

BADANIA PODSTAWOWE NA RZECZ POSTĘPU BIOLOGICZNEGO W PRODUKCJI ROŚLINNEJ.

Wyniki badań uzyskane w 2013 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; z 2010r. Nr 91 poz. 595 i Nr 259 poz. 1772; z 2011r. Nr 121 poz. 691, z 2012r. Nr 53 poz. 271 oraz z 2013r. poz. 752)

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

Materiał badawczy stanowiły 144 genotypy pszenicy ozimej o zróżnicowanym podłożu genetycznym; wzorce: wysoko plonujące odmiany KWS Ozon (średnio podatna), Muszelka (podatna), Tonacja (odporna); 72 genotypy pszenicy ozimej wybrane z doświadczeń prowadzonych w latach 2007–2012; 4 odmiany wysoko odporne na fuzariozę kłosów (20828, A40-19-1-2, Bizel, UNG 226). Obiekty wysiane zostały w 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 w okresie pełni kwitnienia. Przeprowadzono 2 oceny nasilenia fuzariozy kłosów, w odstępie 7 dni. Określano indeks fuzariozy kłosów (IFK) oznaczający udział porażonych kłosów w ogólnej liczbie kłosów na poletku. Wykonano pomiary wysokości roślin. Po zbiorze kłosów oznaczono stopień uszkodzenia ziarniaków przez *Fusarium* (FDK).

W tunelach z instalacją zraszającą, kłosa 72 genotypów i 6 odmian pszenicy ozimej inokulowano izolatami *F. culmorum*. Po inokulacji utrzymywana była wysoka wilgotność powietrza w celu zapewnienia korzystnych warunków do rozwoju fuzariozy kłosów. Po ok. 3 tygodniach od inokulacji przeprowadzono 2 oceny nasilenia fuzariozy kłosów, w odstępie 7 dni. Określano występowanie fuzariozy kłosów (liczba kłosów porażonych na poletku) oraz porażenie kłosa. Mierniki te posłużyły do wyliczenia indeksu fuzariozy kłosów.

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

Doświadczenia infekcyjne ze 150 genotypami pszenicy ozimej założono dodatkowo w 6 punktach doświadczalnych: Dębina (woj. pomorskie), Kobierzyce (woj. dolnośląskie), Nagradowice (woj. wielkopolskie), Polanowice (woj. małopolskie), Smolice (woj. wielkopolskie), Strzelce (woj. łódzkie). Zastosowano ten sam zestaw izolatów *F. culmorum* co w Radzikowie. Metodyka inokulacji była zbliżona. Określano procentowy indeks fuzariozy kłosów (Dębina, Polanowice, Strzelce) lub odporność w skali 1-9 (Kobierzyce, Nagradowice, Smolice). Odporność w skali 1-9 została przetransformowana na indeks fuzariozy kłosów.

Średnie nasilenie fuzariozy kłosów u genotypów pszenicy ozimej wynosiło 32,0%. Zakres zmienności cechy mieścił się w granicach 10,3-56,0%. Zidentyfikowano genotypy najbardziej odporne na porażenie kłosa (7 genotypów) oraz najbardziej podatne (8 genotypów). Termin kwitnienia nie korelował z nasileniem fuzariozy kłosów. Istotna była korelacja wysokości roślin z indeksem fuzariozy kłosów ($r = -0,554$). Dla wszystkich genotypów o wysokości powyżej 90 cm indeks fuzariozy kłosów nie przekraczał 40%, natomiast dla niższych niż 80 cm indeks był wyższy od 30%.

Zamieranie kłosów korelowało istotnie z podatnością na fuzariozę kłosów. U większości podatnych genotypów zjawisko to wystąpiło w dużym nasileniu, z wyjątkiem kilku genotypów, u których zamierania nie obserwowano.

Średnie nasilenie fuzariozy kłosów u genotypów pszenicy ozimej z lat 2007-2012 wynosiło 20,6%. Zakres zmienności cechy mieścił się w granicach 4,8-44,0%. W warunkach kontrolowanych średnie nasilenie fuzariozy kłosów wyniosło 28,3%. Zakres zmienności cechy mieścił się w granicach 10,5-42,0%. Termin kwitnienia oraz wysokość roślin korelowała istotnie z nasileniem fuzariozy kłosów. Współczynniki miały jednakże niską wartość. Średnia wysokość genotypów odpornych wyniosła 95cm. Zakres zmienności cechy mieścił się w granicach 80,3-110,7%. Były one wyższe niż pula 150 genotypów badanych w 2013r. – średnia wysokość 87,1 cm, w zakresie od 67,0 do 111,7 cm. Indeksy fuzariozy kłosów w warunkach polowych i kontrolowanych korelowały istotnie.

Reakcja 58 genotypów odpornych pszenicy, badanych w latach 2012 i 2013, była stabilna o czym świadczy wysoki współczynnik korelacji indeksów fuzariozy kłosów z tych lat. Genotypy te wykazały przeciętnie wyższą odporność od nowych genotypów badanych w 2013r., a także od 59 odmian pszenicy znajdujących się w rejestrze zarówno w roku 2012 jak i 2013.

Średnie nasilenie fuzariozy kłosów w 6 lokalizacjach wyniosło 23,9%. W Dębiniu było to 22,3%, w Polanowicach 27,5%, w Nagradowicach 23,8%, w Kobierzycach 20,5%, w Smolicach 19,7% oraz w Strzelcach 29,9%. Stwierdzono duże zróżnicowanie podatności badanych genotypów w zakresie od 10,1% do 54,0%. Znaleziono genotypy odporne o stabilnej reakcji we wszystkich lokalizacjach. Obserwowano również stabilną podatność niektórych genotypów.

Indeksy fuzariozy kłosów z 6 lokalizacji korelowały istotnie ze średnim indeksem z Radzikowa i Cerekwicy (IGR PAN). Najwyższe były współczynniki dla Kobierzyc i Dębiny, najniższy dla Polanowic. Wyniki z Polanowic korelowały najslabiej z wynikami z innych lokalizacji. Współczynnik korelacji średniego indeksu FK z Radzikowa i Cerekwicy versus średni indeks FK z 5 lokalizacji był wysoki ($r=0,746$) co wskazuje na zadowalającą zgodność wyników, mimo rozbieżności dla niektórych genotypów. Wiarygodna ocena podatności danego genotypu wymaga przeprowadzenia doświadczeń infekcyjnych w kilku środowiskach.

Na podstawie oceny porażenia kłosa do dalszych analiz wybrano 44 genotypy wykazujące odporność na porażenie kłosa, trzy odmiany wzorcowe (KWS Ozon, Muszelka, Tonacja), wzorzec odporności (20828) oraz 3 genotypy o najwyższej podatności. Spośród genotypów odpornych 17 było badanych w doświadczeniach w latach 2011 i 2012.

Nasilenie fuzariozy kłosów wybranych 44 genotypów wynosiło w Radzikowie średnio 19,5% (bez wzorców i 3 genotypów podatnych). Zakres zmienności od 4,8 % do 29,3% (bez wzorców i 3 genotypów podatnych). Najsilniej porażone były kłosa 3 wzorców podatnych (IFK > 50%). Stopień uszkodzenia ziarniaków dla tych genotypów wyniósł 27,0%. Zakres zmienności mieścił się w granicach od 11,5 % do 43,9 %, Największe uszkodzenie ziarniaków zanotowano dla odmian Muszelka i KWS Ozon, wzorca podatnego oraz 2 genotypów o niższym porażeniu kłosa.

W ziarnie badanych genotypów pszenicy stwierdzono zawartość toksyn fuzaryjnych. Deoksyniwalenol (DON) oraz niwalenol (NIV) występowały we wszystkich próbach. Zawartość zearalenonu (ZEA) stwierdzono w 49 próbach, z tym że jedynie w 25 powyżej limitu oznaczalności wynoszącego 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$. W pozostałych 24 zawartość ta była poniżej limitu detekcji. Pochodne DON - 3-acetyl- i 15-acetyldeoksyniwalenol występowały w ilościach śladowych. Średnia zawartość DON w ziarnie 44 genotypów wyniosła 2,225 mg/kg. Zakres zmienności zawartości od 0,258 (POB 0111) do 6,353 mg/kg (DD 11/09). Najwięcej DON znajdowało się w ziarnie odmian wzorcowych Muszelka i KWS Ozon oraz genotypu podatnego. Jeżeli chodzi o NIV, to jego średnia zawartość wyniosła 2,223 mg/kg (44 genotypy). Zakres zmienności od 0,115 do 8,173 mg/kg. Bardzo wysoką zawartość NIV zanotowano w jednej próbie ziarna odmiany Muszelka oraz w ziarnie genotypu podatnego. W ziarnie genotypów z roku bieżącego było średnio 2,664 mg/kg DON oraz 2,699 mg/kg NIV, natomiast w ziarnie genotypów wybranych w latach 2011 i 2012 było to odpowiednio 1,619 mg/kg DON i 1,978 mg/kg NIV. Średnia zawartość ZEA (bez wartości <LOD) wynosiła 59 $\mu\text{g}/\text{kg}$. ZEA nie stwierdzono w ziarnie 5 genotypów. Najwięcej tej toksyny znaleziono w ziarnie 3 genotypów oraz odmiany Muszelka.

Indeks fuzariozy kłosów oraz uszkodzenie ziarniaków korelowały istotnie ze sobą oraz z zawartościami DON i NIV w ziarnie. Porażenie kłosa nie korelowało z zawartością ZEA, natomiast dla FDK współczynnik był istotny lecz miał niską wartość.

Wykonano analizę wielocechową PCA (analiza składowych głównych). Do analizy nie włączono ZEA ze względu na niewielką zawartość tej toksyny w ziarnie. Analiza pozwoliła na wyróżnienie 10 genotypów łączących 3 typy odporności na fuzariozę kłosów – odporność na porażenie kłosa, na uszkodzenie ziarniaków oraz na akumulację toksyn fuzaryjnych. W ziarnie 8 z tych genotypów stwierdzono brak lub bardzo niską zawartość ZEA. Trzy genotypy badane były w roku 2012 i również wykazały odporność na fuzariozę kłosów. Należy zauważyć, że pod względem zawartości toksyn genotypy nie różniły się od wzorca odpornego 20828 zawierającego gen odporności *Fhb1*.

Niskie zawartości DON i NIV zanotowano również u 8 innych genotypów - sześć z tych genotypów wyselekcjonowano w poprzednich latach. Miały one wyższe porażenie kłosa i/lub uszkodzenie ziarniaków w porównaniu do wymienionych powyżej.

Badano również odporność linii pszenicy ozimej i jarej uzyskanych z krzyżowania odmian z genotypami odpornymi. Wszystkie linie inokulowano grzybem *F. culmorum* w warunkach polowych. Materiałem infekcyjnym była mieszanina 3 izolatów *F. culmorum*. Pszenica inokulowana była przez oprysk kłosów zawiesiną zarodników w okresie pełni kwitnienia. Wykonano 2 inokulacje wszystkich obiektów. W tunelu z instalacją zraszającą kłosa 53 linii pszenicy ozimej inokulowano izolatem *F. culmorum* (chemotyp DON). Wykonano 2 inokulacje. Po inokulacji utrzymywana była wysoka wilgotność powietrza w celu uzyskania silnej presji infekcyjnej patogena. Po około 3 tygodniach od inokulacji przeprowadzono 2 oceny nasilenia fuzariozy kłosów, w odstępie 7 dni. Określano występowanie fuzariozy kłosów (liczba kłosów porażonych na poletku) oraz porażenie kłosa. Mierniki te posłużyły do wyliczenia indeksu fuzariozy kłosów.

Linie F₉ (mieszańce z Sumai 3) w warunkach polowych były bardzo słabo porażane fuzariozą kłosów. Średni indeks FK wyniósł 4,6 %, zakres zmienności od 0 do 10,0%. W warunkach prowokacyjnych porażenie kłosów badanych linii było znacznie wyższe. Średni indeks FK wyniósł 33,4%, zakres zmienności od 9,0 do 56,0%. Najwyższą odporność w obu środowiskach wykazały linie Turnia/Sumai3. Średnia wysokość linii wynosiła 105,3 cm. Jedynie 10 linii miało wysokość poniżej 100cm, z tego 4 wykazały wysoką odporność w obu środowiskach.

Linie F₅ oraz F₇ pszenicy wykazały duże zróżnicowanie odporności na fuzariozę kłosów. Do dalszych badań wybrano 37 linii o wysokiej odporności i korzystnych cechach morfologicznych (wysokość, wyleganie). Spośród linii F₃ jarej wybrano 88 linii oraz 74 pojedynki wysoko odporne na fuzariozę kłosów oraz o korzystnych cechach fenotypowych. Spośród linii F₅ i F₆ pszenicy jarej wybrano 31 pojedynków wysoko odpornych na fuzariozę kłosów oraz o korzystnych cechach fenotypowych.

Najważniejsze osiągnięcia:

- Określenie odporności genotypów pszenicy ozimej i jarej na fuzariozę kłosów oraz stwierdzenie znacznej zmienności tej cechy wśród badanych obiektów.
- Zidentyfikowanie genotypów o wysokiej odporności na fuzariozę kłosów i akumulację miktotoksyn.
- Zbadanie zależności pomiędzy typami odporności na fuzariozę kłosów.
- Wyselekcjonowanie linii z mieszańców odmian ze źródłami odporności o podwyższonej odporności na fuzariozę kłosów i korzystnych cechach fenotypowych.
- Utworzenie kolekcji genotypów pszenicy o podwyższonej odporności pochodzących z krajowej puli genetycznej (bez udziału egzotycznych źródeł odporności).

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 laboratoryjne mające na celu wytworzenie linii podwojonych haploidów (DH) prowadzone były w Pracowni Hodowli Odpornościowej IHAR PIB Radzików. Materiałem wyjściowym były mieszańce F₁ dostarczone przez hodowców. W roku sprawozdawczym 2013 w pracowni pracowano z liniami mieszańcowymi przekazanymi w latach:

- 75 linii mieszańców F₁ pszenicy z 2011 r.
- 65 linii mieszańców F₁ pszenicy z 2012 r.

W celu otrzymania linii DH ziarniaki mieszańców F₁ wysiewano do podłoża w komorach fitotronowych. Kłosa zbierano w środkowej fazie jednojądrowego stadium ziaren pyłku i przechowywano przez 7 do 10 dni w chłodni. Pylniki wykładano na pożywkę CLM i przenoszono do inkubatora do temp. 26°C. Po około 6 tygodniach rozpoczęto sukcesywne przekładanie wytworzonego na pylnikach kalusa na pożywkę R₁. Następnie, po około 10 dniach wytworzone z kalusa rośliny przekładano do kolbek na pożywkę ukorzeniającą R₄. Zregenerowane rośliny po ukorzeniu poddawano procesowi jarowizacji trwającemu 6 tygodni w temp. 4°C. Po zakończeniu jarowizacji rośliny wysadzano do pojemników z ziemią i ustawiano w komorze fitotronowej do czasu wytworzenia ziarniaków. Ogółem wytworzono 395 linii DH.

W roku bieżącym przeprowadzona została inokulacja oraz fenotypowa ocena linii pszenicy pod względem odporności na porażenie przez *S. nodorum* w doświadczeniu polowym, założonym jesienią 2012 roku. Doświadczenie obejmowało w sumie 279 linii DH, rodów DW i odmiany wzorcowe (Muszelka, Tonacja, KWS Ozon).

Wszystkie materiały wysiane zostały w 4 powtórzeniach obejmujących 1 powtórzenie kontrolne i 3 powtórzenia zakazane 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), drugą inokulację przeprowadzono w fazie kłoszenia, natomiast trzecią w początkowej fazie kwitnienia (GS 59). Poletka kontrolne opryskiwane były Tiltiem 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.

Zgodnie z harmonogramem niniejszego tematu inokulum *S. nodorum* o łącznej objętości 16 litrów zostało przesłane do terenowych punktów doświadczalnych w celu wykonania inokulacji testowanych obiektów pszenicy.

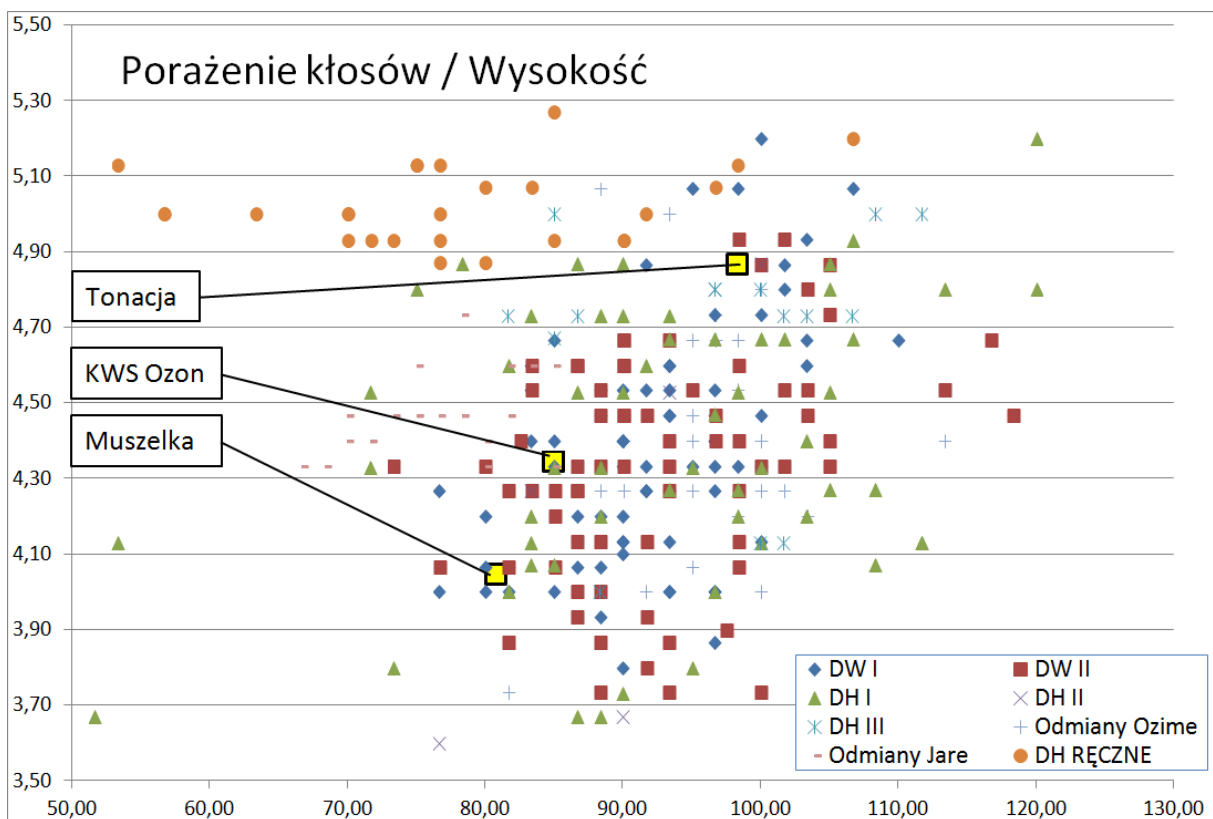
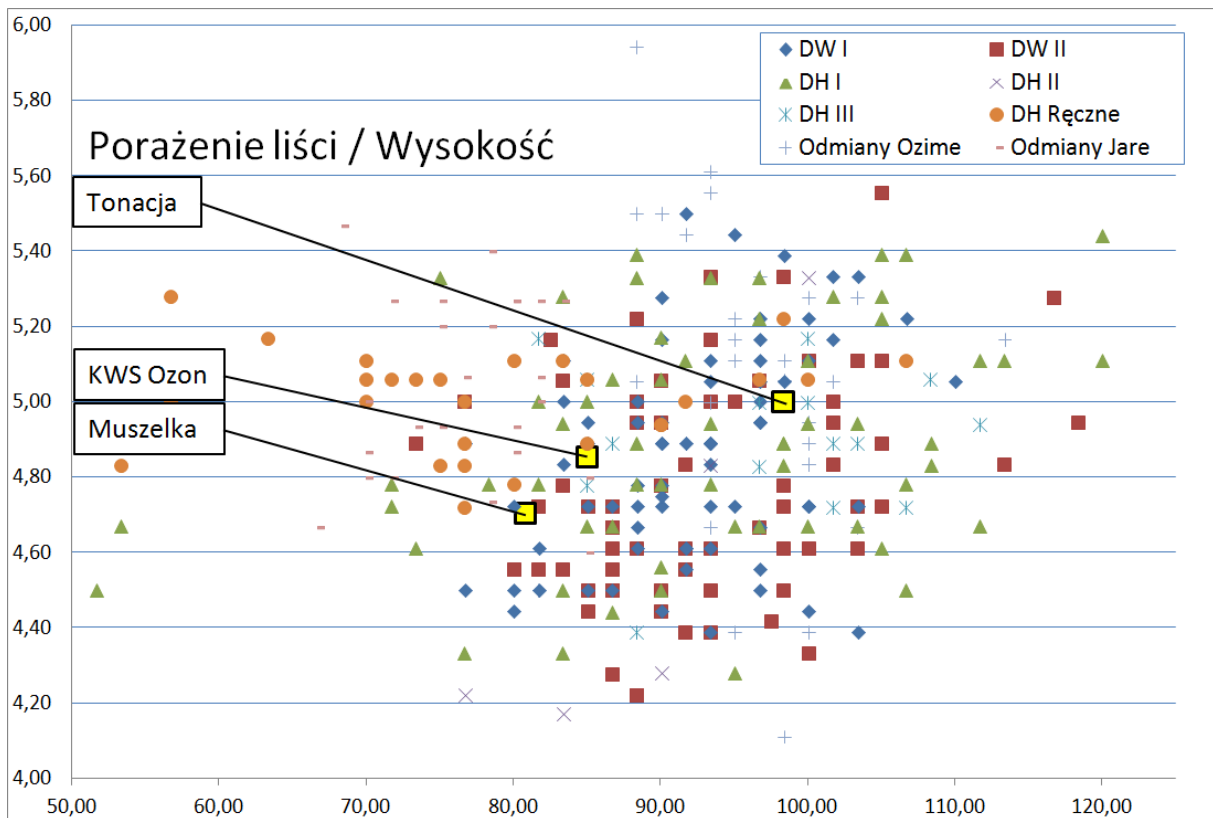
Wyniki fenotypowej analizy odporności rodów pszenicy ozimej w doświadczeniu wstępnym:

Zakres terminów kłoszenia rodów DW mieścił się w przedziale od 165 do 169 dni, badane rośliny mierzyły od 73 cm do 118 cm, zakres reakcji na porażenie przez *S. nodorum* dla liści oscylował w granicach od 4,2 (skala 1-9) do 5,5, natomiast dla plew kłosów od 3,2 do 5,2.

Wyniki fenotypowej analizy odporności linii DH pszenicy ozimej:

Zakres terminów kłoszenia poszczególnych linii mieścił się w przedziale od 165 do 171 dni, badane rośliny mierzyły od 51 cm do 120 cm, zakres reakcji na porażenie linii DH pszenicy ozimej przez *S. nodorum* dla liści oscylował w granicach od 3,8 (skala 1-9) do 5,44, natomiast dla plew kłosów od 3,4 do 5,27.

