. lindemuthianum* na 50 genotypach. Spośród testowanych genotypów 16 było podatnych na porażenie rasą gamma.

Przeprowadzono ocenę patogeniczności izolatów z kolekcji izolatów grzyba *Colletotrichum lindemuthianum* na zestawie genotypów różnicujących w celu oceny zmienności populacji posiadanych izolatów z określeniem potencjalnie występujących ras. Przebadano 30 izolatów a uzyskane wyniki wskazują, że izolaty te tworzą dwie rasy.

Bakteriozy fasoli były chorobami notowanymi w znacznym nasileniu. Badane genotypy fasoli szparagowej, oprócz jednego, wykazywały objawy chorobowe. Średnie porażenie badanej grupy genotypów wyniosło 6,4 przy zróżnicowaniu genotypowym w przedziale 3-9. Spośród 114 nowych linii fasoli na suche nasiona tylko 6 form nie wykazywało objawów chorobowych, 4 linie wykazywały silne porażenie, a pozostałe 104 średnie. Przeprowadzono identyfikację sprawców bakteriozy fasoli na 25 genotypach. Identyfikacja sprawców bakteriozy fasoli z wykorzystaniem testów immunodetekcji wykazała obecność bakterii *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* u wszystkich badanych genotypów z objawami bakteriozy a w przypadku *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* stwierdzono jej obecność u 12 na 25 badanych genotypów. Nie stwierdzono występowania *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* sprawcy ostrej bakteriozy fasoli.

Stwierdzono dość powszechne występowanie porażenia *Sclerotinia sclerotiorum* sprawcy zgnilizny twardzikowej fasoli. Stopień porażenia uwzględnionych w doświadczeniach rodów, odmian i linii był dość zbliżony, na poziomie 7-4 w skali 9 stopniowej. Średnie porażenie badanych rodów fasoli szparagowej i 6 odmian w doświadczeniu zlokalizowanym na innym polu wyniosło 7,3 przy rozpiętości pomiędzy genotypami od 5 do 9. Zróżnicowanie genotypowe podatności u odmian szparagowych potwierdzono również w teście pośrednim wykorzystującym reakcję siewek na kwas szczawiowy. W oparciu o uzyskane wyniki przeprowadzono porównanie porażenia zgnilizną twardzikową w warunkach polowych z wynikami oceny podatności w teście pośrednim dla 29 badanych genotypów. Współczynnik korelacji pomiędzy tymi ocenami wyniósł $r = 0.50$. Wartość współczynnika jest porównywalna z danymi literaturowymi.