Zależności między porażeniem liści oraz kłosów od wysokości obiektów przedstawiają poniższe wykresy:



Obserwacje wykonane w ramach obcych usług badawczych:

Ocenę obiektów pszenicy ozimego pod względem odporności na *S. nodorum* w punktach doświadczalnych wykonywano zgodnie z wyżej opisanymi procedurami przesłanymi do podwykonawców w konspekcie tematu. W poszukiwaniu odporności przetestowano 150 linie pszenicy ozimej DW I i II. Odmianami wzorcowymi były odmiany: Tonacja, Muszelka i KWS Ozon.

Wnioski:

- Linie DH oraz obiekty badane w doświadczeniu wstępnym charakteryzowały się: wczesnością kłoszenia zamykającą się w przedziale 165–167 dni liczonych od 01.01, rozkładem wysokości rośliny 52–120 cm, rozkładem odporności liści w zakresie 3,8–5,56 (1 - krańcowo podatne; 9 – krańcowo odporne), oraz rozkładem odporności plew w zakresie od 3,3 do 5,2.
- W przypadku liści najodporniejszymi obiektami były obiekty doświadczenia wstępnego (POB 1012, STH 087 i STH 087), linie DH w 1 roku doświadczenia nie różniły się istotnie od najodporniejszych rodów (629/40/3, 639/37/1, 558/17/6). Wymienione rody i linie mimo dość wysokiego poziomu odporności nie przekroczyły poziomu odporności odmian z Krajowego Rejestru Odmian.
- Najwyższą odporność plew stwierdzono u linii DH 629/40/3 oraz rodu DC 332/09-3.
- Linie DH I o znacznie skróconym źdźble (639/24/1, 638/9/4) nie ustępowały odpornością innym przebadanym rodow hodowlanym i ustalonym odmianom.
- Spośród linii wysianych ręcznie (R₀) można wyróżnić wiele linii charakteryzujących się dość wysoką odpornością liści oraz bardzo dobrą odpornością plew, przy skróconym źdźble. Dla potwierdzenia ich charakterystyki konieczne są jednak dalsze próby w warunkach normalnego wysiewu.
- W doświadczeniach prowadzonych w zamiejscowych punktach badawczych znaczna liczba rodów charakteryzowała się niższym porażeniem liści i plew w porównaniu z odmianami wzorcowymi.
- Związki korelacyjne między wartościami odporności obiektów doświadczenia wstępnego ukazują duże różnice w poziomie siły związku między różnymi punktami badawczymi. W przypadku odporności liści najsilniejszy związek korelacyjny występował między Radzikowem a Dębina, a najslabszy między Smolicami a Nagradowicami. Zaobserwowano, że siła związku korelacyjnego jest modyfikowana przez warunki środowiskowe.

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. J.H. Czembor

W ramach tematu realizowane były następujące zadania:

Piramidowanie efektywnych genów odporności:

W 2013 roku kontynuowano prace dotyczące piramidowania genów. W zależności od populacji mieszańcowej przeprowadzono krzyżowania z linią odporności na rdzę brunatną – linia Lr47, z linią odporności na mączniaka prawdziwego – linia Pm37, lub z rodzicem wypierającym - Bogatka, Nadobna. Ze wszystkich populacji mieszańcowych otrzymano łącznie 722 linie, z czego 205 linii wypadło z analizy, a do oceny fenotypowej wyselekcjonowano łącznie 517 linii. Zestawiając wyniki reakcji linii na zakażanie izolatami *B. graminis* i *P. recondita*, do analizy molekularnej wyselekcjonowano 224 rośliny.

W 2013 prace badawcze prowadzono na 10 populacjach mieszańcowych:

BIO2a{((Nadobna×Lr41)×(Nadobna×Pm21)×Nadobna)×Nadobna}×Lr47×Nadobna×Lr47
BIO2b{((Nadobna×Lr41)×(Nadobna×Pm21)×Nadobna)×Nadobna}×Lr47×Nadobna×Bogatka
BIO4_1{((Bogatka×Lr41)×(Bogatka×Pm21)×Bogatka)×RAH979}×Lr47×Nadobna×Lr47
BIO4_2a{((Bogatka×Lr41)×(Bogatka×Pm21)×Bogatka)×RAH979}×Lr47×Bogatka×Bogatka
BIO4_2b{((Bogatka×Lr41)×(Bogatka×Pm21)×Bogatka)×RAH979}×Lr47×Bogatka×Nadobna
BIO4_3{((Bogatka×Lr41)×(Bogatka×Pm21)×Bogatka)×RAH979}×Pm37×Nadobna×Pm37
BIO8_1{((Bogatka×Lr41)×(Bogatka×Pm21)×Lexus)×Meteor}×Pm37×Pm37×Bogatka
BIO8_2{((Bogatka×Lr41)×(Bogatka×Pm21)×Lexus)×Meteor}×Pm37×Pm37×Pm37
BIO8_3{((Bogatka×Lr41)×(Bogatka×Pm21)×Lexus)×Meteor}×Pm37×Pm37×Nadobna
BIO8_4{((Bogatka×Lr41)×(Bogatka×Pm21)×Lexus)×Meteor}×Pm37×Pm37×Lr47

Do selekcji materiału roślinnego wykorzystano następujące markery molekularne:

- Gen Lr41: Barc124, Gwm261, Gwm296
- Gen Lr47: (PCAPSR+PS10L+PS10L2), Gwm60
- Gen Pm21: NAU/Xibao
- Gen Pm37: STSBE406627, STSBE406653

W testach patogeniczności wykorzystano izolaty różnicujące, dla *B. graminis* izolat Bgt Kadett, dla *P. recondita* izolat 2902, Wilton.

Uzyskano następujące wyniki:

BIO2a - Populacja mieszańcowa BIO2a została skrzyżowana ze źródłem odporności na rdzę brunatną – linia Lr47. Otrzymano populację mieszańcową w liczbie 34 linii. Za pomocą zestawu izolatów różnicujących *B. graminis* oraz *P. recondita* przeprowadzono selekcję fenotypową materiału roślinnego. Na podstawie przeprowadzonego testu, do selekcji molekularnej wybrano łącznie 10 linii. Na podstawie przeprowadzonej analizy molekularnej wyselekcjonowano 3 rośliny/linie (Lr41+Lr47+Pm21).

BIO2b - Populacja mieszańcowa BIO2b została skrzyżowana wstecznie z rodzicem wypierającym - odmiana Bogatka. Otrzymano populację mieszańcową w liczbie 32 linii. Za pomocą zestawu izolatów różnicujących *B. graminis* oraz *P. recondita* przeprowadzono selekcję fenotypową materiału roślinnego. Na podstawie przeprowadzonego testu, do selekcji molekularnej wybrano łącznie 6 roślin. Na podstawie selekcji molekularnej wybrano 3 rośliny (Lr41+Lr47+Pm21).

BIO4_1 - Populacja mieszańcowa BIO4_1 została skrzyżowana ze źródłem odporności na rdzę brunatną – linia Lr47. Otrzymano populację mieszańcową w liczbie 50 linii. Za pomocą zestawu izolatów różnicujących *B. graminis* oraz *P. recondita* przeprowadzono selekcję fenotypową materiału roślinnego. Na podstawie przeprowadzonego testu, do selekcji molekularnej wybrano łącznie 19 roślin. Na podstawie wyników selekcji molekularnej do dalszych etapów badań wyselekcjonowano 5 linii (Lr41+Lr47+Pm21).

BIO4_2a - Populacja mieszańcowa BIO4_2a została skrzyżowana wstecznie z rodzicem wypierającym - odmiana Bogatka. Otrzymano populację mieszańcową w liczbie 125 roślin. Za pomocą zestawu izolatów różnicujących *B. graminis* oraz *P. recondita* przeprowadzono selekcję fenotypową materiału roślinnego. Na podstawie przeprowadzonego testu, do selekcji molekularnej wybrano łącznie 13 linii. Na podstawie wyników selekcji za pomocą markerów molekularnych wyselekcjonowano do dalszych etapów badań 6 linii (Lr41+Lr47+Pm21).

BIO4_2b - Populacja mieszańcowa BIO4_2b została skrzyżowana wstecznie z rodzicem wypierającym - odmiana Nadobna. Otrzymano populację mieszańcową w liczbie 129 roślin. Za pomocą zestawu izolatów różnicujących *B. graminis* oraz *P. recondita* przeprowadzono selekcję fenotypową materiału roślinnego. Na podstawie przeprowadzonego testu, do selekcji molekularnej wybrano łącznie 5 linii. Na podstawie przeprowadzonych analiz molekularnych, do dalszych etapów badań wyselekcjonowano łącznie 3 linie (Lr41+Lr47+Pm21).

BIO4_3 - Populacja mieszańcowa BIO4_3, została skrzyżowana ze źródłem odporności na mączniaka prawdziwego – linią z genem *Pm37*. Otrzymano populację mieszańcową w liczbie 50 roślin. Za pomocą zestawu izolatów różnicujących *B. graminis* oraz *P. recondita* przeprowadzono selekcję fenotypową materiału roślinnego. Na podstawie przeprowadzonego testu, do selekcji molekularnej wybrano łącznie 3 linie. Na podstawie selekcji molekularnej nie wyselekcjonowano żadnych linii o profilu genetycznym (Lr41+Lr47+Pm21+Pm37).

BIO8_1 - Populacja mieszańcowa BIO8_1 została skrzyżowana wstecznie z rodzicem wypierającym - odmiana Bogatka. Otrzymano populację mieszańcową w liczbie 131 roślin. Za pomocą zestawu izolatów różnicujących *B. graminis* oraz *P. recondita* przeprowadzono selekcję fenotypową materiału roślinnego. Na podstawie przeprowadzonego testu, do selekcji molekularnej wybrano łącznie 74 linii. Na podstawie przeprowadzonych analiz molekularnych na obecność genów (*Pm21*+*Pm37*) do dalszych etapów badań wyselekcjonowano łącznie 19 linii (*Pm21*+*Pm37*).

BIO8_2 - Populacja mieszańcowa BIO8_2, została skrzyżowana ze źródłem odporności na mączniaka prawdziwego – linią z genem *Pm37*. Otrzymano populację mieszańcową w liczbie 62 roślin. Za pomocą zestawu izolatów różnicujących *B. graminis* oraz *P. recondita* przeprowadzono selekcję fenotypową materiału roślinnego. Na podstawie przeprowadzonego testu, do selekcji molekularnej wybrano łącznie 35 linii. Na podstawie przeprowadzonych analiz molekularnych na obecność genów (*Pm21*+*Pm37*) do dalszych etapów badań wyselekcjonowano łącznie 8 linii (*Pm21*+*Pm37*).

BIO8_3 - Populacja mieszańcowa BIO8_3 została skrzyżowana wstecznie z rodzicem wypierającym - odmiana Nadobna. Otrzymano populację mieszańcową w liczbie 72 roślin. Za pomocą zestawu izolatów różnicujących *B. graminis* oraz *P. recondita* przeprowadzono selekcję fenotypową materiału roślinnego. Na podstawie przeprowadzonego testu, do selekcji molekularnej wybrano łącznie 33 rośliny. Na podstawie przeprowadzonych analiz molekularnych na obecność genów (Pm21+Pm37) do dalszych etapów badań wyselekcjonowano łącznie 12 linii (Pm21+Pm37).

BIO8_4 - Populacja mieszańcowa BIO8_4 została skrzyżowana ze źródłem odporności na rdzę brunatną – linia Lr47. Otrzymano populację mieszańcową w liczbie 37 linii. Za pomocą zestawu izolatów różnicujących *B. graminis* oraz *P. recondita* przeprowadzono selekcję fenotypową materiału roślinnego. Na podstawie przeprowadzonego testu, do selekcji molekularnej wybrano łącznie 19 roślin. Na podstawie przeprowadzonych analiz molekularnych na obecność genów (Lr41+Lr47+Pm21+Pm37) do dalszych etapów badań wyselekcjonowano łącznie 2 linie (Lr41+Lr47+Pm21+Pm37).

Poszukiwanie nowych źródeł odporności:

Kolekcja nowych źródeł odporności została powiększona o geny odporności na mączniaka prawdziwego i rdzę brunatną: Lr62, Lr59, Lr54, Lr67+Pm46, Lr 46+Pm39. Ponadto, w roku 2013 uzyskano łącznie 24 nowych izolatów mączniaka prawdziwego. Na zestawie odmian różnicujących przeprowadzono test fitopatologiczny.

Ocena linii w różnych warunkach środowiskowych:

W bieżącym roku sprawozdawczym na poletku doświadczalnym w Radzikowie przeprowadzono ocenę linii homozygotycznych. Materiał roślinny stanowiło 6 populacji mieszańcowych BIO wyselekcjonowanych na podstawie wcześniejszych badań realizowanych w ramach tego tematu. Materiał roślinny oceniany był pod kątem odporności na choroby pszenic tj.: rdza brunatna i żółta, mączniak prawdziwy, septorioza liści oraz pod kątem wczesności i ogólnej wartości gospodarczej. Ocena materiału roślinnego przeprowadzana była w odniesieniu do dwóch wzorców – odmian pszenic ozimych: Muszelka oraz Bockris (takich samych jak w roku 2012). Łącznie analizowano 579 roślin, z czego, do dalszych badań, wybrano 255 kłosów.

W formie usługi badawczej, do 5 stacji hodowli roślin przekazano po około 470 kłosów pochodzących z populacji mieszańcowych BIO. Na podstawie otrzymanych wyników z przeprowadzonych doświadczeń w 4 miejscowościach, wyselekcjonowano materiał roślinny jednocześnie odporny na mączniaka prawdziwego i rdzę brunatną. Na podstawie wyników otrzymanych z jednej ze stacji wyselekcjonowano tylko rośliny odporne na rdzę brunatną, ponieważ w sezonie 2012/2013 na wskazanym terenie mączniak prawdziwy nie wystąpił.

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. IHAR-PIB

Celem projektu było określenie przydatności strategii opartej o markery molekularne do kumulacji w jednym genotypie pszenicy ozimej trzech *loci* cech ilościowych i jednej jakościowej, które mają poprawić odporność na fuzariozę kłosa i rdzę żółtą oraz podnieść zawartość białka ogólnego w ziarnie.

Testy odporności na fuzariozę kłosa.

W roku 2013 przeprowadzono doświadczenie sprawdzające poziom odporności na FHB roślin pokolenia F₄BC₁ i F₃BC₂, do których wprowadzono *loci* odporności na drodze selekcji wspomaganą markerami molekularnymi (poprzednie sprawozdania). Doświadczenie wykonano w warunkach tunelu ogrodniczego wyposażonego w system zraszania, który zapewniał sprzyjające warunki dla rozwoju symptomów chorobowych fuzariozy kłosa. W doświadczeniach każda z 15 rodzin F₄BC₁ była reprezentowana przez potomstwo 5 roślin zebranych w roku poprzednim. Natomiast, w przypadku 15 rodzin F₃BC₂, dla każdej z nich testowano po 45 roślin. Wybrane kłosa dla danego obiektu (pokolenie F₄BC₁) lub rodziny F₃BC₂ oraz odmiany rodzicielskie (Muszelka, STH537, Sumai3 i Scarlet)

i wzorzec (Bockris) zakażano w fazie kwitnienia mieszaniną izolatów *F. graminearum*. Część kłosów, która nie była zakażana posłużyła jako obiekty kontrolne. Po okresie inkubacji, stopień porażenia kłosów przez FHB oceniano wizualnie oraz na podstawie analizy komputerowej (oprogramowanie WinCam 2010) zdjęć wykonanych aparatem cyfrowym.

Wśród testowanych roślin pokolenia F_4BC_1 , odnotowano obiekty o odporności na FHB zbliżonej do odpornej odmiany rodzicielskiej Sumai3, a mianowicie: rodzina BIIIS-256 (obiekty 23, 24 i 32), BIIIS-284 (41, 42 i 45), AIIIS-446 (185, 187 i 190), AIIIS-447 (202, 205 i 210), AIIIS-538 (226, 236, 238 i 239) i BIIIS-156 (275). W przypadku rodzin F_3BC_2 , najniższy poziom porażenia kłosów odnotowano dla rodzin AIII62, AIII75, AIII258, AIII474 i AIII490.

Analiza kompozycji genomowej roślin F_2BC_1 i F_2BC_2 .

Analiza kompozycji genomowej (kompleksowe profilowanie DNA) została przeprowadzona dla form rodzicielskich (Muszelka, STH537, Scarlet-Gpc-B1 i Sumai3) oraz roślin pokolenia F_2BC_1 (z roku 2011) i F_2BC_2 (z roku 2012): F2BC2A46, F2BC2A62, F2BC2A75, F2BC2A97, F2BC2A258, F2BC2A311, F2BC2A380, F2BC2A406, F2BC2A451, F2BC2A474, F2BC2A490, F2BC2B149, F2BC2B244, F2BC2B483, F2BC2B554, F2BC1A443, F2BC1A446, F2BC1A467, F2BC1A538, F2BC1A587, F2BC1B156, F2BC1B244, F2BC1B256, F2BC1B284, F2BC1B286, F2BC1B323, F2BC1B338, F2BC1B401, F2BC1B687 i F2BC1B739 (uwaga: w nazwie linii zawarta jest informacja o pokoleniu oraz rodzicu wypierającym, tj. "A" i "B" oznaczające odpowiednio Muszelkę i STH537, a nadany numer koresponduje z nazwą linii potomnej testowanej w doświadczeniu tunelowym). Z zachowanego materiału roślinnego wyizolowano DNA, które wysłano do analiz molekularnych. Kompleksowe profilowanie genomu zostało wykonane przez Diversity Arrays Technology Pty Ltd (Australia). Wykorzystując technologię DArTseq wygenerowano informację dla 18238 *loci*. Spośród nich, 4966 i 4964 było polimorficzne przynajmniej dla jednego z rodziców, odpowiednio w kombinacji z rodzicem wypierającym Muszelką i STH537.

Przy użyciu oprogramowania komputerowego GGT2 (GraphicalGenoTypes 2.0; <http://www.plantbreeding.wur.nl>) przedstawiono graficznie układ alleli rodzicielskich w całym genomie badanych roślin. Stosując analizę skupień metodą najbliższego sąsiedztwa (miarę odległości przyjęto udział tych samych alleli) wyróżniono najbardziej zbliżone pod względem profilu DNA do rodzica wypierającego następujące rośliny: F2BC1A587, F2BC2A406, F2BC1B687, F2BC1B739 i F2BC2B149.

Szczególnie baczna uwagę zwrócono w analizie kompozycji alleli na chromosomy 3B, 5A i 6B, które w trakcie prowadzonej selekcji wspomaganą markerami molekularnymi starano się wysycić w jak największym stopniu allelami rodziców wypierających przy jednoczesnym utrzymaniu genów dawców. W przypadku chromosomu 3B, zdecydowana większość zawiera segment chromosomu 3B z odmiany Sumai3 (dawcy *Qfhs.ndsu-3BS* warunkujący odporność na fuzariozę kłosa). Jedynie w przypadku roślin F2BC1B739, F2BC1B323 i F2BC1B286 można mieć wątpliwości odnośnie występowania QTL odporności. Prawdopodobny brak *Qfhs.ifa-5AS* (warunkujący odporność na FHB) można zaobserwować dla roślin F2BC1A443, F2BC1B739 i F2BC1B323. Brak wymienionych QTL odporności na FHB koresponduje z wysokim stopniem porażenia kłosa (40-60%) zanotowanym w przeprowadzonym teście odporności dla linii potomnych pokolenia F_4BC_1 . Natomiast, rośliny rodzin F_3BC_2 AIII311, AIII380, AIII406 i BIII554 mimo prawdopodobnej obecności QTL odporności na chromosomach 3B i 5A charakteryzowały się również wysokim (50-70%) stopniem porażenia kłosów przez patogena. Przyczyny można upatrywać w niekorzystnym układzie alleli dla pozostałej części genomu, który negatywnie (supresja) wpływa na poziom ekspresji *loci* odporności. W przypadku chromosomu 6B znakomita większość badanych obiektów posiada segment chromosomu 6B pochodzący z odmiany Scarlet, który zawiera *locus* warunkujący podwyższoną zawartość białka w ziarnie i blisko z nim sprzężony gen odporności na rdzę żółtą *Yr36*. Natomiast, wydaje się mało prawdopodobne aby następujące rośliny zawierały pożądaną segment 6B dawcy (Scarlet): F2BC2A451, F2BC1B739 i F2BC1B286.

Podsumowując, spośród rodzin F_3BC_2 wysoki poziom odporności na FHB reprezentują rodziny AIII62 i AIII75, które zostały wyprowadzone z roślin F_2BC_2 o potwierdzonej obecności QTL-i odporności na chromosomach 3B i 5A. Na podstawie przeprowadzonych analiz molekularnych stwierdzono, że wspomniane linie zawierają również gen odporności na rdzę żółtą *Yr36* i gen *Gpc-B1* warunkujący podwyższoną zawartość białka w ziarnie.

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

Materiał badawczy stanowiły 144 genotypy pszenicy ozimej z doświadczeń wstępnych 2012/13 oraz 271 genotypów pochodzących z 5-ciu różnych rejonów uprawy pszenicy. Ponadto materiałem badawczym było 29 genotypów, które w poprzednich 2-ach latach badań zostały wytypowane jako wysoce odporne. Ogółem w roku sprawozdawczym przebadano 444 genotypy pszenicy ozimej.

Jesienią 2012 roku w Grodkowicach i w Krzeczowicach 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 rdzą brunatną wszystkich genotypów pszenicy. Rośliny inokulowano w stadium przed kłoszeniem przez oprysk zawiesiną uredospor, mieszaniną patotypów *P. triticina*

Ocenę porażenia rdzą brunatną genotypów pszenicy przeprowadzono w Grodkowicach i w Krzeczowicach 3-krotnie w oparciu o wizualną skalę 9-cio stopniową: 9. wysoka odporność, 1. wysoka wrażliwość. Celem określenia poziomu odporności badanych genotypów na rdzę brunatną, 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 badań większe nasilenie rdzy brunatnej obserwowano w Krzeczowicach zwłaszcza na przełomie czerwca i lipca. W obu miejscowościach zakres porażenia dla badanych genotypów pszenicy wynosił 9-3 w skali 9-cio stopniowej.

Spośród 144 badanych genotypów z doświadczeń wstępnych jedynie 15 odznaczało się wysokim poziomem odporności polowej i niską wartością AUDPC zarówno w Grodkowicach jak i Krzeczowicach. Współczynnik zmienności CV=16,9% dla Grodkowic wskazuje na niewielkie zróżnicowanie badanego materiału pod względem odporności na *P. triticina*. W Krzeczowicach, gdzie rdza wystąpiła w większym nasileniu stwierdzono większe zróżnicowanie obiektów przy współczynniku zmienności CV=24,7%.

Spośród 271 badanych obiektów z 5-ciu rejonów uprawy wysoką odporność na rdzę notowano u 45 i 50 form odpowiednio w Grodkowicach i Krzeczowicach. Przy czym w Krzeczowicach z uwagi na większe nasilenie choroby, notowano znaczną liczbę genotypów (109), o wysokiej wrażliwości.

Ocena materiału badawczego w obu miejscowościach pozwoliła na wyodrębnienie spośród form z doświadczeń wstępnych 7 genotypów pszenicy o wysokim poziomie odporności polowej. W roku sprawozdawczym w badaniach brało udział 29 genotypów z doświadczeń wstępnych, które na podstawie wyników uzyskanych w poprzednich latach badań zostały wyodrębnione jako wysoce odporne na rdzę brunatną. Genotypy te również w tegorocznych badaniach charakteryzowały się wysoką odpornością polową oraz niską wartością krzywej rozwoju choroby AUDPC.

Wyodrębnione w trakcie badań genotypy pszenicy o wysokiej odporności w stadium rośliny dorosłej stanowią interesujący materiał jako źródła odporności na rdzę brunatną *P. triticina*. Wyniki badań mogą stanowić podstawę do opracowania bazy genetycznej odpornych genotypów, określenia sposobu dziedziczenia i przekazywania odporności. Wśród badanych obiektów notowano stosunkowo niewielki udział wysoce odpornych genotypów. W związku z powyższym celowym są ciągle prace nad poszukiwaniem źródeł odporności spośród różnych materiałów hodowlanych pszenicy.

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. Szecówka

Pszenica ozima

Wśród badanych cech we wszystkich obiektach pszenicy ozimej największą średnią zmienność zaobserwowano dla cech uwzględniających właściwości reologiczne ciasta tj. czas stałości (CV=81%), liczba jakości (CV=74%), rozmiękczenie (CV=40%) oraz energia ciasta (CV=40%). Wśród cech oceny skróconej, najwyższą średnią zmienność zaobserwowano dla liczby opadania (CV=29%) i liczby sedimentacji (CV=29%).

Część materiału posiadała obniżoną jakość ze względu na występujący porost, który obniżał przydatność technologiczną ziarna (niska liczba opadania). Na podstawie pełnej oceny technologicznej wytypowano 126 obiektów pszenicy ozimej charakteryzującej się cechami przydatności:

- E - elitarnie – 2,
- mąki jakościowe o bardzo dobrych cechach wypiekowych: 32,
- mąki chlebowe o przeciętnych cechach jakościowych: 56,
- C - odmiany o złych cechach jakościowych, do przeznaczenia na paszę i inne cele: 36.

Wyniki oceny badanych obiektów pszenicy ozimej porównywane były do wzorców: Tonacja, Muszelka i Ozon.

Przeprowadzona analiza korelacji badanych cech wśród obiektów pszenicy ozimej wykazała istotną, na wysokim poziomie współzależność pomiędzy % zawartości białka w suchej masie, a zawartością glutenu mokrego. W zakresie właściwości reologicznych istotną korelację na wysokim poziomie zaobserwowano pomiędzy czasem stałości i liczbą jakości. Liczba sedimentacji, będąca wskaźnikiem jakości wypiekowej mąki była istotnie skorelowana ze wszystkimi cechami na poziomie niskim za wyjątkiem liczby wartości chleba, gdzie korelacja była bliska 0 i nie istotna.

W celu porównania ze sobą pod względem jakościowym badanych rodów przeprowadzono analizę wielowymiarową (wielozmiennego) zróżnicowania pomiędzy badanymi liniami oraz wzorcami, wykorzystano analizę głównych składowych Hotellinga (PCA) opartą na macierzy korelacji.

Do wskazania składowych głównych opisujących w znaczący sposób obserwowaną zmienność pomiędzy badanymi liniami oraz wzorcami wykorzystano kryterium wartości własnej (tzw. kryterium Kaisera). Dla tak wybranych składowych wyznaczono wartości ładunków oraz przygotowano wykresy prezentujące przestrzenne zróżnicowanie pomiędzy badanymi obiektami w układzie dwóch pierwszych składowych głównych. Obliczenia wykonano w pakiecie R.

Analiza wielowymiarowa cech wartości technologicznej wśród rodów pszenicy ozimej HR Danko wykazała, że jedynie cztery pierwsze składowe główne w znaczący sposób opisywały obserwowaną wielowymiarową zmienność pomiędzy badanymi obiektami. Łącznie 4 składowe opisywały 81,4% zmienności. Pierwsza składowa (32,6% zmienności) budowana była przez: L.S. z SDS (wpływ ujemny); Rozmiękczenie ciasta, (wpływ dodatni); Energia ciasta (wpływ ujemny). Druga składowa (20,4% zmienności) budowana była przez % białka (wpływ ujemny) i Objętość chleba (wpływ ujemny). Trzecia składowa (15,3% zmienności) budowana była przez L.O. (wpływ ujemny). Czwarta składowa (13,1% zmienności) budowana była przez Wodochłonność (wpływ ujemny) i Wymiał (wpływ dodatni).

Analiza wielowymiarowa cech wartości technologicznej wśród rodów pszenicy ozimej Małopolskiej HR wykazała, że jedynie trzy pierwsze składowe główne w znaczący sposób opisywały obserwowaną wielowymiarową zmienność pomiędzy badanymi obiektami. Łącznie 3 składowe opisywały 72,6% zmienności. Pierwsza składowa (38,2% zmienności) budowana była przez L.S. z SDS (wpływ ujemny). Druga składowa (20,8% zmienności) budowana była przez Wodochłonność (wpływ dodatni). Trzecia składowa (13,6% zmienności) budowana była przez Objętość chleba (wpływ ujemny).

Analiza wielowymiarowa cech wartości technologicznej wśród rodów pszenicy ozimej HR Smolice wykazała, że jedynie trzy pierwsze składowe główne w znaczący sposób opisywały obserwowaną

wielowymiarową zmienność pomiędzy badanymi obiektami. Łącznie te 3 składowe opisywały 72,6% zmienności. Pierwsza składowa (48,5% zmienności) budowana była przez L.S. z SDS (wpływ ujemny). Druga składowa (16,1% zmienności) budowana była przez % białka (wpływ ujemny) i Obj. chleba (wpływ ujemny). Trzecia składowa (13,2% zmienności) budowana była przez L.O. (wpływ dodatni).

Analiza wielowymiarowa cech wartości technologicznej wśród rodów pszenicy ozimej HR Strzelce wykazała, że jedynie trzy pierwsze składowe główne w znaczący sposób opisywały obserwowaną wielowymiarową zmienność pomiędzy badanymi obiektami. Łącznie te 3 składowe opisywały 77,3% zmienności. Pierwsza składowa (43,3% zmienności) budowana była przez Rozmiękczenie ciasta (wpływ dodatni). Druga składowa (18,6% zmienności) budowana była przez L.O. (wpływ ujemny). Trzecia składowa (15,3% zmienności) budowana była przez Obj. chleba (wpływ ujemny) oraz Wymiał (wpływ dodatni).

Pszenica jara

Wśród badanych cech we wszystkich obiektach pszenicy jarej największą średnią zmienność zaobserwowano dla cech uwzględniających właściwości reologiczne ciasta tj. czas stałości (CV=55%), liczba jakości (CV=51%), rozmiękczenie (CV=24%) oraz energia ciasta (CV=31%).

Na podstawie pełnej oceny jakościowej określono przydatność technologiczną mąki 28 badanych obiektów pszenicy jarej:

- mąki jakościowe o bardzo dobrych cechach wypiekowych: 14,
- mąki chlebowe o przeciętnych cechach jakościowych: 11,
- C - odmiany o złych cechach jakościowych, do przeznaczenia na paszę i inne cele: 3.

Wyniki oceny badanych obiektów pszenicy jarej porównywane były do wzorców Tybalt Trappe i KWS Torridon.

Przeprowadzona analiza wielowymiarowa cech wartości technologicznej wśród rodów pszenicy jarej HR Henryków wykazała, że jedynie trzy pierwsze składowe główne w znaczący sposób opisywały obserwowaną wielowymiarową zmienność pomiędzy badanymi obiektami. Łącznie te 3 składowe opisywały 68,0% zmienności. Pierwsza składowa (33,2% zmienności) budowana była przez % białka (wpływ ujemny) oraz Rozmiękczenie ciasta (wpływ dodatni). Druga składowa (20,9% zmienności) budowana była przez Wodochłonność (wpływ dodatni) oraz Wymiał (wpływ ujemny). Trzecia składowa (14,0% zmienności) budowana była przez Energię ciasta (wpływ ujemny) oraz Objętość chleba (wpływ dodatni).

Analiza wielowymiarowa cech wartości technologicznej wśród rodów pszenicy jarej HR Strzelce wykazała, że jedynie trzy pierwsze składowe główne w znaczący sposób opisywały obserwowaną wielowymiarową zmienność pomiędzy badanymi obiektami. Łącznie 3 składowe opisywały 85,9% zmienności. Pierwsza składowa (39,4% zmienności) budowana była przez L.S. z SDS (wpływ ujemny). Druga składowa (29,0% zmienności) budowana była przez Objętość chleba (wpływ ujemny). Trzecia składowa (17,6% zmienności) budowana była przez Rozmiękczenie (wpływ dodatni).

Podsumowanie:

Wartości zmienności poszczególnych badanych cech oraz ich wzajemne powiązanie jest typowe dla obiektów pszenicy ozimej i jarej. Wieloletnie wyniki badań z zakresu oceny przydatności technologicznej pszenicy ozimej i jarej wskazują na postęp hodowlany, którego efektem jest wzrost ilości pszenic z klasy A i B, a więc o najwyższej przydatności technologicznej mąki.

W tegorocznych badaniach odnaleziono dwa rody o klasie E (KBP 08 14 i POB 307/09).

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 13.

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

Kierownik projektu: dr T. Śmiałowski

Prace realizowane były w 5 zadaniach;

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.

Prace obejmowały rozłosoowanie, dla wszystkich zadań łącznie, 138 doświadczeń z 1054 obiektami: pszenicy ozimej i jarej, pszenżyta ozimego i jarego, żyta ozimego, jęczmienia ozimego i jarego i owsa oplewionego i nagoziarnistego. Na podstawie wykonanych rozłosoowań opracowano karty obserwacji i książki polowe, które przekazano wykonawcom doświadczeń. W trakcie wegetacji przeprowadzono lustracje polowe wybranych doświadczeń, sprawdzono zakres obserwacji i ocen oraz zawansowanie i jakość wykonywanych analiz.

W oparciu o wspólne ustalenia i przekazane karty obserwacji po zakończeniu prac polowych i doświadczeń laboratoryjnych, na podstawie zebranych i zestawionych plonów ziarna, pomiarów, obserwacji i analiz, przeprowadzono obliczenia statystyczne obejmujące syntezy plonów i cech botanicznych, rolniczych i jakościowych oraz analizę zmienności i genetycznego uwarunkowania cech. Do realizacji zaplanowanych w temacie analiz wykorzystano własne programy obliczeniowe (TP-7), Eksplan (2), SAS EG oraz aplikacje dostępne w pakiecie Office.

Podstawowe obliczenia obejmowały analizy wariancji dla każdej miejscowości, łączne syntezy (analizy wariancji plonów dla wszystkich miejscowości), średnie wartości z powtórzeń dla plonu w miejscowościach i średnie z miejscowości, średnie wartości dla pozostałych cech badanych rodów i odmian w każdym zadaniu tj. pszenicy, pszenżyta, żyta, jęczmienia i owsa oraz tabele zbiorcze plonów i cech.

Dla każdego zadania wykonana 3 opracowania:

1. Syntezy plonu z pojedynczych miejscowości:
 - analizę wariancji dla każdej miejscowości i łączną analizę wariancji dla plonu z wszystkich miejscowości,
 - 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. Tabele zbiorcze syntezy cech rolniczych uszeregowano malejąco lub rosnąco, obejmowały one:
 - 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.

Badaniami objęto 5 gatunków zbóż: pszenicę, pszenżyto, żyto, jęczmień i owies w 15 miejscowościach w różnych seriach doświadczeń (łącznie 138 układów dla 5 zadań). Razem przebadano 1054 obiektów. W trakcie badań wykonano obserwacje, pomiary i analizy 241 cech. Spektrum badanych cech obejmowało oceny wschodów siewek, przezimowania, mrozoodporności w

warunkach naturalnych i prowokacyjnych, oceny stopnia porażenia na choroby w warunkach naturalnych i prowokacyjnych (sztuczna infekcja), oceny podatności na wyleganie w 2 terminach, pomiary wysokości roślin, dat wczesności kłoszenia i dojrzwania. Po zebraniu ziarna z poletek (plon zważono dla wilgotności ziarna przeliczonej na 15% H₂O) zważono masę 1000 ziaren, masę hektolitra, oznaczono zawartość białka, liczbę opadania, liczbę sedymentacji, zawartość skrobi, składników mineralnych (popiołu), procent łuski i procent ziaren z łuską.

Stosownie do założonego celu tematu, badane cechy poddawane były obliczeniom statystycznym mającym na celu poznanie ich genetycznego uwarunkowania i zakresów zmienności.

Na podstawie obliczeń zestawiono średnie wartości plonów (x_{ij}), zmienności (CV%) i wskaźników genetycznego uwarunkowania (H) dla badanych w ww. zadaniach gatunków zbóż.

Wyniki badań:

Najwyższym przeciętnym plonem wyróżniły się odmiany pszenicy ozimej (84,7 (dt/ha) i pszenżyta jarego 78,6 (dt/ha) oraz pszenżyta ozimego 78,9 (dt/ha), najniższym owies jary nagoziarnisty 49,1 (dt/ha). Cecha ta charakteryzowała się znaczną zmiennością wahającą się od silnego zróżnicowania stwierdzonego dla jęczmienia jarego pastewnego - CV=34,1% do bardzo niskiego u jęczmienia ozimego dwurzędowego - CV=13,7%. Pszenica ozima odznaczała się również wysokim zróżnicowaniem plonu: CV=22,5%. Wysokie zróżnicowanie plonu badanych zbóż sprzyjało wyodrębnieniu najplenniejszych obiektów. Najplenniejszym obiektem wśród badanych zbóż okazał się ród pszenicy ozimej DD-100/09 osiągając bardzo wysoki plon 95,1 (dt/ha) tj. 112,2% wzorca. Niespodziewanie wysoko plonowało pszenżyto jare, a ród DC-06177-49 osiągnął bardzo wysoki plon 84,8 (dt/ha) tj. 115% wzorca. Pszenżyto ozime plonowało tylko nieznacznie słabiej ale ród MAH 33881-14 osiągnął imponujący plon 93,6 (dt/ha) tj. 117% w stosunku do średniej 2 odmian wzorcowych. Cenne i powszechnie uprawiane w kraju zboże jakim jest żyto ozime plonowało tylko nieznacznie niżej od pszenicy i pszenżyta, a najplenniejszy mieszańiec DC-1123 osiągnął wysoki plon 94,1 (dt/ha) tj. 107% średniej plonu wzorcowych odmian mieszańcowych. Ważne w bilansie paszowym i wykorzystywane w przemyśle browarnym rody jęczmienia jarego plonowały na poziomie, co jest zaskoczeniem, wyższym od jęczmienia ozimego. Rekordowy plon w br uzyskał owies oplewiony - 76,3 dt/ha a najplenniejszy ród STH-3.3 osiągnął 81,6 (dt/ha). Wskaźniki genetycznego uwarunkowania dla plonu u badanych zbóż były bardzo wysokie. Najwyższy wskaźnik (H) odnotowano dla żyta ozimego co świadczy o dużej uniwersalności tego zboża, którego plon stabilnie reaguje na różne warunki środowiska (lokalizacje). Również wysokie wartości wskaźnika (H) powyżej 0,8 stwierdzono u pszenicy ozimej i jarej, pszenżyta ozimego, jęczmienia jarego pastewnego i owsa nagoziarnistego, a tylko nieznacznie niższe dla pozostałych zbóż. Uzyskane wyniki wskazują, że plonowanie nowo hodowanych gatunków zbóż powinno być stabilne i w małym stopniu zależnie od czynników wynikających z lokalizacji doświadczenia (środowiska). Przeprowadzona w różnych warunkach środowiskowych ocena polowa i laboratoryjna umożliwiła dokonanie szerokiej charakterystyki badanych odmian, linii, mieszańców i rodów pod względem wielu cech. Grupy cech takich jak wysokość, termin kłoszenia masa 1000 ziaren, podatność na wyleganie, mączniaka odnotowywane są dla wszystkich gatunków zbóż a inne specyficzne tylko dla wybranych gatunków np. % łuski dla owsa oplewionego lub % ziaren z łuską dla owsa nagoziarnistego. Obiekty badanych zbóż wchodziły w interakcje ze środowiskiem co potęgowało zróżnicowanie cech morfologicznych i botanicznych. Badane zboża odznaczały się szerokim spektrum cech np. wysokość roślin wahała się od 171 cm u owsa oplewionego do 72,6 cm u jęczmienia jarego pastewnego. Inna ważna cecha, podatność na wyleganie wahała się od niskich wartości - 4,2° dla żyta ozimego, do 8,6° dla jęczmienia jarego pastewnego (skala 1-9), gdzie 1 - ocena słaba, 9- ocena doskonała. Analiza zawartości białka w ziarnie ujawniła również znaczne różnice pomiędzy gatunkami, od niskich wartości dla pszenżyta jarego - 10,5% do wysokich - 14,7% dla jęczmienia ozimego wielorzędowego. Zmienność badanych cech charakteryzowała się również dużą rozpiętością. Najwyższą zmienność stwierdzono dla liczby opadania u żyta - CV=45.6 % i pszenżyta ozimego CV=43.2 %, natomiast niskie zmienności dla terminu kłoszenia u wszystkich badanych zbóż.

Wyniki badań prezentowano na 2 konferencjach oraz wyjazdach służbowych:

Konferencja Nauka dla Hodowli Roślin Uprawnych, Zakopane, luty 2013. Celem była prezentacja oraz konsultacja wyników prac w temacie „Analiza zmienności genotypowo - środowiskowej oraz genetycznego uwarunkowania ważnych cech u zbóż.”

43 Międzynarodowe Colloquium Biometryczne, Siedlce, wrzesień 2013. Celem była prezentacja pracy pt. „Analiza zmienności genotypowo - środowiskowej oraz genetycznego uwarunkowania ważnych cech u zbóż” oraz konsultacje z innymi naukowcami z kraju i zagranicy dotyczącymi metodyki, najnowszych osiągnięć z zakresu statystyki i doświadczalnictwa.

Wnioski:

- Wykonana w oparciu o wyniki plonowania i obserwacji pozostałych cech botanicznych i rolniczych analiza statystyczna wykazała bardzo wysoką precyzję doświadczeń.
- Wykonany szeroki zakres obserwacji, pomiarów i analiz najważniejszych cech botanicznych, morfologicznych i rolniczych umożliwił analizę zmienności badanych genotypów.
- Stosownie do zaplanowanego celu badań przeprowadzona analiza zmienności ujawniła dużą rozpiętość plonów i cech badanych gatunków zbóż. Wyniki wskazują duże możliwości wyodrębniania najlepszych genotypów pod względem plonowania oraz ważnych cech rolniczych.
- Uzyskane wyniki stanowią podstawę wykonania pogłębionych analiz zmienności środowiskowo-genotypowej, zależności fenotypowo-genotypowej cech, oceny stabilności badanych gatunków.

Wyniki są sukcesywnie udostępnione zainteresowanym placówkom oraz prezentowane na konferencjach i sympozjach naukowych w postaci referatów i plakatów oraz w formie publikacji.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 18.

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

Kierownik projektu: dr hab. I. Kolasińska prof. IHAR-PIB

Cel badań:

1. Identyfikacja efektywnych restorerów wśród genotypów, pochodzących z różnych populacji żyta oraz określenie ich zdolności przywracania płodności u mieszańców F_1 z cytoplazmą Pampa.
2. Porównanie efektywności działania zróżnicowanych genetycznie restorerów oraz określenie możliwości ich wykorzystania do dalszych badań genetycznych oraz prowadzenia kumulacji różnych genów przywracania męskiej płodności w restorerach nowej generacji.
3. Określenie sposobu dziedziczenia przywracania płodności pylników u wybranych, pełnych restorerów.

Material badawczy:

- Linie wsobne wyprowadzone z polskich populacji żyta – odmian i rodów (R-pol),
- Linie wsobne wyprowadzone z tureckich populacji miejscowych żyta (R-tur),
- Linie wsobne pochodzące z nowoczesnych puli genowych żyta (R-pop),
- Linie restorery efektywnie przywracające męską płodność,
- Populacje mieszańcowe wytworzone w wyniku krzyżowania linii o różnej zdolności przywracania płodności z grupy R-pol,
- Linia męskosterylna z cytoplazmą Pampa (343P) uznana za trudną do przywrócenia męskiej płodności,
- Męskosterylny mieszańiec pojedynczy, jako CMS-tester trudny do przywrócenia płodności (CMS-Tt),
- Mieszańce testowe wytworzone poprzez krzyżowanie CMS-Tt z liniami wsobnymi i populacjami różnego pochodzenia,
- Mieszańce pokolenia F_1 pochodzące z krzyżowania linii 343P z pełnymi restorerami wyprowadzonymi z udziałem tureckich populacji oraz roślinami populacji IRAN IX.

Metodyka prac:

– Zdolność przywracania płodności różnych genotypów żyta określano poprzez krzyżowanie ich z CMS testerem trudnym do przywrócenia płodności (CMS-Tt) i ocenę męskiej płodności mieszańców testowych,

- Krzyżowania testowe linii wsobnych z męskosterylnym testerem wykonano ręcznie, używając kilku pojedynczych roślin lub grupy roślin pomiędzy ekranami izolacyjnymi. Jednocześnie wykonano samozapylenie użytych w krzyżowaniach roślin ojcowskich,
- Siew mieszańców z w/w krzyżowań wykonano ręcznie w polu i/ lub w tunelach foliowych oraz siewnikiem na poletkach obserwacyjnych,
- Wstępną ocenę płodności mieszańców testowych prowadzono metodą wizualnej bonitacji w skali 1–9° intensywności pylenia kłosów roślin na poletkach obserwacyjnych lub w doświadczeniach (Geiger i Morgenstern, 1975),
- Szczegółową ocenę płodności mieszańców testowych oraz mieszańców pokolenia F₁ prowadzono poprzez oznaczanie sterility/płodności pojedynczych roślin metodą wizualnej bonitacji pylników w skali 1–9° (Morgenstern, 1983), przy czym 1 oznacza pylniki silnie zdegenerowane, puste i niepękające, 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 procentowy udział roślin o różnym stopniu sterility/płodności oraz wyznaczono indeks restoracji według wzoru: $IR = \% mf + 1/2 \% pmf$.

Omówienie wyników:

Wstępna ocena zdolności przywracania płodności 528 różnych genotypów pochodzących z polskiej populacji żyta wykazała, że przeważająca większość (88,5%) spośród nich w niewielkim stopniu przywróciła męską płodność mieszańców testowych. W badanej grupie genotypów udział efektywnych restorerów był niewielki (3%). Ocenę zdolności przywracania płodności grupy 56 linii wsobnych pokolenia S₂ wyprowadzonych z nowoczesnych populacji przeprowadzono metodą wizualnej bonitacji pylników w skali 1–9° pojedynczych roślin mieszańców testowych w warunkach tuneli foliowych i w polu. Przeważająca większość linii (68%) okazała się efektywnymi restorerami płodności (IR ponad 70%). Indeks restoracji ponad 90% w warunkach polowych wykazała prawie połowa linii (46%), a w obu warunkach uprawy 37,5% linii. Pięć linii wytworzyło mieszańce składające się ze 100% roślin całkowicie płodnych w obu warunkach uprawy. Mieszańce testowe tej grupy genotypów charakteryzowały się trochę wyższą płodnością pylników w warunkach polowych niż w warunkach tuneli foliowych. Oba wskaźniki – procent roślin płodnych i IR były o około 10% wyższe dla mieszańców uprawianych w polu niż w tunelach foliowych. Wykazano ścisły związek pomiędzy wynikami płodności pylników mieszańców oznaczonej w warunkach polowych oraz w tunelach. Korelacja pomiędzy płodnością w polu i w tunelu była wysoka i istotna na poziomie $\alpha=0.01$. Współczynniki korelacji wynosiły dla procentowego udziału roślin płodnych – 0.84**, a dla indeksu restoracji – 0.87**.

W 2013 roku przeprowadzono porównanie zdolności przywracania płodności 21 dotychczas zidentyfikowanych genotypów o zadawalającej i pełnej zdolności przywracania płodności. W tym celu przeprowadzono ocenę męskiej płodności roślin mieszańców testowych uzyskanych poprzez krzyżowanie tych restorerów z CMS-Tt w tunelach foliowych i w polu. Zdecydowana większość spośród tych genotypów (76,2%) wykazała pełną zdolność przywracania płodności w warunkach polowych (IR ponad 70%). Na szczególne wyróżnienie zasługuje 7 genotypów (33,3%), których mieszańce testowe zawierały 100% całkowicie płodnych roślin w obu warunkach uprawy.

Rozpoczęto badania nad porównaniem sposobu dziedziczenia sterility/płodności pylników u dwóch grup genów restorujących – donorów R-tur i IRAN IX. Wykonano krzyżowanie roślin donorów R-tur i populacji IRAN IX z tymi samymi, pojedynczymi roślinami linii męskosterylnej 343P. Oceniono sterility/płodność pylników ogółem 1300 roślin u 40 mieszańców pokoleniu F₁. Samozapyłono 230 pojedynczych roślin i ich nasiona wysiano do kontynuacji badań. Okazuje się jednak, że badanie tego problemu w dalszych latach zaproponowane w projekcie „Genetyczna determinacja zdolności przywracania męskiej płodności w cytoplazmie Pampa u żyta” nie będzie kontynuowane.

Wnioski:

- Stwierdzono bardzo niską frekwencję (3%) pełnych restorerów płodności w CMS-Pampa wśród nowej grupy linii wsobnych wyprowadzonych z polskiej populacji żyta,
- Wysoką frekwencję pełnych restorerów (68%) stwierdzono w grupie genotypów pochodzących z nowoczesnych puli genowych (R-pop), a pięć z nich wytworzyło mieszańce składające się ze 100% roślin całkowicie płodnych w obu warunkach uprawy,

- Pięć restorerów wyprowadzonych z udziałem populacji tureckich potwierdziło pełną zdolność przywracania płodności pylników oraz zadawalający poziom cech użytkowych,
- Porównanie efektywności działania zgromadzonych restorerów różnego pochodzenia wykazało, że siedem z nich charakteryzuje się pełną i stabilną zdolnością przywracania płodności pylników mieszańców testowych (%mf=100),
- Pełne restorery, pochodzące z trzech grup genotypów (R-pol, R-tur, R-pop), stanowią doskonały materiał roślinny do badań genetycznych nad określeniem sposobu dziedziczenia przywracania płodności w systemie CMS-Pampa oraz donory różnych genów *Rf*, które mogą być skumulowane w pełnych i stabilnych restorerach nowej generacji.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 19.

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

Kierownik projektu: dr hab. I. Kolasińska prof. IHAR-PIB

Cel badań:

Określenie znaczenia ogólnej i swoistej zdolności kombinacyjnej u różnych genotypów żyta w zróżnicowanych warunkach środowiska.

Materiał badawczy:

- Mieszańce eksperymentalne pokolenia F_1 pochodzące z krzyżowania w układzie czynnikowym zróżnicowanych męskosterylnych komponentów matecznych z trzema różnymi populacjami ojcowskimi,
- mieszańce eksperymentalne pokolenia F_1 uzyskane w wyniku krzyżowania zróżnicowanych czterech męskosterylnych mieszańców pojedynczych ze spokrewnionymi populacjami ojcowskimi,
- komponenty mateczne to męskosterylne mieszańce pojedyncze (CMS-SC) z cytoplazmą Pampa, w tym: CMS-SC pochodzące z tej samej puli genowej i CMS-SC specjalnie wytworzone w wyniku krzyżowania linii P i N wyprowadzonych z różnych puli genowych.
- komponenty ojcowskie stanowiły wybrane zróżnicowane pochodzeniem populacje żyta oraz spokrewnione (półsiotrzone) populacje specjalnie wytworzone dla tych badań.

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 oraz wytworzenie mieszańców eksperymentalnych prowadzono w tunelach foliowych oraz na polach przestrzennie izolowanych.

Doświadczenia polowe (D01_13, D02_13, D03_13) założono metodą bloków niekompletnych w trzech powtórzeniach, powierzchnia poletek - 5 m², gęstość siewu - 250 kielkujących ziaren na 1m² w trzech zróżnicowanych warunkach środowiska. Oceniono cechy użytkowe tj.: plon ziarna (dt/ha), wysokość roślin (cm), termin kłoszenia (liczba dni od 1.05), intensywność pylenia (skala 1-9^o), porażenie mączniakiem prawdziwym, porażenie rdzą brunatną (skala 1-9^o), wyleganie (skala 1-9^o), masa 1000 ziaren (g). Obliczenia statystyczne wykonano przy pomocy programów komputerowych Sergen i Eksplan. Przeprowadzono analizy i syntezy genetyczno-statystyczne doświadczeń obejmujące ogólną analizę zmienności, analizę zmienności wartości kombinacyjnej oraz oszacowanie wartości i istotności efektów ogólnej (GCA) i swoistej zdolności kombinacyjnej (SCA) i określenie ich interakcji ze środowiskiem.

Omówienie wyników:

W sezonie 2012/2013 prowadzono głównie badania nad określeniem znaczenia ogólnej (GCA) i swoistej zdolności kombinacyjnej (SCA) w całkowitej zmienności genetycznej u zróżnicowanych komponentów matecznych oraz wybranych, zróżnicowanych pochodzeniem komponentów ojcowskich. Badaniami objęto ogółem 87 mieszańców eksperymentalnych pok. F_1 pochodzących z krzyżowania 29 zróżnicowanych komponentów matecznych (CMS-SC) z trzema populacjami

ojcowskimi w trzech doświadczeniach polowych (D01_13, D02_13 i D03_13) zlokalizowanych w trzech miejscowościach. Analiza wariancji wykazała istotną zmienność środowiska oraz istotną zmienność mieszańców pod względem wszystkich cech użytkowych we wszystkich trzech doświadczeniach. W każdym doświadczeniu interakcja genotypu ze środowiskiem okazała się istotna dla większości cech użytkowych. We wszystkich doświadczeniach stwierdzono istotną interakcję genotypu ze środowiskiem dla wysokości roślin i porażenia rdzą brunatną. Analiza wariancji wartości kombinacyjnej wykazała istotne różnicowanie komponentów maticznych pod względem większości cech użytkowych. We wszystkich doświadczeniach komponenty maticzne wykazały istotną zmienność ogólnej zdolności kombinacyjnej dla cech: plon ziarna, wysokość roślin, masa 1000 ziaren i pylenie mieszańców, czyli wpływu na stopień przywrócenia ich płodności. W dwóch doświadczeniach stwierdzono istotną zmienność GCA matek dla wczesności kłoszenia oraz porażenia mączniakiem i rdzą brunatną. Komponenty maticzne nie wykazały istotnej zmienności GCA dla wylegania. Wyniki wszystkich trzech doświadczeń wskazują, że wybrane komponenty ojcowskie istotnie różniły się ogólną zdolnością kombinacyjną dla wszystkich cech z wyjątkiem porażenia mączniakiem i rdzą brunatną. Zmienność swoistej zdolności kombinacyjnej (SCA) najczęściej była istotna wśród par rodzicielskich pod względem takich cech jak: wysokość roślin, masa 1000 ziaren i stopień przywrócenia płodności (pylenie). Zmienność SCA we wszystkich grupach par rodzicielskich okazała się nieistotna dla porażenia mączniakiem i wylegania. Istotną zmienność SCA dla plonu, wczesności kłoszenia i porażenia rdzą wykazano tylko w jednej grupie par rodzicielskich. Istotną interakcję GCA matek ze środowiskiem najczęściej stwierdzono dla genotypów ocenianych w doświadczeniach D01_13 i D02_13 dla cech: wczesność kłoszenia, intensywność pylenia i porażenie mączniakiem. Interakcja GCA ojców ze środowiskiem najczęściej była istotna dla plonu, pylenia i masy 1000 ziaren. Interakcja SCA ze środowiskiem odegrała niewielką rolę, gdyż najczęściej była nieistotna.

Analiza wariancji umożliwiła szczegółowe oszacowanie wartości i istotności efektów ogólnej zdolności kombinacyjnej (GCA) 29 komponentów maticznych oraz trzech komponentów ojcowskich oraz swoistej zdolności kombinacyjnej (SCA) 87 par rodzicielskich. W doświadczeniach D01_13 i D02_13 przeprowadzono ocenę zdolności kombinacyjnej 11 specjalnie wytworzonych, zróżnicowanych komponentów maticznych oraz trzech zróżnicowanych populacji ojcowskich. W doświadczeniu D03_13 oszacowano zdolność kombinacyjną siedmiu komponentów maticznych, pochodzących z tej samej puli genowej poprzez krzyżowanie ich z tymi samymi trzema populacjami ojcowskimi. Spośród komponentów maticznych grupy D01_13 wyróżnił się WSIN 13, który charakteryzuje się dobrą zdolnością kombinacyjną plonu ziarna (7,11 dt/ha). Pozostałe cechy jego półrodzeństwa były zbliżone (różnice nieistotne) do średniej ogólnej kombinacji w wykonanym układzie krzyżowania. Ponadto stwierdzono, że dwa komponenty maticzne grupy D02_13 - CSIN 314 i WCSIN 264 warunkują wysoki potencjał plonowania swojego potomstwa, przy zachowaniu pozostałych cech na poziomie średniej wszystkich kombinacji w wykonanym układzie krzyżowania (efekty GCA nieistotnie różne od zera). Średnie efekty GCA tych genotypów dla plonu ziarna wynoszą odpowiednio 10,73 dt/ha i 4,10 dt/ha. Istotne interakcje efektów GCA matek ze środowiskiem najczęściej wykazano dla porażenia rdzą i mączniakiem. Analiza średnich efektów GCA grupy D03_13 wskazuje, że komponent maticzny WSIN 45 przekazał potomstwu wysoki potencjał plonowania i odporność na choroby (istotne dodatnie efekty GCA) i nie spowodował pogorszenia pozostałych cech użytkowych (nieistotnie różne od zera efekty GCA). Zdolność tą potwierdzają wielkości efektów GCA w poszczególnych miejscowościach. Dane te wskazują, że ten genotyp wpłynął także korzystnie na masę 1000 ziaren, wysokość roślin i odporność na wyleganie.

W roku sprawozdawczym badano także zdolność kombinacyjną 10 spokrewnionych populacji ojcowskich, oznaczonych numerami od RD1 do RD10 poprzez krzyżowanie ich z 4 męskosterylnymi mieszańcami (T1, T2, T3, T4). Analiza wariancji wykazała istotne różnicowanie genotypów pod względem wszystkich cech użytkowych. Interakcja genotypu ze środowiskiem była istotna tylko dla pylenia i porażenia mączniakiem. Jednak stwierdzono nieistotną zmienność zdolności kombinacyjnej wśród populacji ojcowskich dla wszystkich cech. Analiza wariancji wartości kombinacyjnej przeprowadzona na podstawie wyników doświadczeń w poszczególnych miejscowościach wykazała istotną zmienność GCA populacji ojcowskich pod względem plonu tylko w warunkach Radzikowa. Komponenty maticzne różniły się istotnie tylko pod względem wysokości roślin i wpływu na płodność mieszańców (pylenie). Zmienność SCA par rodzicielskich okazała się nieistotna dla

większości cech z wyjątkiem porażenia rdzą i masy 1000 ziaren. Interakcja GCA ojców ze środowiskiem była nieistotna dla wszystkich cech. Interakcja SCA ze środowiskiem okazała się istotna tylko dla porażenia mączniakiem. Średnie efekty GCA wskazują, że tylko dwa spośród komponentów ojcowskich (RD_6R i RD_8R) wpływają korzystnie na dwie cechy użytkowe. Populacja RD_6R zwiększyła potencjał plonowania i odporność na rdzę brunatną, a populacja RD_8R wpłynęła korzystnie na wyleganie i masę 1000 ziaren potomstwa.

Wnioski:

- Stwierdzono istotny wpływ środowiska (miejscowości) na wszystkie analizowane cechy wszystkich grup genotypów.
- Genotypy (mieszance eksperymentalne żyta) wykazały istotne zróżnicowanie pod względem wszystkich cech użytkowych we wszystkich przeprowadzonych doświadczeniach.
- Interakcja genotypu ze środowiskiem okazała się istotna dla większości cech badanych grup genotypów matecznych. Najczęściej istotną interakcją genotypu ze środowiskiem stwierdzono dla wysokości roślin i porażenia rdzą brunatną.
- Zmienność ogólnej zdolności kombinacyjnej odgrywała główną rolę w zmienności genetycznej wszystkich cech użytkowych mieszańców żyta.
- Zmienność swoistej zdolności kombinacyjnej była przeważnie nieistotna dla większości cech użytkowych. Istotną zmienność SCA wykazano głównie dla wysokości roślin, masy 1000 ziaren i intensywności pylenia,
- Niektóre komponenty mateczne charakteryzowały się wysoką i stabilną zdolnością kombinacyjną plonu ziarna i pozostałych cech użytkowych: WSIN 13, CSIN 314, WCSIN 264 i WSIN 45.
- Spośród komponentów ojcowskich wyróżnił się SR 20, który tworzył plenne mieszance o niższej wysokości roślin i wyższej odporności na wyleganie, przy zachowaniu pozostałych cech na poziomie średniej ogólnej kombinacji w wykonanym układzie krzyżowania.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 23.

Tytuł projektu: Badania nad optymalizacją otrzymywania podwojonych haploidów żyta.

Kierownik projektu: prof. dr hab. J. Zimny

Cel badań:

Celem prac prowadzonych w roku 2013 było zbadanie reakcji androgenicznej 20 linii żyta przygotowanych przy wykorzystaniu różnych komponentów rodzicielskich oraz zbadanie wpływu jonów miedzi na liczbę zregenerowanych zielonych roślin. Uzyskiwane tą metodą linie homozygotyczne mogą być wykorzystywane w procedurze hodowlanej ze względu na ich stabilność wewnątrz linii, a jednocześnie ich różnorodność.

Materialy i metody:

Dwadzieścia mieszańców żyta uprawiano w kontrolowanych warunkach, w fitotronie. Kłosa do badań pobierano w stadium późnej mikrospory. W celu zmiany szlaku rozwojowego mikrospor w kierunku na sporofitowy zastosowano szok termiczny, chłodzenie w temperaturze 4°C przez okres 21 dni. Z kłosów pobierano pylniki, które układano na zestalonej pożywkę indukującej. Szalki z pylnikami inkubowano w ciemności w temp. 26°C przez ok. 4 miesiące. Pojawiające się kalusy i struktury zarodkopodobne o średnicy przekraczającej 1-2 mm przenoszono na pożywkę regeneracyjną. Zielone rośliny przenoszono do kolb Elenmayera z pożywką ukorzeniającą, w celu wykształcenia systemu korzeniowego. Regeneranty przesadzono do płat z glebą i poddawano aklimatyzacji w fitotronie. Następnie rośliny jarowizowano w chłodni w temp. 4°C i wysadzono gleby. W warunkach kontrolowanych rośliny uprawiano do dojrzałości.

W celu zbadania wpływu jonów miedzi na efektywność regeneracji zielonych roślin u żyta, pylniki z połowy kłosa wykładano na pożywkę indukującą o standardowym składzie, a resztę pylników wykładano na tę samą pożywkę wzbogaconą CuSO₄. Struktury zarodkopodobne przenoszono na pożywkę regenerującą również standardowe i wzbogacone jonami miedzi.

Wyniki:

Z poszczególnych genotypów wyłożono od 2500 do 6200 pylników. W sumie wyizolowano 82 tys. pylników. 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 19 z 20 badanych genotypów. Szczególnie intensywnie kalusowały pylniki trzech linii o trzech różnych pochodzeniach (z różnych hodowli).

Poszczególne linie wykazywały silne zróżnicowanie pod względem reakcji adrogenicznej mikrospor. U dwunastu linii udało się zregenerować rośliny, przy czym u dwóch zregenerowano tylko rośliny albinotyczne. W przypadku jednej linii NS1503 zregenerowano 165 zielonych roślin. Trzy linie wykazały wysoką, jak na żyto efektywność regeneracji - NS 1396 – 50 roślin, NS 1282 – 46 roślin oraz S 1164/12 – 46 roślin.

Liczba zregenerowanych zielonych roślin w przeliczeniu na kłos wahała się od 0,1 do 8,7, a na 100 pylników od 0,1 do 5,5 dla różnych kombinacji krzyżówkowych. W wyniku przeprowadzonych badań, zregenerowano 326 zielonych roślin. Zaobserwowano duże zróżnicowanie pod względem liczby roślin albinotycznych. Procent roślin zielonych wahał się od 1 do 80%. Ogólny udział albinosów stanowił 58% liczby regenerantów i był dużo wyższy niż w roku ubiegłym (35%). W przypadku najwydajniejszej linii NS1503 odsetek albinosów był niski i wyniósł 26%. U dwóch genotypów odnotowano wyłącznie albinotyczne regeneranty (3006 i 3017), a u jednego – S1185/12 jedna roślina na 98 była zielona. Udział roślin albinotycznych jest związany z prawdopodobnie z tłem genetycznym. Dla linii NS wyniósł 33,6% a dla linii S 83%.

Wykazano brak pozytywnego wpływu jonów miedzi na liczbę regenerujących roślin zielonych. Porównanie liczby zregenerowanych roślin dla obu kombinacji nie wykazało istotnej różnicy.

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. IHAR-PIB

Cytoplazmatyczna męska sterylność jest zjawiskiem złożonym, jest warunkowana wieloma genami jądrowymi od ekspresji których zależy zdolność do przywracania płodności lub utrzymania jałowości pyłku. Cecha ta może być warunkowana zarówno genami głównymi jak i genami modyfikującymi. Z tego względu identyfikacja genów odpowiedzialnych za tą cechę u danego gatunku, określenie relacji pomiędzy genami ją warunkującymi oraz funkcji poszczególnych genów jest niezmiernie istotne dla lepszego zrozumienia cytoplazmatycznej męskiej sterylności.

Cytoplazmatyczna męska sterylność pyłku typu pampa wykorzystywana u żyta ozimego jest warunkowana szeregiem genów jądrowych oraz genami mitochondrialnymi. Wiadomo, że główne geny jądrowe lokalizują się na chromosomach 1R, 4R a geny o mniejszym znaczeniu występują na 3R, 5R, 6R i prawdopodobnie 7R. Badania realizowane głównie w Niemczech oraz Polsce umożliwiły identyfikację markerów w różnym stopniu sprzężonych z tymi genami. Ze względu na fakt, że gen na chromosomie 4R odpowiada za większą część zmienności fenotypowej cechy badania realizowane w Niemczech koncentrowały się na tym genie. Analogiczne prace prowadzone są również w Polsce. W tym przypadku uwaga skupia się na identyfikacji markerów sprzężonych z możliwie szerokim spektrum tych genów. Takie podejście pozwoli na ukierunkowane kumulowanie genów cechy w obrębie wybranych genotypów oraz, w razie potrzeby, przyczyni się do określenia sekwencji tych genów i poznania ich funkcji.

Celem realizacji zadań postawionych w projekcie kontynuowano wyprowadzanie rekombinacyjnych linii wsobnych (RIL) populacji mapujących, prowadzono krzyżowania wsteczne (krzyżując formy ojcowskie – linie RIL z formami matecznymi z cms pampa) celem określenia czy w trakcie wyprowadzania linii RIL (prowadzone na normalnej cytoplazmie) nie utracono genów przywracania

plodności. Materiały te przebadano za pomocą testu przesiewowego (opracowanego we wcześniejszych latach) do różnicowania linii płodnych i sterylnych (na bazie np. genów przywracania płodności znajdujących się na chromosomach 1R czy 4R). Na podstawie uzyskanych wyników wytypowano linie RIL zawierające marker na chromosomie 4R oraz formy nie posiadające tego markera.

Marker identyfikujący gen przywracania płodności na chromosomie 4R został wykorzystany do kontrolowanego przenoszenia tego genu do linii ojcowskich o odmiennym składzie takich genów. Pozwoli to uzyskać szereg zróżnicowanych linii ojcowskich, które w przyszłości mogą być wykorzystane do badania wzajemnych relacji tych genów oraz ich roli w przywracaniu płodności pyłku w zależności np. od środowiska.

Ze względu na konieczność identyfikacji markerów molekularnych silnie sprzężonych z genami przywracania płodności pyłku u żyta z cms pampa, DNA linii rekombinacyjnych badanych populacji mapujących poddano markerowaniu za pomocą markerów SNP (markery GBS). Uzyskane wyniki posłużyły do opracowania map genetycznych oraz mapowania asocjacyjnego. Interwałowe mapowanie kompozytowe pozwoliło identyfikować QTL genu przywracania płodności pyłku w grupie sprzężeń LG1. Najbliżej maksimum QTLa, w pozycji 210,9 cM, znalazł się marker *Gsc3364180TG40.

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.

W roku sprawozdawczym w badaniach brały udział 43 rody pszenżyta ozimego z doświadczeń wstępnych 2012/13, ponadto do badań włączono 79 genotypów pochodzących z 2-ch różnych rejonów uprawy pszenżyta oraz 24 formy, które w poprzednim okresie badań charakteryzowały się wysoką odpornością na rdzę brunatną i mączniaka. Ogółem w roku sprawozdawczym przebadano 146 genotypów.

Jesienią 2012 roku w Grodkowicach i w Krzeczowicach wysiano wymieniony wyżej materiał badawczy w jednym powtórzeniu po 2 rządki wraz z wzorcami wrażliwości.

Odporność genotypów pszenżyta na wymienione patogeny badano w stadium siewki i w stadium rośliny dorosłej w polu w warunkach sztucznej inokulacji i naturalnej infekcji. W szklarni siewki zakażano mieszaniną izolatów poszczególnych grzybów w stadium 2-go liścia. Użyte w badaniach izolaty rdzy brunatnej i mączniaka pochodziły zarówno z pszenicy jak i z pszenżyta. W przypadku rdzy żółtej *P. striiformis* do badań wykorzystano jedynie mieszaninę izolatów pochodzących z pszenżyta

W Grodkowicach w polu przeprowadzono sztuczną inokulację rdzą brunatną i rdzą żółtą genotypów w stadium przed kłoszeniem. Rośliny inokulowano przez oprysk zawiesiną uredospor mieszaniny izolatów *P. triticina* i *P. striiformis* pochodzących z pszenżyta. Wykonano 3-krotną ocenę porażenia form pszenżyta rdzą brunatną, żółtą i mączniakiem w oparciu o 9- cio stopniową skalę porażenia: 9 wysoka odporność, 1 wysoka wrażliwość. Uzyskane stopnie porażenia przekształcono na procentowe wartości powierzchni porażenia, wyliczono poziom odporności polowej poszczególnych form, określając wielkość powierzchni pod krzywą rozwoju choroby (AUDPC). Celem określenia zróżnicowania pomiędzy badanymi obiektami obliczono współczynnik zmienności CV%.

Wyniki oceny 43 genotypów pszenżyta ozimego z doświadczeń wstępnych pod względem odporności w stadium siewki na populacje izolatów *P. triticina* wskazują, że badane genotypy pszenżyta odznaczają się większą wrażliwością na izolaty pochodzące z pszenżyta, niż z pszenicy. Wśród badanych form tylko 15 odznaczało się odpornością. Natomiast na populację *P. triticina* pochodzącą

z pszenicy odporność notowano u 37 form. Odpornością na obydwie populacje patogena charakteryzowało się 13 genotypów.

Tylko 4 formy wykazały odporność na populację *B. graminis* z pszenżyta, podczas gdy odpornością na populację pochodzącą z pszenicy charakteryzowało się 39 genotypów. Z liczby 43 badanych rodów odporność na obydwie populacje wykazały 4 formy. Odporność w stadium siewek na populację rdzy żółtej *P. striiformis* notowano u 39 genotypów. Wyniki oceny porażenia w stadium siewek 79 genotypów pszenżyta pochodzących z 2-ch rejonów uprawy świadczą o dużej wrażliwości tych form na populacje *P. triticina* i *B. graminis* pochodzące z pszenżyta (odpowiednio 52 i 77). Zdecydowana większość form charakteryzowała się odpornością na wymienione populacje grzybów pochodzące z pszenicy (69 form odpornych na rdzę brunatną i 74 odporne na mączniaka). Odporność na populację *P. striiformis* pochodzącą z pszenżyta notowano u 75 badanych form. Odpornością na obydwie populacje *P. triticina* odznaczało się 26 form, natomiast jedynie 2 genotypy zaliczono do odpornych na populację *B. graminis* pochodzące z obydwu gatunków zbóż.

W roku sprawozdawczym w Grodkowicach nie notowano form wysoce wrażliwych na porażenie rdzą brunatną. Zapewne na pełny rozwój choroby nie pozwoliły warunki pogodowe. Spośród 43 rodów pszenżyta z doświadczeń wstępnych, wysokim poziomem odporności na rdzę brunatną w Grodkowicach charakteryzowało się 19. Nieco większe nasilenie rdzy brunatnej na badanych genotypach pszenżyta obserwowano w Krzczowicach. Wysoką odpornością odznaczały się 23 formy, obserwowano 2 formy wysoce wrażliwe. Współczynniki zmienności CV% wskazują na pewne zróżnicowanie badanego materiału pod względem odporności na *P. triticina*, ich wartość wyniosła 20,5% i 28,7% odpowiednio w Grodkowicach i Krzczowicach.

W roku badań nie notowano porażenia rdzą żółtą wszystkich badanych genotypów, zarówno w Grodkowicach w warunkach sztucznej inokulacji jak i w Krzczowicach.

Porażenie mączniakiem w obu miejscowościach było na poziomie średnim. W grupie badanych genotypów z doświadczeń wstępnych wysoką odpornością na mączniaka, charakteryzowało się 41 form w Grodkowicach i 31 w Krzczowicach, gdzie notowano trochę większe nasilenie choroby.

Spośród 79 form pszenżyta ozimego z 2-ch rejonów uprawy w Grodkowicach w warunkach sztucznej inokulacji wysoką odpornością na rdzę brunatną charakteryzowało się 47 genotypów, 2 zaliczono do wysoce wrażliwych. Natomiast w Krzczowicach w warunkach naturalnej infekcji 39 form zaliczono do wysoce odpornych, 7 zaś wykazało wysoką wrażliwość. Wśród 79 badanych w Grodkowicach genotypów 9 odznaczało się wysoką odpornością na rdzę brunatną w obydwu stadiach rozwoju. W grupie tej, nie stwierdzono zróżnicowanej reakcji na porażenie mączniakiem, wszystkie badane formy odznaczały się wysoką odpornością. Natomiast w Krzczowicach, wysoką odporność stwierdzono u 64 genotypów, 15 form charakteryzowało się średnią odpornością.

Przeprowadzone w obu miejscowościach badania odporności na rdzę brunatną genotypów pszenżyta z doświadczeń wstępnych pozwoliły na wyodrębnienie 13 form odpornych w stadium rośliny dorosłej, wśród nich 4 wykazały odporność również w stadium siewki. Ponadto wytypowano 29 genotypów, które charakteryzowały się odpornością połową na mączniaka, w tym 4 łączyły odporność w obu stadiach rozwoju. Wśród tych wysoce odpornych genotypów odporność połową na obydwie patogeny łączyło 10 form.

W roku sprawozdawczym do badań włączono 24 genotypy pszenżyta z doświadczeń wstępnych, które w poprzednich latach odznaczały się odpornością na rdzę brunatną i mączniaka, nie uległy też porażeniu rdzą żółtą. Genotypy te potwierdziły wysoką odporność połową na wymienione patogeny oraz niską wartość krzywej rozwoju choroby AUDPC.

Przeprowadzone badania genotypów pszenżyta pod względem odporności na rdzę brunatną, żółtą i mączniaka w stadium siewek i w stadium rośliny dorosłej umożliwiły wytypowanie form odznaczających się wysokim poziomem odporności w obu miejscowościach i w latach badań. Szczególne znaczenie mają genotypy łączące odporność w obu stadiach rozwojowych, jak również odporne zarówno na rdzę jak i na mączniaka. Odporne genotypy stanowią interesujący materiał jako źródła odporności i mogą być podstawą do badań określenia sposobu dziedziczenia i przekazywania odporności.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 29.

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

Kierownik projektu: prof. dr hab. E. Arseniuk

Prace laboratoryjne mające na celu wytworzenie linii podwojonych haploidów (DH) prowadzone były w Pracowni Hodowli Odpornościowej IHAR PIB Radzików. Materiałem wyjściowym były mieszańce F1 dostarczone przez hodowców. W roku sprawozdawczym 2013 w pracowni pracowano z liniami mieszańcowymi przekazanymi w latach:

- 39 linii mieszańców pszenżyta z 2011 r.,
- 40 linii mieszańców pszenżyta z 2012 r.

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 temp. 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.

Doświadczenia polowe – atestacja odporności na *S. nodorum*

- 45 rodów pszenżyta do doświadczeń wstępnych,
- 48 linii DH pszenżyta pokolenia R₃ – kontynuacja doświadczenia polowego (3 rok doświadczeń),
- 25 linii DH pszenżyta pokolenia R₂ – kontynuacja doświadczenia polowego (2 rok doświadczeń),
- 70 linii DH pszenżyta pokolenia R₁ – kontynuacja doświadczenia polowego (1 rok doświadczeń),
- 18 linii DH pszenżyta pokolenia R₀ wysiewane ręcznie.

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), drugą inokulację przeprowadzono w fazie kłoszenia, natomiast trzecią w początkowej fazie kwitnienia (GS 59). Poletka kontrolne opryskiwane były Tiltiem 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.

Zgodnie z harmonogramem niniejszego tematu inokulum *S. nodorum* o łącznej objętości 16 litrów zostało przesłane do terenowych punktów doświadczalnych w celu wykonania inokulacji testowanych obiektów pszenżyta.

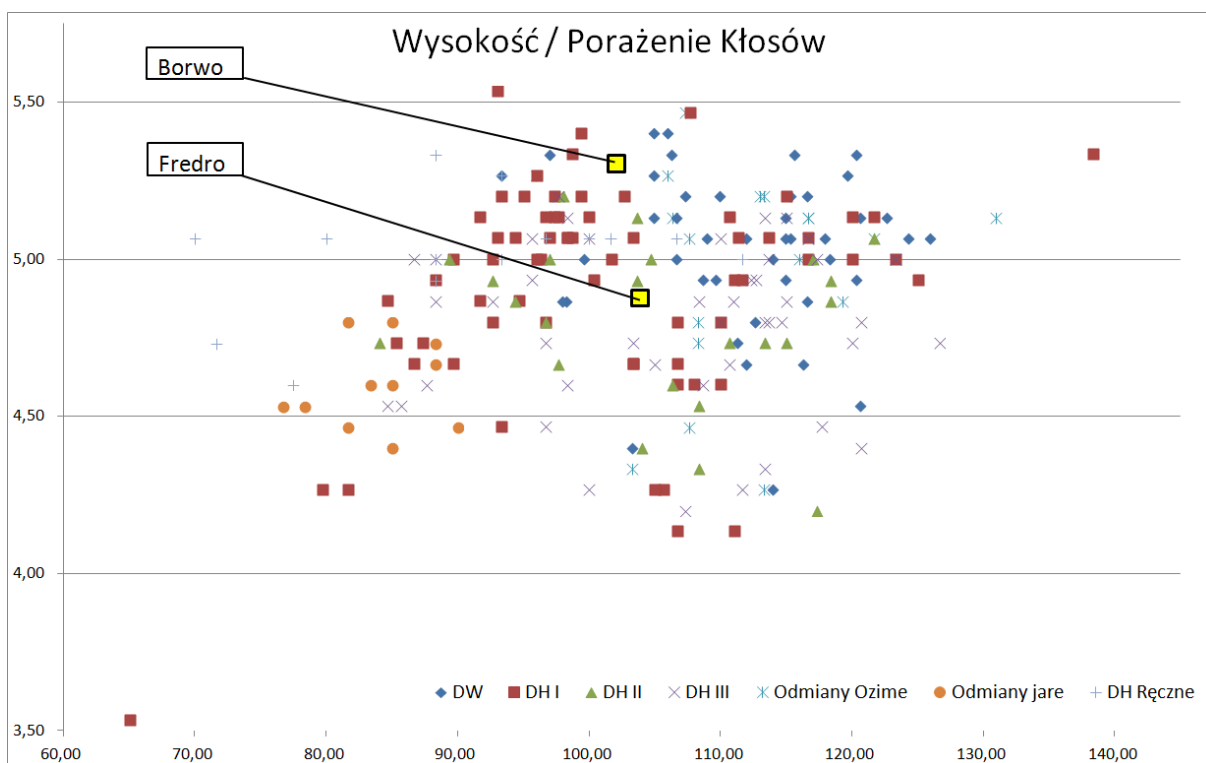
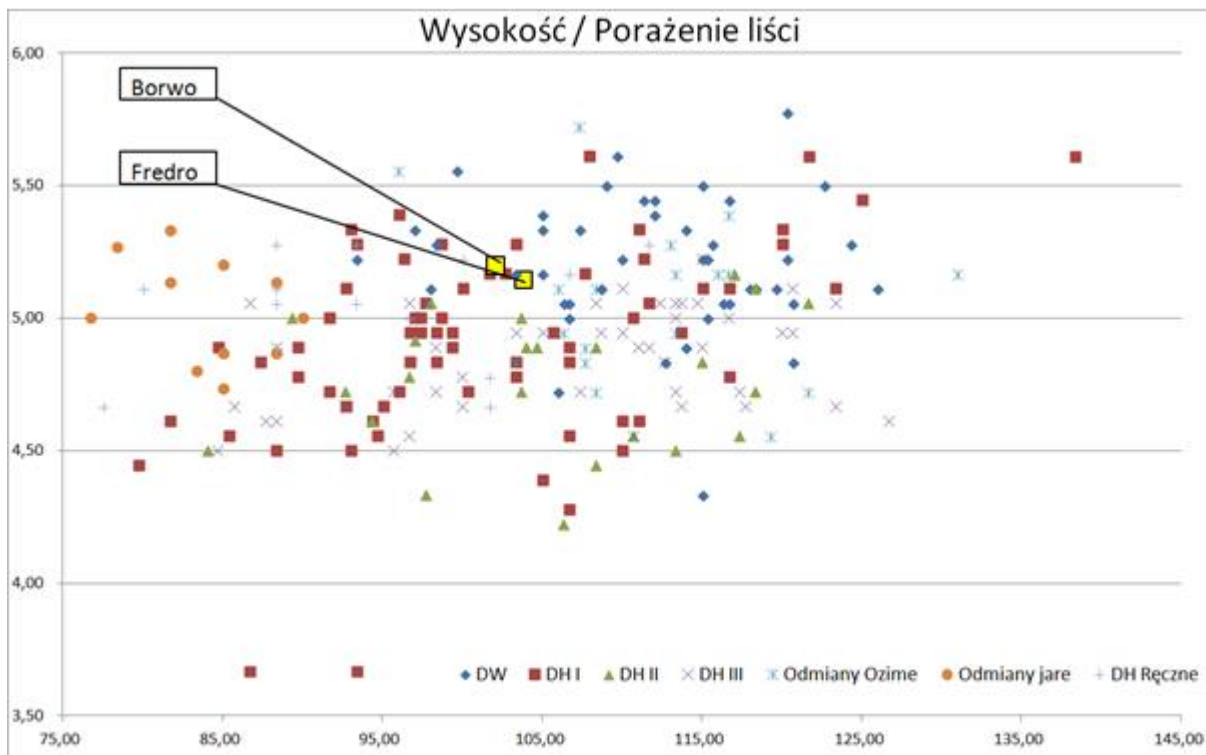
Wyniki fenotypowej analizy odporności rodów pszenżyta w doświadczeniu wstępnym:

Zakres terminów kłoszenia roślin poszczególnych linii mieścił się w przedziale od 155 do 165 dni, badane rośliny mierzyły od 93 cm do 126,0 cm, zakres reakcji na porażenie linii DH pszenżyta ozimego przez *S. nodorum* dla liści oscylował w granicach od 4,3 (skala 1-9) do 5,8, natomiast dla plew kłosów od 4,3 do 5,4.

Wyniki fenotypowej analizy odporności linii DH pszenżyta:

Zakres terminów kłoszenia roślin poszczególnych linii mieścił się w przedziale od 154 do 157 dni, badane rośliny mierzyły od 65 cm do 138 cm, zakres reakcji na porażenie linii DH pszenżyta ozimego przez *S. nodorum* dla liści oscylował w granicach od 2,8 (skala 1-9) do 5,61, natomiast dla plew kłosów od 3,5 do 5,53.

Zależności między porażeniem liści oraz kłosów od wysokości obiektów zobrazowano na poniższych wykresach:



Obserwacje wykonane w ramach obcych usług badawczych:

Ocenę obiektów pszenicy ozimego pod względem odporności na *S. nodorum* poza Radzikowem wykonano w 4 punktach doświadczalnych zgodnie z wyżej opisanymi procedurami. Cztery rody: BOHD_1186-1, MAH_33881-4, DANKO_10, MAH_33424-3/2 wykazały średnią odporność liści większą niż obydwie odmiany wzorcowe. W przypadku odporności kłosów największą średnią odpornością, przewyższającą odporność obu wzorców, charakteryzowały się rody: MAH_33113-1, DANKO_9.

Wnioski:

- Linie DH oraz obiekty badane w doświadczeniu wstępnym na poletkach o pow. 1m² charakteryzowały się rozkładem wczesności kłoszenia zamykającym się w przedziale 154–165 dni, liczonych wg kalendarza gregoriańskiego, tj. od 01.01; rozkładem wysokości rośliny w przedziale 65–138 cm; rozkładem odporności liści w skali 2,8–5,6 oraz rozkładem odporności plew w skali 3,5–5,5 (1 – krańcowo podatne oraz 9 – krańcowo odporne reakcje).
- Obiektem o najwyższej odporności liści w doświadczeniu wysiewanym na poletkach 1m² był ród BOHD 1186-1, niewiele niższą odpornością charakteryzowały się linie DH R1: 679/13/1, 658/15/2, 658/6/7, oraz kolejny ród doświadczenia wstępnego MAH 33424-3/2. Kilkanaście linii DH oraz kilkanaście obiektów DW wykazało odporność liści wyższą bądź porównywalną z odmianami wzorcowymi.
- Wśród obiektów testowanych na poletkach 1m² najwyższą odporność plew stwierdzono u linii DH R1: 677/36/, 677/34/9. Ogółem odporność plew wyższą bądź porównywalną z odporniejszą odmianą wzorcową Borwo wykazało pięć linii DH, oraz sześć rodów doświadczenia wstępnego.
- Wśród przebadanych linii DH zidentyfikowano znaczą liczbę obiektów o skróconym żdźble charakteryzujących się akceptowalnym poziomem odporności liści, a w szczególności plew.
- Wśród linii DH R₀ (wysiew ręczny) znajdują się obiekty o dość wysokim poziomie odporności liści oraz plew, jednakże ze względu na różnicę w sposobie wysiewu ich parametry odporności będą zweryfikowane w kolejnych badaniach.

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

Materiał badawczy stanowiły genotypy pszenżyta ozimego tradycyjnego, genotypy pszenżyta ozimego tradycyjnego wybrane na podstawie wyników uzyskanych w roku 2011 i 2012 oraz wzorce: wysoko plonujące odmiany Borwo, Fredro, Borowik. 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 w okresie pełni kwitnienia. Przeprowadzono ocenę nasilenia fuzariozy kłosów. Oceniano indeks fuzariozy kłosów (IFK) określający udział porażonych kłosów w ogólnej liczbie kłosów na poletku. Wykonano pomiary wysokości roślin. Po zbiorze kłosów oznaczony został 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 izolatu *F. culmorum*. Po inokulacji roślin przez kilka dni utrzymywano wysoką wilgotność powietrza. Ocenę liczby punktów infekcji przeprowadzono 10 dni po inokulacji. Porażenie kłosów oceniano 21 i 30 dni po inokulacji.

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

Doświadczenia infekcyjne z 49 genotypami pszenżyta ozimego założono dodatkowo 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 procentowej lub w 9°. Wyniki zostały przetransformowane do skali procentowej.

Średnie nasilenie fuzariozy kłosów dla badanych 48 genotypów pszenżyta ozimego wynosiło 12,9%. Zakres reakcji mieścił się w granicach od 5,7 do 24,5%. Najslabiej porażane było 7 genotypów.

Najsilniej porażane były 4 genotypy i odmiana Fredro. W warunkach prowokacyjnych w tunelu średnie porażenie kłosa wyniosło 50,0%. Zakres zmienności cechy 30,0–75,0%. Najmniej porażone było 5 genotypów. Najsilniej porażone zostały kłosa 5 genotypów i odmiany Fredro. Liczba punktów infekcji *F. culmorum* wyniosła średnio 2,6. Zakres zmienności cechy mieścił się w granicach od 1,6 do 3,8. Wysokość roślin nie korelowała z indeksem fuzariozy kłosa, natomiast stwierdzono negatywną zależność pomiędzy terminem kwitnienia i nasileniem choroby. Indeks fuzariozy kłosów oceniany w doświadczeniu polowym korelował istotnie z porażeniem kłosów w warunkach prowokacyjnych. Liczba punktów infekcji (odporność typu I) korelowała istotnie z porażeniem kłosów w warunkach prowokacyjnych. Nie było natomiast korelacji z doświadczeniem polowym, gdzie była niższa presja infekcyjna.

Średnie nasilenie fuzariozy kłosów dla 27 genotypów pszenżyta ozimego wykazujących odporność w latach 2011 i 2012 wyniosło 6,1%. Zakres reakcji mieścił się w granicach od 3,0 do 12,7%. Do najsłabiej porażanych należały 4. Najsilniej porażane były 2 genotypy. W warunkach prowokacyjnych w tunelu, średnie porażenie kłosa wyniosło 41,6%. Zakres zmienności cechy 20,0–65,0%. Najmniej porażone było 6 genotypów. Liczba punktów infekcji *F. culmorum* wyniosła średnio 2,5. Zakres zmienności cechy mieścił się w granicach od 1,8 do 3,4. Wysokość roślin i termin kwitnienia nie korelowały z indeksem fuzariozy kłosa. Indeks fuzariozy kłosów oceniany w doświadczeniu polowym korelował istotnie z porażeniem kłosów w warunkach prowokacyjnych. Liczba punktów infekcji (odporność typu I) nie korelowała istotnie z porażeniem kłosów w warunkach prowokacyjnych.

Na podstawie powyższych doświadczeń zidentyfikowano 15 genotypów o najwyższej odporności.

Odporność 49 genotypów pszenżyta ozimego tradycyjnego badano również w doświadczeniach polowych w 5 punktach doświadczalnych: Borowo, Dębina, Małyszyn, Szelejewo oraz w Cerekwicy k/Poznań.

Najwyższe nasilenie fuzariozy kłosów obserwowano w Borowie (42,7%) oraz w Dębinie (36,2%), niższe w Szelejewie (22,4%) i najniższe w Małyszynie. Największy zakres zmienności cechy obserwowano w Borowie (9,3–81,6 %) i w Dębinie (4,9–87,7 %) oraz najniższy w Małyszynie (1,6–48,1 %). Jedynie kilka genotypów charakteryzowało się stabilną odpornością w 4 punktach. Wysoką, stabilną podatnością cechował się 4 genotypy. Średnie nasilenie fuzariozy kłosów w 4 punktach doświadczalnych korelowało istotnie ze indeksem fuzariozy kłosów w Radzikowie w polu oraz ze średnią z doświadczeń (3) w Radzikowie i Cerekwicy. Nieistotna była natomiast korelacja z porażeniem kłosów w tunelu w Radzikowie oraz z wynikami uzyskanymi w Cerekwicy. Wyniki obserwacji z Borowa nie korelowały z wynikami z pozostałych lokalizacji. Wyniki uzyskane w Dębinie korelowały z wynikami z Małyszyna i Szelejewa. Analiza składowych głównych pozwoliła na wyróżnienie grup genotypów odpornych i podatnych.

Do analiz wybrano 32 genotypy, w tym 2 z roku 2011 i 11 z roku 2012, 2 odmiany wzorcowe (Borwo, Fredro) oraz 4 genotypy najsilniej porażone w Radzikowie i Cerekwicy jako wzorce podatności.

Fuzarioza kłosów wybranych 35 genotypów wynosiła w Radzikowie średnio 8,0% (bez wzorców i genotypów podatnych). Zakres zmienności od 3,0% do 16,7% (bez wzorców i genotypów podatnych).

W ziarnie badanych genotypów pszenicy stwierdzono zawartość toksyn fuzaryjnych. Deoksyniwalenol (DON) oraz niwalenol (NIV) występowały we wszystkich próbach. Zawartość zearalenonu (ZEA) stwierdzono w 20 próbach, w tym w 19 powyżej limitu wykrywalności wynoszącego 20 µg/kg. Pochodne DON - 3-acetyl- i 15-acetyldeoksyniwalenol występowały w ilościach śladowych. Średnia zawartość DON w ziarnie 41 genotypów wyniosła 2,142 mg/kg. Zakres zmienności zawartości od 0,738 do 12,725 mg/kg. Jeżeli chodzi o NIV, to jego średnia zawartość wyniosła 0,670 mg/kg. Zakres zmienności od 0,145 do 1,570 mg/kg. W ziarnie genotypów wybranych w latach 2011 i 2012 zawartość toksyn wynosiła odpowiednio 1,771 mg/kg DON i 0,502 mg/kg NIV. Średnia zawartość ZEA wyniosła 35 µg/kg. ZEA nie stwierdzono w ziarnie 21 genotypów. Indeks fuzariozy kłosów nie korelował istotnie z zawartościami DON i NIV w ziarnie. Dla FDK współczynnik korelacji z sumą DON i NIV był istotny. Zawartość trichotecen korelowała z zawartością ZEA w ziarnie.

Wykonano analizę wielocechową PCA (analiza składowych głównych). Analiza pozwoliła na wyróżnienie 12 genotypów łączących typy odporności na fuzariozę kłosów – odporność na porażenie kłosa oraz na akumulację toksyn fuzaryjnych. Z tej grupy 4 pochodziły z roku bieżącego.

Najważniejsze osiągnięcia:

- Identyfikacja nowych genotypów pszenżyta odpornych na fuzariozę kłosów w różnych środowiskach.
- Potwierdzenie stabilności odporności genotypów pszenżyta na fuzariozę kłosów w kolejnych latach badań.
- Identyfikacja genotypów pszenżyta łączących różne typy odporności na fuzariozę kłosów.
- Stwierdzenie słabszej zależności zawartości mikotoksyn i uszkodzenia ziarniaków od objawów porażenia kłosa niż w przypadku pszenicy.

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

Celem badań była identyfikacja genotypów ojcowskich dopełniających męską sterility i przywracających płodność pyłku w systemie męskiej sterility pszenżyta CMS – *T. timopheevi*.

Przedmiotem analizy było 121 mieszańców F_1 – 68 wytworzonych z genotypami ojcowskimi z puli genowej HT i 53 z genotypami ojcowskimi z puli genowej LT.

Wyróżniono 3 mieszańce całkowicie męskosterylne, składające się wyłącznie z roślin męskosterylnych: MS x HT 962, MS x HT 969, MS x HT 1006. Ponadto 21 genotypów ojcowskich częściowo dopełniało męską sterility, gdyż w potomstwach F_1 tych genotypów poza roślinami męskosterylnymi wystąpiły rośliny częściowo męskosterylne (PMS). Wyróżniono 92 mieszańce (48 wytworzonych z genotypami ojcowskimi z puli genowej HT i 44 mieszańce z genotypami ojcowskimi z puli genowej LT) o przywróconej płodności. Średni indeks restoracji (liczba nasion przypadająca na 1 kłosek) mieszańców F_1 z liniami ojcowskimi HT wyniósł 1,75 (0,82-2,56). Średni indeks restoracji mieszańców z liniami ojcowskimi LT wyniósł 1,63 (0,66-2,34).

W pokoleniu BC_1 wyróżniono 4 mieszańce całkowicie męskosterylne (forma ojcowska HT 944) oraz 2 częściowo męskosterylne (formy ojcowskie HT 896, HT 947). Wśród mieszańców z genotypami ojcowskimi z puli genowej LT wyróżniono: 6 mieszańców męskosterylnych i 2 mieszańce częściowo męskosterylne. Ich formami ojcowskimi były genotypy: LT 384, LT 387, LT 342, LT 373.

W pokoleniu BC_2 , wśród mieszańców z genotypami ojcowskimi z puli genowej HT wyróżniono: 3 mieszańce męskosterylne oraz 2 mieszańce częściowo męskosterylne. Ich formami ojcowskimi były genotypy: HT 855, HT 869. Wśród mieszańców z genotypami ojcowskimi z puli genowej LT wyróżniono: 7 mieszańców męskosterylnych i 18 mieszańców częściowo męskosterylnych. Ich formami ojcowskimi były następujące genotypy: LT 287, LT 318, LT 319, LT 322, LT 326.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 34.

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

Kierownik projektu: dr inż. P. Szczówka

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.

Analiza dostępnych danych meteorologicznych dla lokalizacji Krakowa i Małyszyna wykazała, że przebieg warunków klimatycznych w obu punktach był odmienny. Zakres różnic średniej temperatury dobowej i ilości opadów w poszczególnych dekadach od chwili "ruszenia roślinności" do zbioru pszenżyta był zmienny i odbiegał od średniej wieloletniej. Zestawione dane meteo w postaci podziału na dekady każdego miesiąca pozwalają na zobrazowanie różnic w rozkładzie opadów i temperatury w obu lokalizacjach, w których założono doświadczenia. Zróżnicowanie ilości opadów w ostatnich dekadach okresu wegetacyjnego w obu punktach doświadczalnych mogło wpłynąć na rozbieżność uzyskanych wyników analiz LO i oceny bonitacyjnej stopnia porostu pszenżyta w kłosie. Ważnym czynnikiem atmosferycznym wpływającym na przyspieszenie dojrzewania pszenżyta w Krakowie była średnia temperatura powietrza od wczesnego przedwiośnia aż do zniw, która w warunkach polowych w ostatniej dekadzie lipca sięgała do 39^oC w cieniu w dzień i w przypadku punktu doświadczalnego była najwyższą temperaturą od ostatniego rekordu z 1833 roku. Podobnie odbiegające od średniej wieloletniej i nierównomierne ilości opadów zwłaszcza w pierwszych dekadach maja i czerwca wpłynęły na rozwój roślin na poletkach doświadczalnych Zakładu Roślin Zbożowych w Krakowie.

Stwierdzono znaczne zróżnicowanie badanych form pod względem badanych cech. W zakresie prac związanych z oceną na porostu w kłosach w trzech terminach, wartości oceny wahały się w przedziale od 1 do 9 w przeliczeniu na skalę bonitacyjną. Ocena porostu metodą prowokacyjną w dedykowanych do tego celu komorach o ustalonej wilgotności w zakresie od 96-100% wykazała, że uzyskane wyniki były średnio wyższe o 1,5 punktu w skali bonitacyjnej w porównaniu z testami kiełkowania kłosów na szalkach.

Analiza liczby opadania była zróżnicowana dla badanych form. Większość wyników oscylowała w przedziale 60-100 sekund. Przeprowadzone testy kiełkowania również były zróżnicowane wśród badanych form i wynosiły średnio od 81% do 94% skielkowanych nasion kolejno w pierwszym i drugim terminie. Kilka obiektów uzyskało wartości poniżej 70% skielkowanych nasion wykazując tym samym ich dłuższy okres spoczynkowy, co miało odzwierciedlenie w wynikach oceny odporności na porostu.

Na podstawie uzyskanych wyników badań w 2013r. przeprowadzona analiza korelacji wykazała, że istnieje wysoka istotna współzależność pomiędzy oceną porostu w warunkach prowokacyjnych, a porostem w kłosach (metoda Wu i Carver) (-0,75). Współzależność pomiędzy liczbą opadania, a testem w warunkach prowokacyjnych (komory do oceny porostu) była w tegorocznych badaniach istotna choć kształtowała się na niskim poziomie (0,4). Przeprowadzona analiza korelacji pomiędzy liczbą opadania i porostem w kłosach wykazała istotną zależność badanych cech na niskim poziomie (0,46). Przeprowadzona analiza korelacji pomiędzy testami kiełkowania, a porostem w kłosach wykazała istotną zależność pomiędzy badanymi cechami na poziomie wysokim (TI 0,72 i TII 0,68).

Na podstawie przeprowadzonej analizy z wykorzystaniem opracowanego wskaźnika porostu "Wp" uwzględniającego długość spoczynkową nasion, wytypowano jeden obiekt o odporności na porostu wyższej od odmiany Fredro. Wśród badanych obiektów 10 charakteryzowało się wysoką odpornością na porostu powiązaną z wydłużonym (w stosunku do pozostałych) okresem spoczynkowym nasion analizowanym w trakcie oceny kiełkowania (MAH 33544-3, MAH 33113-1, DANKO 6, DANKO 10, BOH 534-4, MAH 33424-3/2, MAH 32459-1, DANKO 1, DANKO 9, MAH 34068-5).

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 36.

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

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

Pszenżyto (*x Triticosecale* Wittmack) jest zbożem o istotnym znaczeniu gospodarczym w Polsce. W ostatnich latach dużym zainteresowaniem cieszy się hodowla heterozyjna tego gatunku wykorzystująca zjawisko cytoplazmatycznej męskiej sterility na bazie cytoplazmy *Tt*. Jednak podłoże genetyczne zjawiska praktycznie nie zostało poznane. Wiadomo, że w procesie utrzymania

sterylności pyłku uczestniczyć może szereg genów jądrowych lokalizujących się na chromosomach pszenicznych jak i żytnich, jednak ich lokalizacja chromosomowa wciąż wymaga potwierdzenia. Dotychczasowe badania sugerują, że są to geny, których ekspresja odpowiada za niewielką część zmienności fenotypowej cechy.

Prowadzone badania mają na celu identyfikację markerów DNA sprzężonych z licznymi jądrowymi genami utrzymania sterylności pyłku u pszenżyta z *cms Tt* za pomocą mapowania genetycznego oraz asocjacyjnego na bazie licznych populacji mapujących. W ramach niniejszego projektu wyprowadzany jest unikalny materiał roślinny dedykowany do realizacji stawianych w nim zadań. Wyprowadzono kolejne pokolenia linii RIL (F_4 - F_5) oraz krzyżówki wsteczne linii pokolenia F_4 (RIL) i formy matecznej (*cms Tt*). Na formach F_4 linii RIL określano liczne cechy użytkowe (np. wysokość roślin). Natomiast na potomstwie krzyżówek wstecznych zostanie stwierdzone czy w obrębie linii RIL prowadzonych krzyżówek zostały zachowane geny utrzymania sterylności pyłku.

Analiza molekularna GBS przeprowadzona na DNA linii wsobnych pokolenia F_4 (materiał wykorzystywany do uzyskania linii rekombinacyjnych) z normalną cytoplazmą pozwoliła na uzyskanie profili molekularnych tych linii. Na bazie uzyskanych wyników opracowano mapy genetyczne dla dwóch populacji mapujących pszenżyta.

Dane fenotypowe dotyczące wysokości roślin zostały zestawione z markerami molekularnymi celem identyfikacji markerów sprzężonych/asocjowanych z genami wysokości roślin. Interwałowe mapowanie kompozytowe pozwoliło na wykreślenie QTLa w grupie sprzężeń, którą na podstawie znanej lokalizacji obecnych w niej markerów można przypisać do chromosomu 1B, bądź 5B. Najbliżej maksimum QTLa, w odległości 0.21 cM, znalazł się marker 3617468AC11. Mapowanie asocjatywne potwierdziło silne asocjacje markerów znajdujących się najbliżej maksimum QTLa z cechą wysokości. Wartości asocjacji określone na bazie ogólnego modelu liniowego (GLM) wynosiły od 0.275 do 0.572, natomiast w analizie MLM od 0.388 do 0.509. Dodatkowo za pomocą analizy GLM zidentyfikowano trzydzieści pięć markerów asocjowanych z badaną cechą, które nie znalazły się na mapie genetycznej oraz siedem w grupie LG13 i jeden w grupie LG20. Należy przeprowadzić identyfikację kolejnych cech użytkowych oraz określenie ich wstępnej lokalizacji chromosomowej czy też markerów związanych z tymi cechami.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 37.

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

Kierownik projektu: dr S. Oleszczuk

Celem prowadzonych badań w roku sprawozdawczym było uzyskanie w kulturze pylników czystych linii pszenżyta ozimego zawierających genetyczne źródła odporności na rdzę brunatną oraz charakteryzujących się zimotrwałością i odpornością na okresowe susze.

Druga część pracy dotyczyła analizy zjawiska androgenyzy pod względem tworzenia się regenerantów o identycznym składzie genetycznym.

Porównano efektywność regeneracji w kulturze pylników 12 wyselekcjonowanych mieszańców pszenżyta ozimego. Regeneranty uzyskano dla wszystkich badanych kombinacji mieszańcowych. Średnia liczba zregenerowanych zielonych roślin w przeliczeniu na kłos wahała się od 0,5 do 11,5 w zależności od kombinacji. W wyniku przeprowadzonych prac zregenerowano ponad 2500 roślin. Potomstwo mieszańca MAH 32110-2 x DS 1112-4 odznaczało się najwyższą wartością wskaźnika regeneracji zielonych roślin, zaś mieszańca DL 593/07 x Mikado najniższą. Częstość pojawiania się albinosów była najwyższa dla mieszańca BOH 1311 x Twingo (ok. 80%). Uzyskane rośliny po okresie jarowizacji będą kolchicynowane. Wyprowadzone linie hodowlane zostaną scharakteryzowane i poddane ocenie pod względem badanych cech.

Do oceny genetycznego zróżnicowania w obrębie androgenicznych regenerantów, wykorzystano markery mikrosatelitarne (SSR). Materiał do badań stanowił zestaw linii DH pszenżyta o zróżnicowanym pochodzeniu. Wytypowane markery pozwalały na rozróżnienie od 2 do 6 form allelicznych w testowanych genotypach. Średnia liczba alleli przypadająca na jeden *locus*

mikrosatelitarny wynosiła 4,4, a przeciętna wartość PIC - 0,51. Liczba markerów polimorficznych na kombinację krzyżówkową wahała się od 2 do 9. Wykazano, że na drodze androgenyzy dochodzi do tworzenia się sklonowanych linii DH, a przyczyna tego zjawiska wynika ze sposobu regeneracji. Wykazano, że klony linii DH powstawały z kalusa, wielozarodków oraz zarodków bliźniaczych. Do analiz DNA wybrano 189 roślin, które na podstawie ich pochodzenia zaklasyfikowano do 33 grup (próby zbiorcze). 102 rośliny pochodziły z 20 wielozarodków zaś 87 regenerantów powstało z kalusa. Maksymalna liczba regenerantów uzyskanych z pojedynczej struktury androgenicznej wynosiła 10 w przypadku kalusa oraz 8 w przypadku wielozarodków. Regeneranty otrzymane z 27 struktur (81.8%) wykazywały homogeniczność pod względem określonych alleli. Biorąc pod uwagę średnią liczbę polimorficznych markerów, poziom istotności równy 93.75% świadczył o obecności klonów. Jednocześnie wykazano, że osobniki zregenerowane z tej samej tkanki kalusowej mogą być genetycznie różne, co świadczy o ich pochodzeniu z różnych mikrospor. W przypadku 4 grup roślin uzyskanych z tkanki kalusowej oraz 2 grup pochodzących z wielozarodków stwierdzono heterogeniczność. Potwierdzono, że wszystkie regeneraty pochodziły z komórek szlaku gametofitowego. Udowodniono, przydatność markerów SSR do badań związanych z identyfikacją poszczególnych linii DH pszenżyta (w tym klonów) i oceny poziomu zróżnicowania genetycznego. Wykazano, że analiza DNA przy użyciu co najmniej 10 polimorficznych markerów jest uzasadniona w przypadku regeneracji roślin z tkanki kalusowej ze względu na możliwość identyfikacji dodatkowych unikalnych linii (ok. 30%), natomiast testowanie DNA linii DH wywodzących się z wielozarodków zasadniczo nie prowadzi do identyfikacji dodatkowych genotypów.

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. J.H. Czembor

Przeprowadzono w warunkach kontrolowanych ocenę linii F_3BC_1 51 populacji mieszańcowych uzyskanych w roku 2012. Linie oceniano pod względem homozygotyczności odporności na mączniaka i rdzę karłową na podstawie reakcji na zakażenie 20–25 siewek izolatami *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* i *P. hordei*. Siewki linii odpornych na oba patogeny, w warunkach szklarniowych po 18 roślin doprowadzono do pełnej dojrzałości nasion. Z pośród rozmnażanych linii usunięto linie niekorzystne pod względem innych ważnych cech gospodarczych, np.: 6-rzędowość kłosa, wysokość roślin, krótki kłos, itp. Do dalszych badań – wysiewu w szkółce polowej wybrano 290 linii.

W szkółce polowej przeprowadzono doświadczenie z 290 liniami F_4BC_1 , które wyselekcjonowano jako odporne na mączniaka i rdzę karłową w warunkach kontrolowanych na etapie pokolenia F_3BC_1 . Doświadczenie założono jako 1 – powtórzeniowe, w rozstawie 2 x 0,25 x 0,07 z odmianami wzorcowymi na przemian: Stratus i Iron. W okresie wegetacji przeprowadzono ocenę wizualną linii pod względem odporności na choroby i inne cechy wartości gospodarczej. Korzystnie ocenione 76 linii zebrano do dalszych badań.

W ramach usługi badawczej przeprowadzono doświadczenie w 5 miejscowościach z ponad 990 liniami w siewie 1-rzędowych poletkach z odmianami wzorcowymi stosowanymi w poszczególnych miejscowościach w podobnych doświadczeniach własnych. Badane linie oceniono pod względem porażenia przez: mączniaka, rdzę karłową, plamistość siatkowaną i rynchosporizę. Nasilenie porażenia przez poszczególne choroby i w różnych miejscowościach było różne. Porażenie linii i odmian wzorcowych przez *Pyrenophora teres* oraz *Rhynchosporium secalis* było znikome, stąd ocenę odporności linii na te patogeny pominięto w wyborze linii do dalszych badań. Ponieważ celem prowadzonych badań jest uzyskanie linii jęczmienia jarego odpornych na mączniaka i rdzę karłową oraz dobrej wartości innych cech gospodarczych, z pośród ocenianych w 5 miejscowościach do dalszych prac wybrano 38 linii równocześnie o wysokiej odporności na mączniaka i rdzę karłową.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 39.

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

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

Założono doświadczenia z 200 liniami jęczmienia jarego z kolekcji Pracowni Genetyki Stosowanej IHAR-PIB (w tym: 175 linii odpornych na mączniaka i 21 odpornych na rdzę karłową wyselekcjonowanych z odmian miejscowych oraz odmiany wzorcowe: Manchurian, Peegy, Iron dla mączniaka i L94 dla rdzy karłowej) w miejscowościach: Bąków, Choryń, Nagradowice, Polanowice, Strzelce i Radzików. W stadium największego nasilenia poszczególnych chorób wykonano ocenę porażenia w skali 9-cio stopniowej stosowanej w COBORU dla: mączniaka, rdzy karłowej, plamistości siatkowanej i rynchosporiozy. W 2013 roku nasilenie chorób na jęczmieniu było: duże mączniaka i rdzy karłowej, słabe plamistości siatkowanej za wyjątkiem Choryni, gdzie choroba wystąpiła ze średnim nasileniem i jej ocenę zamieszczono w zestawieniu zbiorczym. W ocenianej szkółce infekcyjnej w roku 2013 nie odnotowano rynchosporiozy. Na 171 linii we wszystkich miejscowościach, 51 było odpornych na mączniaka, z nich 15 było równocześnie odpornych na rdzę karłową a 43 na plamistość siatkowaną. Na 21 ocenianych linii odpornych na rdzę karłową, wszystkie były na nią odporne, w tym 2 były równocześnie odporne na mączniaka a 13 na plamistość siatkowaną. Uzyskane wyniki oceny kolekcji linii odpornych na mączniaka lub rdzę karłową w warunkach naturalnej infekcji potwierdziły się w różnych środowiskach w 29% dla linii określonych jako odporne na mączniaka i w 100% dla linii określonych jako odporne na rdzę karłową. Przeprowadzono ocenę reakcji na zakażenie izolatem Bgh 27 *Blumeria graminis* f.sp. *hordei* 5 populacji F₂ pochodzących ze skrzyżowania linii: 173-1-2, 255-3-3, 569-3-3, 815-3-5 i 5317-1-1 z podatną odmianą Manchurian CI 2330.

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że badane linie mają po jednym dominującym genie warunkującym odporność na zakażenie izolatem Bgh 27 *B. graminis* f.sp. *hordei*.

Geny odporności badanych linii różnią się ekspresją reakcji na zakażenie dziewięcioma izolatami *B. graminis* f.sp. *hordei*, od 0 do 2 wg skali Mainsa i Dietza.

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. J.H. Czembor

W warunkach kontrolowanych – fitotron – oceniono reakcję 7 populacji F₂, łącznie 1488 roślin na zakażenie izolatami wirulentnymi w stosunku do odmian ojcowskich. Do analiz molekularnych wybrano 461 roślin o fenotypie *mlo*. Wybrane rośliny w warunkach szklarniowych doprowadzono do pełnej dojrzałości, uzyskując linie F₃ o genotypie *mlo* do dalszych badań.

W szkółce polowej rozmnożono i oceniono 489 linii F₅ pod względem odporności w warunkach naturalnej infekcji na mączniaka i inne ważne cechy wartości gospodarczej. Na podstawie wizualnej oceny do dalszych badań wybrano 97 linii. Przeprowadzono w ramach usługi badawczej doświadczenie z 14 liniami odpornymi na mączniaka i dwoma odmianami wzorcowymi w trzech miejscowościach: Bąków, Szelejewo i Wiatrowo, w 4 powtórzeniach, na poletkach 5m² do zbioru. Wśród badanych linii, RAH 5735 plonował na poziomie lepszego wzorca Titus. Na poziomie średniej wzorców plonowały linie: RAH 977 i RAH 1169.

Linię RAH 5735 przekazano do Banku Genów IHA-PIB w Radzikowie pod nr kolekcyjnym 501050.

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: prof. dr hab. D. Boros

Celem prac był monitoring zmienności genetycznej cech jakościowych, które determinują przydatność nowowprowadzanych odmian oraz zaawansowanych materiałów hodowlanych jęczmienia jarego do różnych sposobów wykorzystania ziarna, a mianowicie do produkcji słołu lub do produkcji paszy. Prace zaplanowane w harmonogramie na rok 2013 wykonano w 100%.

Materiałem badawczym były odmiany wzorcowe oraz zaawansowane linie hodowlane jęczmienia typu browarnego i pastewnego. W serii browarnej badania wykonano na 3 zestawach ziarna, każdy składający się z 27 linii i 3 odmian wzorcowych pochodzących z trzech różnych warunków uprawy. W serii pastewnej materiałem do badań były próbki ziarna 93 linii wraz z odmianą wzorcową Suveren. Badania wartości browarnej zostały wykonane w taki sam sposób jak w latach ubiegłych i obejmowały monitoring 11 cech ziarna, słołu bądź brzezki. Wyniki przedstawiono jako wartości średnie danej cechy z 3 miejscowości uprawy. Na podstawie 5-ciu cech, liczby Kolbacha, ekstraktywności, lepkości brzezki, odfermentowania i siły diastatycznej, wyliczono sumaryczny wskaźnik wartości browarnej Q. Wskaźnik ten wyliczono również w stosunku do odmiany Blask. Uzyskane wartości dla tego wskaźnika umożliwiły ranking badanych linii jęczmienia pod względem wartości browarnej.

Stwierdzono, iż badany materiał jęczmienia browarnego wyprodukowany w 2013 roku charakteryzował się ogólnie dobrą przydatnością do produkcji słołu, ze średnią wartością wskaźnika Q równą 6.65. Zmienność tego wskaźnika była na poziomie 18% i mieściła się w zakresach od 3.40 do 8.25. Cechą najbardziej różnicującą badany zestaw linii jęczmienia, na poziomie około 45%, była zawartość wysokocząsteczkowego β -glukanu w brzezce, w zakresie od 26 do 196 mg/L, przy średniej zawartości 113 mg/L. Aktywność enzymatyczna, wyrażająca zdolność do przeprowadzania przemian skrobi w cukry proste w słodzie, była cechą w drugiej kolejności różnicującą badane linie. Współczynnik zmienności siły diastatycznej wynosił 20%, w zakresie od 140 do 350 j.W-K. Z kolei cechami o najniższych współczynnikach zmienności były ekstraktywność słołu, celność ziarna, lepkość brzezki oraz odfermentowanie, których zmienność nie przekraczała 2.5%. Warunki glebowo-klimatyczne wyprodukowania ziarna w roku zbioru 2013 nie miały znacznego wpływu na cechy determinujące wartość browarną jęczmienia. Na podstawie wskaźnika wartości browarnej Q wyodrębniono 3 linie, które miały wartość tej cechy wyższą (8.25 vs. 8.10) od wartości uzyskanej dla wzorcowej odmiany Olympic i była to kategoria browarna bardzo dobra. Aż 14 linii wraz z odmianą wzorcową Blask charakteryzowały się dobrą do bardzo dobrej kategorią wartości browarnej.

Linie jęczmienia pastewnego nie różniły się znacznie pod względem zawartości skrobi przyswajalnej, przy czym stwierdzono większe zróżnicowanie między genotypami, w granicach 44% do ponad 53%, niż miejscem ich wytworzenia, w granicach 48.7% dla ziarna wytworzonego w Bąkowie do 51.8% w Modzurowie. Średnia zawartość białka ogółem była zbliżona między poszczególnymi miejscami wytworzenia linii, w zakresie od 9.1 dla materiału z Modzurowa i Polanowic do 10.6% dla materiału z Bąkowa i Nagradowic. Większe zróżnicowanie tej cechy stwierdzono między genotypami, jednakże było ono podobne we wszystkich ośrodkach hodowlanych, od 8.14 do 11.83%, przy współczynniku zmienności od 4.5 do 7.5%. W odniesieniu do lepkości wodnego ekstraktu ziarna (WEV), która to cecha jest wskaźnikiem zawartości rozpuszczalnego β -glukanu, a więc również wartości pastewnej jęczmienia, najniższe wartości tej cechy stwierdzono dla materiału wytworzonego w Polanowicach (1.41 mP.s), najwyższe w Bąkowie (2.31 mP.s).

Badania wykazały istnienie zróżnicowania cech warunkujących przydatność linii jęczmienia jarego na cele browarne lub pastewne. Określiły, które z tych cech mogą zostać wykorzystane w selekcji materiałów hodowlanych jęczmienia w kierunku poprawionej wartości browarnej lub paszowej. Badania pozwoliły również na uszeregowanie badanych linii hodowlanych pod względem przydatności do określonego kierunku użytkowania ziarna. Wyniki badań mogą przyczynić się do

bardziej efektywnego wykorzystania ziarna jęczmienia jarego w Polsce. Są pomocne hodowcom w ich pracach selekcyjnych.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 44.

Tytuł projektu: Praktyczne wykorzystanie androgenezy jęczmienia w celu uzyskania stabilnych linii odpornych na stresy biotyczne i abiotyczne.

Kierownik projektu: prof. dr hab. J. Zimny

W bieżącym roku sprawozdawczym, celem prowadzonych badań było uzyskanie homozygotycznych linii jęczmienia pokolenia F₁, odpornych na stresy biotyczne i abiotyczne, oraz poprawa efektywności regeneracji różnych odmian jęczmienia w kulturach *in vitro*.

Metodyka:

Podwojone haploidy uzyskiwano na drodze androgenezy z wykorzystaniem kultur pylnikowych. Wyprowadzenie materiału jak i regeneracja linii homozygotycznych przeprowadzana była zgodnie z procedurami opracowanymi w ZBiCR.

Badania nad poprawą efektywności regeneracji dotyczyły analizy różnych stężeń związków o charakterze przeciwutleniającym (zredukowana i utleniona forma glutationu i inhibitora syntezy glutationu) oraz substancji z grupy arabinogalaktanów (larcoll, guma arabska) pod kontem wpływu na proces androgenezy.

Wyniki:

Zbadanie zdolności do androgenezy różnych genotypów jęczmienia

Porównano efektywność procesów androgenezy i regeneracji w kulturze pylników dla 40 genotypów jęczmienia jarego oraz 10 genotypów jęczmienia ozimego. Średnio dla jednego genotypu wyizolowano pylniki z ponad 22 kłosów. W sumie dla wszystkich genotypów jęczmienia wyłożono na pożywki indukujące ponad 1100 kłosów. Przez okres 4 miesięcy od założenia doświadczenia przełożono ponad 160 tys. struktur androgenicznych na pożywki regeneracyjne, z których otrzymano 5869 roślin zielonych i około 15,5 tys. roślin albinotycznych. Indukcję kalusa uzyskano dla wszystkich badanych genotypów. Efektywność wytwarzania struktur androgenicznych w przeliczeniu na 100 pylników wahała się w granicach od 43 do 507 w zależności od genotypu, a zróżnicowanie tego parametru związane było z pochodzeniem materiału wyjściowego. Maksymalna regeneracja wyniosła 30 zielonych roślin w przeliczeniu na 100 pylników. Efektywność otrzymywania struktur androgenicznych nie przekładała się na liczbę uzyskanych roślin np.: dla genotypu Rubinek x Fariba, u którego uzyskano najwięcej struktur androgenicznych (ponad 9 tys.), zregenerowano 5,6 roślin zielonych i 24 albinotycznych w przeliczeniu na 100 pylników. Najwięcej zielonych roślin (30 w przeliczeniu na 100 pylników) zregenerowano dla genotypu 1/13, dla którego poziom wytwarzania struktur zarodkopodobnych był na średnim poziomie. Średni procentowy udział roślin zielonych spośród wszystkich otrzymanych regenerantów w przeliczeniu na 100 pylników wynosił 30. Analiza wyników pozwoliła wyodrębnić kilka genotypów charakteryzujących się dobrymi parametrami androgenezy w kulturach *in vitro*. Najlepiej regenerującymi genotypami okazały się: Hajduczek x STH 8911; 1/13; 20/13.

Wpływ arabinogalaktanów na efektywność androgenezy jęczmienia

Badania dotyczące wpływu arabinogalaktanów na efektywność androgenezy wykazały obiecujące zależności. W odniesieniu do kontroli, gdzie efektywność regeneracji zielonych roślin w przeliczeniu na 100 pylników wynosiła około 11 dla genotypu NAD19 i 19 dla genotypu NAD2 wzbogacenie pożywki indukującej o różne stężenia arabinogalaktanów w większości przypadków podnosiło efektywność regeneracji zielonych roślin. Najlepsze wyniki otrzymano dla pożywki wzbogaconej o gumę arabską w obydwu badanych genotypach. W przypadku genotypu NAD19 zregenerowano około 52 zielone rośliny na 100 pylników przy stężeniu gumy arabskiej 10 mg/l, oraz 50 zielonych roślin na 100 pylników przy stężeniu gumy arabskiej 5 mg/l. Odpowiednio dla genotypu NAD2 zregenerowano w przybliżeniu 33 i 28 zielonych roślin. W przypadku tego genotypu bardzo zbliżone wyniki uzyskano dla pożywki wzbogaconej o 10 mg/l larcollu. W kombinacji z 5 mg/l larcollu uzyskano mniej zielonych roślin niż w kontroli w obydwu przebadanych genotypach.

W przeprowadzonym doświadczeniu badano również wpływ arabinogalaktanów na liczbę zregenerowanych roślin albinotycznych. Najmniej roślin bezchlorofilowych uzyskano dla genotypu NAD19 w wariacie z 5 mg/l gummy arabskiej. Dla genotypu NAD2 zjawisko albinizmu utrzymywało się na podobnym poziomie we wszystkich kombinacjach.

Dla 790 regenerantów przebadanych pod względem poziomu ploidalności, procent spontanicznie podwojonych haploidów wśród odmian jęczmienia jarego wynosił średnio 60%. Oprócz roślin haploidalnych (H), podwojonych haploidów (DH), wyselekcjonowano rośliny o innym poziomie ploidalności. Stanowiły one średnio 4,2 % spośród wszystkich przeanalizowanych roślin.

Wyodrębnione po analizach cytometrycznych rośliny haploidalne zostały wykorzystane w doświadczeniu dotyczącym wpływu zastosowanego stężenia kolchicyny na efektywność duplikacji genomu. Na obecnym etapie badań wyniki mogą dotyczyć jedynie przeżywalności roślin po zastosowaniu 2 stężeń kolchicyny. Dla genotypu NAD19 przeżywalność roślin wyniosła 81% przy stężeniu 0,06% kolchicyny a 58% przy stężeniu 0,14% kolchicyny. W przypadku genotypu NAD2 tendencja była podobna, choć różnice w przeżywalności były nieznaczne i stanowiły 79% i 72% odpowiednio przy stężeniu 0,06% i 0,14%.

Wpływ różnych form utlenowania glutationu i inhibitora syntezy glutationu na efektywność androgenezy jęczmienia:

W przypadku zastosowania w pożywcę indukującej 3 stężeń zredukowanej formy glutationu (GSH) najlepsze wyniki w stosunku do kontroli otrzymano dla stężenia 1,0 mM. GSH w stężeniu 2,0 mM w znacznym stopniu obniżało ilość zregenerowanych roślin zielonych w obydwu przebadanych genotypach.

Analizy dotyczące wpływu utlenowanej formy glutationu (GSSG) na ilość zregenerowanych roślin zielonych wskazują na tylko nieznaczną poprawę wyników w stosunku do kontroli dla stężenia 0,1 mM GSSG. Stężenie GSSG wynoszące 1,0 mM w znaczny sposób redukowało liczbę otrzymanych roślin.

Wykazano wyraźne oddziaływanie inhibitorów wydzielania glutationu (BSO) na efektywność regeneracji roślin na drodze androgenezy. Dla genotypu 51/13 niezależnie od zastosowanego stężenia BSO liczba otrzymanych regenerantów była znacznie mniejsza niż w kontroli. Odwrotną tendencję zanotowano dla genotypu 56/13, gdzie BSO w stężeniu 0,1mM i 1,0mM podnosiło liczbę regenerantów w porównaniu z kontrolą. Dla stężenia 2,0 mM uzyskane wyniki były porównywalne z rezultatami otrzymanymi dla kontroli.

Najważniejsze osiągnięcia

- Zbadano zdolności do androgenezy 50 genotypów jęczmienia, różnego pochodzenia, z czego uzyskano 5869 homozygotycznych linii jęczmienia.
- Wyselekcjonowano genotypy, z których można regenerować duże ilości zielonych roślin oraz genotypy nie posiadające zdolności do androgenezy.
- Wykazano, iż wzbogacenie pożywki indukującej o arabinogalaktany podnosi efektywność uzyskiwania zielonych roślin.
- Oceniono wpływ różnych form glutationu oraz inhibitora syntezy glutationu na efektywność regeneracji w kulturach *in vitro*.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 45.

Tytuł projektu: Poszukiwanie form owsa o wysokich wartościach żywieniowych.

Kierownik projektu: prof. dr hab. D. Boros

Głównym celem badawczym było 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. Wykorzystując kompleksowe wyniki badań uzyskane w tym projekcie

podjęliśmy próbę opracowania wyróżników jakości dla ziarna owsa. Badania są kontynuacją prac prowadzonych od 2008 roku.

Materiałem badawczym były trzy te same zestawy ziarna 15 linii hodowlanych owsa, każda z nich została wyprodukowana w trzech lokalizacjach o odmiennych warunkach glebowo-klimatycznych. Badania były prowadzone głównie na formach obłuszczonych, jako surowcu do produkcji żywności. Materiał analizowano pod względem zawartości białka, składników mineralnych, lipidów ogółem, skrobi strawnej, nieskrobiowych polisacharydów (NSP) z podziałem na frakcje rozpuszczalne i nierozpuszczalne, w tym β -glukanu, dalej ligniny Klasona, oraz sumy błonnika pokarmowego (TDF). Oznaczono także lepkość ekstraktu wodnego (WEV), która to cecha jest główną miarą właściwości funkcjonalnych ziarna owsa i pośrednią metodą pomiaru poziomu rozpuszczalnego β -glukanu. Wyniki przedstawiono w postaci wskaźnika wartości odżywczej (SSO) wyliczonego na podstawie sumy zawartości białka, składników mineralnych, lipidów i skrobi oraz wskaźnika właściwości bioaktywnych (WWB) jako wypadkowej sumy zawartości TDF i iloczynu WEV i S-NSP.

Badania umożliwiły wytypowanie linii hodowlanych najbardziej przydatnych do tworzenia odmian na cele żywieniowe, do produkcji żywności, a więc o wysokiej zawartości zarówno składników odżywczych jak i o potencjalnych właściwościach bioaktywnych. Spośród badanego materiału, linia POB 1418/10 charakteryzowała się najwyższą wartością SSO, natomiast linia POB 4109/10 najwyższym WWB. Wysoką zawartością SSO, powyżej wartości średniej dla 15 linii, odznaczały się ponadto linie POB 3643/10, DC 07026-6/4 oraz DC 07041-12/2, a linie STH 2-9 oraz DC 06011-8 wyższym WWB. Linie te mogą być wykorzystane do tworzenia odmian przydatnych do produkcji żywności o dużych właściwościach funkcjonalnych.

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

Po zimowej obróbce poźniwej mieszańców owsa uprawnego z *A. macrostachya* i uzupełnieniu danych wybrano materiały do szkółki obserwacyjnej (50 obiektów, w tym 9 nagonasiennych) i do doświadczenia (18 linii oplewionych i 5 nagonasiennych). Kryteriami selekcji były plon ziarna, ciężar 1000 nasion, zawartość łuski (u form nagonasiennych udział ziaren z łuską), zawartości białka, tłuszczu, włókna w ziarnie. Preferowano formy wcześniejsze, bardziej odporne na wyleganie i choroby. Zarówno szkółkę obserwacyjną jak i doświadczenie (1-powtórzeniowe na poletkach 5m²) wysiano w czterech miejscowościach: Kopaszewie k/Kościana, Polanowicach k/Krakowa, Radzikowie k/Błonia i Strzelcach k/Kutna. Określono plon i jego podstawowe parametry jakościowe. Z analizy wartości średnich z doświadczenia wynikało, że wśród 18 owsów oplewionych tylko jeden, z kontrolnej kombinacji bez udziału *A. macrostachya* plonował o 1% wyżej od wzorca 'Bingo'. Natomiast wśród pięciu owsów nagonasiennych dwa mieszańce plonowały wyraźnie lepiej od wzorca jakim była odmiana 'Siwek': wysokotłuszczowy (ponad 7% tłuszczu) ród 5M9.21 (113% plonu wzorca) i wysokobiałkowy (ponad 18% białka w ziarnie) ród 5T8.33011 (105% plonu wzorca). Drugi z wymienionych rodów potwierdził wyniki z lat ubiegłych wykazując wysoki i stabilny poziom fizycznych parametrów jakościowych ziarna, przewyższając wzorcową odmianę masą ziarniaka (o 26%), lepszym wyrównaniem ziarna i ponad 3-krotnie mniejszą domieszką ziaren oplewionych.

W szkółkach obserwacyjnych wysoką masą ziarniaka (MTZ>47g) charakteryzowały się trzy nowe linie owsa oplewionego i dwie nagonasiennego (MTZ>30g). Niski udział łuski (22,3%) stwierdzono w mieszańcu Ax302.0. W trzech nowych liniach (w tym dwóch mieszańcowych) zawartość białka przekraczała 20% (w tym w jednej typu oplewionego). Zawartością tłuszczu ponad 6,3% wyróżniała się jedna mieszańcowa linia typu oplewionego i trzy nagonasienne (ponad 7,4% tłuszczu). Nie było form lepszych od sublinii wcześniej wyodrębnionego rodu 5M9.21. Najcenniejszymi nowymi liniami mieszańców ze szkółki okazały się oplewiony owies FIPH8.001 (MTZ=47,5g; białko>20% i prawie

całkowita odporność na rdzę) i nagonasienny 5Q5.41021 (MTZ>30g, udział ziaren z łuską < 1 %, wczesność na poziomie odmiany wzorcowej).

Potwierdzono wnioski z ubiegłego sezonu co do głównych kierunków hodowli, w których mieszańce z *A. macrostachya* są szczególnie przydatne, tj. zwiększania ciężaru ziarniaka (MTZ) i zmniejszania udziału ziaren z łuską u form nagonasiennych, które lepiej zareagowały na zmienność obcego gatunku, niż formy oplewione. Do zestawu istotnych cech, które mogą być poprawione z użyciem badanych mieszańców, dołączono wyrównanie ziarna.

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. W 2013 roku w badaniach brało udział 27 genotypów owsa oplewionego z doświadczeń wstępnych, 8 obiektów nagonasiennych z doświadczeń wstępnych oraz 37 form oplewionych z doświadczeń przedwstępnych. Materiałem do badań było także 155 genotypów owsa pochodzących z trzech różnych rejonów uprawy, ponadto 13 genotypów, które w ubiegłych latach charakteryzowały się wysoką odpornością na rdzę koronową. Ogółem w badaniach wzięło udział 240 genotypów a także 17 zrejonizowanych odmian owsa. Przeprowadzono ocenę wyżej wymienionych genotypów owsa w stadium siewek, w kontrolowanych warunkach pod względem odporności na populację *P. coronata* i *B. graminis*. Wiosną bieżącego roku w Grodkowicach, Kopaszewie i w Strzelcach wysiano materiał badawczy w formie szkółek po 2 rządku z wzorcem wrażliwości odmianą Jawor. Dodatkowo w Grodkowicach wysiano formy owsa z centralnego rejonu uprawy oraz odmiany zrejonizowane. W sezonie wegetacyjnym w Grodkowicach i Kopaszewie przeprowadzono w polu sztuczną inokulację materiału badawczego rdzą koronową. Rośliny inokulowano przez oprysk zawiesiną uredospor populacją *P. coronata* w stadium przed kłoszeniem. Po inokulacji w wymienionych wyżej miejscowościach, oraz w Strzelcach w warunkach naturalnej infekcji, przeprowadzono 3-krotne obserwacje porażenia stosując skalę 9-cio stopniową. Materiał badawczy został oceniony pod względem odporności na porażenie mączniakiem *B. graminis* w polu w warunkach naturalnej infekcji.

Wyniki oceny 72 genotypów owsa z doświadczeń wstępnych i przedwstępnych pod względem odporności w stadium siewek na populację *P. coronata* wskazują, że większość badanych form charakteryzuje wysoka wrażliwość, jedynie 21 form wykazało odporność. Spośród 155 genotypów owsa pochodzących z 3-ch rejonów uprawy zaledwie u 41 notowano odporność, pozostałe w liczbie 114 okazały się wysoce wrażliwymi na populację rdzy koronowej. Wszystkie genotypy owsa biorące udział w doświadczeniu w roku bieżącym, podobnie jak w poprzednich latach badań, charakteryzowały się wrażliwością w stadium siewek na populację mączniaka *B. graminis*.

W omawianym roku sprawozdawczym obserwowano znaczne nasilenie rdzy koronowej w wymienionych wyżej miejscowościach zwłaszcza pod koniec okresu wegetacji, na co miały wpływ sprzyjające warunki pogodowe. Wyniki oceny porażenia rdzą koronową *P. coronata* wymienionych genotypów w poszczególnych miejscowościach wskazują na duże zróżnicowanie materiału pod względem odporności na tego patogena. Obliczone współczynniki zmienności były wysokie, szczególnie w Kopaszewie i Strzelcach – 21,6-32,8% i 34,1-54,6% odpowiednio. W Grodkowicach obserwowano nieco mniejsze zróżnicowanie badanego materiału (CV% 16,3-28,2%).

Ogółem spośród 72 badanych genotypów wysoką odpornością polową w Grodkowicach odznaczały się zaledwie 4 formy, do wysoce wrażliwych zaliczono 22, większość badanych form wykazała średnią odporność. Znaczną liczbę form wrażliwych (54) obserwowano w Kopaszewie, przy jedynie 4 formach wysoce odpornych, w Strzelcach 17 odznaczało się odpornością, 45 zaliczono do wysoce wrażliwych.

W roku bieżącym warunki klimatyczne nie były sprzyjające dla rozwoju mączniaka, jedynie w Strzelcach obserwowano pewne zróżnicowanie reakcji na tego patogena. W omawianej grupie 72

genotypów owsa 49 form odznaczało się odpornością, 20 zaliczono do średnio odpornych, 3 do wysoce wrażliwych.

Spośród 155 genotypów z 3-ch rejonów uprawy owsa badanych w Grodkowicach zaledwie 18 form zaliczono do odpornych na rdzę koronową, 44 odznaczało się wysoką wrażliwością. Natomiast wśród 85 genotypów owsa z dwóch rejonów uprawy, które brały udział w doświadczeniu w Kopaszewie i Strzelcach jedynie kilka wykazało wysoką odporność polową, pozostałe charakteryzowała wysoka wrażliwość. Największe porażenie rdzą notowano w Strzelcach, przy bardzo wysokim zróżnicowaniu badanych genotypów o czym świadczy wysoki współczynnik zmienności CV% w tej miejscowości 57-71,8%.

W grupie 85 genotypów owsa z 2-ch rejonów uprawy badanych w Strzelcach, gdzie nasilenie mączniaka było małe, 28 zaliczono do średnio odpornych, u 55 form nie notowano porażenia.

Spośród badanych 17 zrejonizowanych odmian owsa jedynie Arden i Breton odznaczały się średnią odpornością polową na rdzę koronową w warunkach sztucznej inokulacji w Grodkowicach, pozostałe uległy porażeniu.

Przeprowadzona ocena materiału badawczego owsa w roku sprawozdawczym w trzech miejscowościach pozwoliła na wyodrębnienie 4 genotypów owsa o wysokiej odporności polowej na rdzę koronową (*P. coronata*), przy czym genotypy te odznaczają się także odpornością w stadium siewki.

W roku bieżącym wysiano w polu w 3-ch miejscowościach: Grodkowice, Kopaszewo, i Strzelce 13 genotypów owsa, które odznaczały się znaczną odpornością na rdzę koronową w poprzednich latach badań. Uzyskane tegoroczne wyniki, szczególnie w Strzelcach, niestety nie potwierdziły wysokiej odporności polowej na rdzę koronową u wszystkich 13 badanych form. Wyodrębniono jedynie 3 genotypy, które charakteryzowały się wysoką i średnią odpornością we wszystkich miejscowościach. Genotypy te charakteryzowały się również odpornością na mączniaka w polu oraz odpornością w stadium siewek na obydwa patogeny.

Podsumowując uzyskane wyniki można stwierdzić, że warunki atmosferyczne, także zróżnicowanie biologiczne miejscowej populacji *P. coronata* mają decydujący wpływ na rozwój choroby. Badane genotypy owsa były w różnym stopniu porażane przez rdzę koronową w poszczególnych miejscowościach i okazały się materiałem o dużym zróżnicowaniu. Istotny wpływ na stopień porażenia miała zastosowana sztuczna inokulacja tym patogenem przy sprzyjających warunkach klimatycznych, w zwłaszcza w Kopaszewie. W warunkach naturalnej infekcji w Strzelcach obserwowano silne porażenie genotypów owsa rdzą koronową i mączniakiem w pierwszej połowie lipca.

Liczba odpornych genotypów wśród zaawansowanych i młodszych materiałów owsa jest bardzo mała. W związku z powyższym celowa jest kontynuacja prac nad poszukiwaniem źródeł odporności. Szczególnie istotne jest prowadzenie dalszych badań w przypadku rdzy koronowej. Wyselekcjonowane na przestrzeni 3 lat tylko 3 genotypy owsa odporne na rdzę koronową i mączniaka zarówno w fazie siewki jak i rośliny dorosłej mogą stanowić cenne źródło odporności w pracach hodowlanych nad tym gatunkiem zboża.

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. Spasibionek

Celem projektu było uzyskanie genotypów rzepaku ozimego podwójnie ulepszanego o zróżnicowanym składzie kwasów tłuszczowych łączących cechy wysokiej zawartości tłuszczu, ekstremalnie niskiej zawartości glukozyolanów oraz o wysokiej plenności.

Uzyskane w Zakładzie Genetyki i Hodowli Roślin Oleistych IHAR-PIB Oddział w Poznaniu linie wsobne mutantów i rekombinantów oraz linie DH stanowiły ważne źródło zmienności genetycznej potrzebnej do dalszych prac badawczych i hodowlanych nad rzepakiem o zmienionych cechach

jakościowych. Otrzymane zmiany w zawartościach kwasów: oleinowego, linolowego i linolenowego, zawartości tłuszczu i glukozyzolanów przenoszone były do wartościowych gospodarczo odmian oraz rodów hodowlanych na drodze hodowli rekombinacyjnej.

Badanie efektywności metod hodowli rekombinacyjnej z udziałem mutantów

W wyniku krzyżowania odmian rzepaku ozimego z liniami mutantów wysokooleinowych typu HO—(ang. *high oleic*) i z liniami mutantów niskolinolenowego typu LL—(ang. *low linolenic*) użytymi jako formy ojcowskie uzyskano 51 rekombinantów pokoleń F₁₄–F₇ o ustabilizowanej wysokiej zawartości kwasu oleinowego (78,3%–82,1%) i obniżonej zawartości kwasów: linolowego i linolenowego odpowiednio (5,7%–8,3%) oraz (5,1%–8,0%). Zawartości sumy glukozyzolanów i glukozyzolanów alkenowych u badanych linii wynosiły (6,3–15,7 μM g⁻¹ nasion) i (1,7–10,9 μM g⁻¹ nasion). Zawartość tłuszczu w nasionach kształtowała się na poziomie (40,4–49,9%).

W celu zwiększenia wartości agronomicznej genotypów przeprowadzono jedno- (BC₁) i dwukrotne (BC₂) krzyżowania wsteczne z odmianami rzepaku ozimego. Wyselekcjonowano 46 rekombinantów pokoleń F₁₁–F₇(BC₁)(BC₂) typu HO z podwyższoną zawartością kwasu oleinowego (do 81,1%) i obniżoną zawartością kwasów linolowego (do 6,2%) i linolenowego (do 5,0%) oraz kombinacje typu HOLL o wysokiej zawartości kwasu oleinowego (do 81,8%) i obniżonej zawartości kwasu linolenowego (do 3,5%). Otrzymane genotypy pod względem zawartości sumy glukozyzolanów i glukozyzolanów alkenowych charakteryzowały się odpowiednio na poziomie (od 6,8–14,5 μM g⁻¹ nasion) i (od 2,6–10,3 μM g⁻¹ nasion) natomiast pod względem zawartości tłuszczu w nasionach na poziomie (od 40,8–49,6%)

Analiza genetyczna rekombinantów z genotypem mutantu typu LL

Badano DNA wyizolowany ze 134 linii rekombinantów ze względu na obecność poszczególnych kombinacji allelicznych genów desaturazy *FAD3* metodą SNaPshot. Spośród analizowanych 134 linii (linie mutantu typu LL (M681) x odmiany, rody hodowlane i mutanty typu HO) 60 linii rekombinantów wykazywało homozygotyczny genotyp, charakterystyczny dla mutantów niskolinolenowych (aacc). Pozostałe genotypy wykazywały cechy form, z różnym udziałem poszczególnych alleli:

—homozygotyczny genotyp form typu dzikiego (AACC) – 23 linie rekombinantów

—heterozygotyczny genotyp form, z udziałem alleli: (AaCc) – 2 linie rekombinantów; (AACc) – 5 linii; (AAcc) – 34 linii; (Aacc) – 7 linii; (aaCc) – 1 linia; (aaCC) – 2 linie.

Na podstawie otrzymanych wyników analiz genotypów badanych rekombinantów oraz obserwacji fenologicznych i analiz biochemicznych zostały wytypowane linie do prowadzenia dalszych krzyżowań w celu otrzymania nowych, wartościowych form niskolinolenowych rekombinantów.

Metody hodowli rekombinacyjnej z udziałem genotypów o ulepszonych parametrach jakościowych

W badaniach wykorzystano populacje rekombinantów międzyliniowych i liniowo-odmianowych uzyskanych z krzyżowań linii własnych o niskiej zawartości glukozyzolanów (poniżej 5 μM g⁻¹ nasion) i o podwyższonej zawartości kwasu oleinowego (około 70%) z odmianą Contact. Do badań włączono także mieszańce wybrane z krzyżowań linii podwojonych haploidów (DH). Badane linie charakteryzowały się również wysoką zawartością tłuszczu w nasionach.

W celu podniesienia plenności linie o najwyższej zawartości kwasu oleinowego były systematycznie krzyżowane z wartościowymi odmianami. Z krzyżowań linii wysokooleinowych (uzyskanych z selekcji linii DH) z odmianami rzepaku ozimego oraz z krzyżowań linii wysokooleinowych z liniami wysokooleinowymi i z liniami wysokotłuszczowymi wyselekcjonowano populację rekombinantów pokoleń F₁₁–F₇ o niskiej zawartości sumy glukozyzolanów (1,6–7,8 μM g⁻¹ nasion) i ekstremalnie niskiej zawartości sumy glukozyzolanów alkenowych (0,2–4,4 μM g⁻¹ nasion) oraz wysokiej ustabilizowanej zawartości kwasu oleinowego (74,7–81,5%) a także o znacznie podwyższonej zawartości tłuszczu (do 50,6%).

Ocena rekombinantów z udziałem mutantów i genotypów o ulepszonych parametrach jakościowych w doświadczeniach porównawczych

W sezonie wegetacyjnym 2012/2013 najlepsze 33 linie rekombinantów tj. 15 rekombinantów uzyskanych w wyniku krzyżowań odmian polskich i zagranicznych z liniami mutantów typu HO i z liniami mutantu typu LL oraz 18 rekombinantów uzyskanych w wyniku krzyżowań (międzyliniowych i liniowo-odmianowych) oceniono w 2-ch doświadczeniach porównawczych PN1, PN2 pod względem składu kwasów tłuszczowych, zawartości glukozyzolanów oraz głównych cech

użytkowych. Sporządzona synteza wyników dla 18 rekombinantów badanych w doświadczeniu PN1 wykazała, że plon nasion istotnie różnicował badane linie. Pięć linii plonowało powyżej średniej ogólnej. Pod względem zawartości tłuszczu 5 linii (47,5–49,7%) istotnie przewyższało odmianę mieszańcową (Visby F1–47,2%) natomiast odmianę Monolit (46,2%) 10 linii (46,5–49,7%). Na podstawie uzyskanych wyników analiz składu kwasów tłuszczowych w oleju nasion stwierdzono, że badane linie utrzymały wysoką zawartość kwasu oleinowego (do 79,9%). Większość wybranych linii charakteryzowała się niską zawartością glukozyzolanów (suma glukozyzolanów (od 4,0–15,0 $\mu\text{M g}^{-1}$ nasion), suma glukozyzolanów alkenowych (od 1,0–9,8 $\mu\text{M g}^{-1}$ nasion).

Przeprowadzona synteza wyników dla 15 rekombinantów ocenianych w doświadczeniu porównawczym PN2 wykazała również istotne różnicowanie badanych obiektów pod względem plonowania. Pięć linii plonowały (47,1–49,1 dt ha^{-1}) powyżej wzorcowej odmiany Chagall (46,7 dt ha^{-1}). Pod względem zawartości tłuszczu 3 linie (47,4–47,8%) przewyższały odmianę wzorcową Chagall (46,9%) natomiast odmianę Monolit (46,1%) 8 linii (46,2–47,8%). Badane linie utrzymały wysoką zawartość kwasu oleinowego w przedziale (74,1%–80,3%). Badane genotypy cechowały się niską zawartością sumy glukozyzolanów (od 4,2–13,8 $\mu\text{M g}^{-1}$ nasion) i sumy glukozyzolanów alkenowych (od 1,7–10,3 $\mu\text{M g}^{-1}$ nasion).

Analiza ogólnej i specyficznej zdolności kombinacyjnej dla zawartości kwasów 18-węglowych i tłuszczu – w nasionach roślin pokoleń F_1 i F_2

Na podstawie uzyskanych wyników pokoleń F_1 i F_2 (otrzymanych w wyniku krzyżowania diallelicznego) stwierdzono, że linie mutanta M10464 i linie rekombinacyjne 1769 i 1771 typu HO niezależnie od kierunku krzyżowania w każdej badanej kombinacji zarówno w mieszańcach pokoleń F_1 , jak i F_2 wpływały na wzrost zawartości kwasu oleinowego (C18:1) (do 81,1%), a linia mutanta typu LL (M681) znacznie obniżała zawartość kwasu linolenowego (C18:3) (do 1,5%).

Przeprowadzona według metody Griffinga (1956) analiza wariacji diallelicznego układu krzyżowań dla zawartości kwasu oleinowego (C18:1), linolowego (C18:2) i linolenowego (C18:3) wykazała istotne różnicowanie efektów GCA i SCA dla badanych mieszańców pokoleń F_1 i F_2 dla wszystkich badanych kwasów. Natomiast istotność efektów krzyżowań odwrotnych wykazano jedynie w przypadku kwasu linolowego (C18:2) i linolenowego (C18:2) w pokoleniu F_2 . Dla zawartości tłuszczu stwierdzono wysoce istotne różnicowanie efektów GCA i SCA dla mieszańców pokolenia F_2 . Stwierdzono także istotność efektów krzyżowań odwrotnych.

Linie rodzicielskie pod względem GCA dla zawartości kwasów tłuszczowych w oleju nasion wykazały istotne różnicowanie zarówno w pokoleniu F_1 jak i F_2 . Linie mutanta M10464 i linie rekombinacyjne 1769 i 1771 typu HO o wysokiej dodatniej wartości GCA dla kwasu oleinowego (C18:1) i ujemnej wartości GCA dla kwasu linolowego (C18:2) odpowiednio zwiększały zawartość kwasu oleinowego (C18:1) i obniżały zawartość kwasu linolowego (C18:2) w oleju z nasion mieszańców. Linia mutanta typu LL M681 o wysokiej dodatniej wartości GCA dla kwasu linolowego (C18:2) wpływała na wzrost zawartości tego kwasu, a jego ujemna wartość dla kwasu linolenowego (C18:3) decydowała o obniżeniu zawartości tego kwasu w oleju nasion mieszańców. Wysoce istotne dodatnie wartości GCA stwierdzone u M10464 i A1-2 dla zawartości tłuszczu wpływały na wzrost tej cechy.

Obliczono odziedziczalność w szerokim i wąskim sensie dla zawartości kwasów tłuszczowych 18-węglowych w pokoleniach F_1 i F_2 i tłuszczu w pokoleniu F_2 . Dla analizowanych kwasów tłuszczowych otrzymano wysokie wartości tych współczynników w obu pokoleniach (w szerokim sensie 0,91–0,98, w wąskim sensie 0,54–0,95). Natomiast dla zawartości tłuszczu ich wartość wynosiła odpowiednio 0,68 i 0,51.

Najważniejsze osiągnięcia:

Poszerzono pulę genową o wyselekcjonowane linie o: ekstremalnie niskich zawartościach sumy glukozyzolanów (do 1,6 $\mu\text{M g}^{-1}$ nasion) i glukozyzolanów alkenowych (do 0,2 $\mu\text{M g}^{-1}$ nasion); linie typu HO o wysokiej zawartości kwasu oleinowego (do 82,1%), linie typu HOLL o wysokiej zawartości kwasu oleinowego (do 82,1%) i obniżonej zawartości kwasu linolenowego (do 3,5%) oraz znacznie podwyższonej zawartości tłuszczu (do 50,6%).

Do selekcji wykorzystano markery funkcjonalne, specyficzne dla niezmutowanych i zmutowanych alleli genów desaturazy FAD3 służące monitorowaniu genotypów niskolinolenowych typu LL form rzepaku uzyskanych w wyniku mutagenезy.

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 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 wegetacyjnym 2012/2013 wykonano krzyżowania pomiędzy 28 liniami CMS *ogura* pokolenia BC₈ z 10 wysokoplennymi liniami rzepaku pokolenia F₉ o zawartości glukozynolanów w nasionach od 2,8 do 6,4 μmol g⁻¹ nasion oraz kwasu oleinowego od 77,4 do 79,6 %. Uzyskano 55 linii męskosterylnych typu *ogura* pokolenia BC₉, których nasiona charakteryzują się stabilną, wysoką zawartością kwasu oleinowego w zakresie od 78,4 do 82,8%, niską zawartością kwasu linolenowego od 3,9% do 6,1% oraz glukozynolanów od 3,3 do 10,8 μmol g⁻¹ nasion.

W ramach poszerzania puli linii restorerów o podwyższonej zawartości kwasu oleinowego i obniżonej zawartości kwasu linolenowego badano populacje:

- 120 roślin pokolenia F₆, będącą rozmnożeniem 22 rekombinantów pokolenia F₅, 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. Dla 66 rekombinantów stwierdzono wzrost zawartości kwasu oleinowego w oleju powyżej wartości średniej dla całej populacji, która wynosiła 78,9%. Natomiast obniżeniu uległa zawartość kwasu linolenowego w zakresie od 4,6 do 9,6% przy średniej zawartości 6,4% oraz glukozynolanów w zakresie od 2,7 do 12,4 μmol g⁻¹ nasion.
- 400 roślin pokolenia BC₃, będącą rozmnożeniem 67 rekombinantów pokolenia BC₂. Analizy molekularne z wykorzystaniem markera izoenzymatycznego PGI-2 sprzężonego z genem restorerem umożliwiły wyselekcjonowanie 218 genotypów homozygotycznych i 167 heterozygotycznych pod względem obecności alleli genu restorera charakteryzujących się wysoką zawartością kwasu oleinowego w zakresie od 72,1 do 82%, niską zawartością kwasu linolenowego od 4,1% do 10% oraz glukozynolanów od 2,6 do 12 μmol g⁻¹ nasion.
- 150 rekombinantów pokolenia F₂ [♀ restorery HO F₃ x (♂ DH₂ o zmienionym składzie kwasów tłuszczowych x odmiany)]. Na podstawie wyników analiz izoenzymatycznych z wykorzystaniem markera PGI-2 wyselekcjonowano 85 restorerów homozygotycznych i 65 heterozygotycznych pod względem obecności alleli genu restorera. Zebrane nasiona rekombinantów pokolenia F₂ charakteryzowały się zawartością kwasu oleinowego w zakresie od 71,0 do 81,1%, kwasu linolenowego od 5,2 do 9,7% i glukozynolanów od 1,9 do 13,3 μmol g⁻¹ nasion.
- 100 rekombinantów pokolenia F₂ (♀ restorery HO F₃ x ♂ DH₂ o zmienionym składzie kwasów tłuszczowych), których nasiona charakteryzowały się podwyższoną zawartością kwasu oleinowego w zakresie od 72,6 do 81,2% obniżoną zawartością kwasu linolenowego od 4,2 do 8,5% i glukozynolanów od 2,4 do 11,6 μmol g⁻¹ nasion.

Plenność 15 mieszańców o zmienionych cechach jakościowych oraz ich komponentów rodzicielskich (3 linie męskosterylne CMS *ogura*, 5 wysokooleinowych linii restorujących) oceniono w sezonie 2012/2013 w doświadczeniu połowym PN 4, założonym w dwóch miejscowościach, w układzie

bloków kompletnie zrandomizowanych w czterech powtórzeniach, na poletkach o powierzchni 10 m², wzorcem w doświadczeniu była odmiana populacyjna Monolit oraz odmiana mieszańcowa zrestorowana Visby F₁.

Dla wszystkich obiektów doświadczenia przeprowadzono obserwacje fenotypowe w okresie wegetacji i kwitnienia oraz określono plon nasion, zawartość tłuszczu, kwasów tłuszczowych i glukozydów w nasionach, a także składniki struktury plonu: liczbę rozgałęzień i zawiązków na roślinie łuszczyn, średnią długość łuszczyny, liczbę osadzonych w niej nasion, masę 1000 nasion.

10 mieszańców zrestorowanych plonowało powyżej średniej dla doświadczenia, wynoszącej 45,4 dt/ha, a najlepiej plonujący mieszaniec PN 824/2012 osiągnął plon 53,9 dt/ha (96,9% wz. odm. Monolit). Najlepiej plonująca linia restorera PN 813/2013 plonowała na poziomie 74,0% wzorca. Średnie plony linii restorerów wahały się od 33,4 do 41,1 dt/ha. Natomiast średnie plony linii CMS były wyższe i zawierały się w zakresie od 44,9 do 49,2 dt/ha.

Badane obiekty doświadczenia cechowały się zmienionym składem kwasów tłuszczowych w porównaniu z odmianami Monolit i Visby F₁. Stwierdzono wyższą istotnie zawartość kwasu oleinowego w oleju, która wahała się: dla mieszańców od 72 do 76%, dla restorerów od 71,6 do 75%, dla linii CMS od 70,6 do 70,8%. Natomiast zawartość kwasu linolenowego uległa obniżeniu średnio do 8,5% w nasionach mieszańców i restorerów oraz do 9,1% w liniach CMS.

Dla 15 mieszańców zrestorowanych pokolenia F₁ dokonano oceny efektu heterozji w plonie nasion w stosunku do średniej form rodzicielskich. W plonie nasion 13 badanych mieszańców zrestorowanych stwierdzono efekt heterozji względem średniej rodziców w przedziale od 1,2 do 21,9%. Efekt heterozji w plonie nasion dla najwyższego plonującego mieszańca PN 824/2012 wynosił 20,7%.

Uzyskane wyniki uzasadniają konieczność dalszego poszerzania pul genetycznych plennych linii CMS *ogura* i linii restorerów o zmienionych profilach kwasów tłuszczowych.

Zadanie 2

Kontynuowano badania nad indukcją androgeny różnych genotypów rzepaku ozimego.

W 2013 roku prace przeprowadzono na trzech grupach roślin-dawców mikrospor. Analizowano efektywność uzyskiwania roślin androgenicznych z 2484 zarodków uzyskanych z 18 mieszańców oznaczonych symbolem BK, BO, MA otrzymanych z Hodowli Roślin Smolice oraz Hodowli Roślin Strzelce, Spółka z o.o. Oddział w Borowie i Oddział w Małyszynie. Badania nad androgenizacją *in vitro* w kulturze izolowanych mikrospor prowadzono metodą opracowaną w IHAR PIB oddział Poznań (Cegielska-Taras i in. 2002).

Z poszczególnych dawców otrzymywano od 6 zarodków z roślin BO1110R, aż do licznej populacji szacowanej na tysiące zarodków z roślin BO1326R, z której do badań wybrano 560 sztuk. Ten szeroki zakres liczebności otrzymywanych zarodków wskazuje na bardzo zróżnicowaną reakcję mikrospor do podziałów stymulowaną temperaturą z zakresie 24⁰C-32,5⁰C zaraz po ich izolacji. Z roślin BK badano 323 zarodki, 673 zarodki z roślin dawców BO, a z dawców MA badano 1488 zarodków. Kolejnym etapem kluczowym w cyklu androgeny *in vitro* jest uzyskiwanie roślin androgenicznych zarówno poprzez konwersję jak i pobudzanie do wtórnej organogenezy. Z każdego mikrosporowego zarodka regenerowano jedną roślinę (nie klonowano roślin). Z badanych eksplantatów BO uzyskano 392 (średnia wydajność 58%) roślin, z zarodków BK otrzymano 158 roślin (średnia wydajność 63%), a z zarodków MA zregenerowano 744 rośliny (średnia wydajność 50%). Z uzyskanych 19 zarodków MA4456 nie otrzymano roślin androgenicznych. U poszczególnych dawców regeneracja roślin wahała się od 0 do 78% w stosunku do wyłożonych zarodków mikrosporowych.

We wcześniejszych badaniach wykazano, że spontaniczne podwojenie liczby chromosomów w procesie androgeny *in vitro* w kulturze izolowanych mikrospor wynosi około 10%. Dla zwiększenia efektywności otrzymywania podwojonych haploidów, mikrospory zaraz po izolacji traktowano kolchicyną – substancją antymitotyczną. Wydajność podwojenia liczby chromosomów w mikrosporach przed podziałem, badano na kilku populacjach androgenicznych roślin. Metodą cytometrii przepływowej 151 androgenicznych roślin BK analizowano pod kątem ich poziomu ploidalności. Skuteczność sztucznego podwojania na etapie kultury *in vitro* wynosiła dla roślin BK-24 40%, a dla BK-26 32%. Natomiast analizowane rośliny o symbolu PH 109, PH 111, PH 112 wykazywały podwojenie liczby chromosomów w zakresie od 60% do 70%. W kolejnym etapie

roślinom haploidalnym podwajano liczbę chromosomów poprzez zanurzanie korzeni w roztworze kolchicyny.

Wykazano, że wydajność androgenezy *in vitro* rzepaku ozimego wiąże się z genetycznym warunkowaniem podatności nie tylko do stymulacji mikrospor do podziałów stresem temperatury, ale również do indukcji zarodków mikrosporowych do regeneracji roślin oraz zdolnościami do podwojenia liczby chromosomów w kulturze *in vitro*.

Wobec tak zróżnicowanego genetycznie rzepaku, który obecnie występuje oraz olbrzymiego zapotrzebowania na linie podwojonych haploidów wykorzystywanych w różnych projektach badawczych i hodowlanych, uzasadnione są dalsze szczegółowe badania nad skutecznością stymulacji mikrospor do podziałów, konwersji w rośliny czy efektywności podwajania liczby chromosomów.

Dlatego niezbędne jest opracowanie kilku wariantów modyfikujących stosowaną standardową metodę otrzymywania podwojonych haploidów w kulturze izolowanych mikrospor rzepaku ozimego, które będzie można zastosować w przypadku tzw. trudnych genotypów.

Uzyskane na podstawie tych badań wyniki przyczynią się do zwiększenia efektywności otrzymywania, a tym samym obniżenia kosztów produkcji linii DH rzepaku.

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 2013 pozyskano do celów kalibracyjnych 1076 próbek rzepaku o zróżnicowanych cechach jakościowych zebranych w różnych miejscowościach oraz 117 próbek makowin. Dane referencyjne otrzymano za pomocą analizy chemicznej:

- glukozyolany - analiza chromatograficzna silylowych pochodnych desulfogukozyolanów (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. Zbiór obejmuje zmienność występującą w roku 2013 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.

Zakres zmienności poszczególnych składników:

Kwasy tłuszczowe (%):

palmitynowy: 3,7-6,7; stearynowy: 1,0-3,3; oleinowy: 40,2-76,6; linolowy: 7,1-30,8; linolenowy: 5,6-16,2; eikozenowy: 0,9-15; erukowy: 0,0-15.

Glukozyolany (uM/g):

glukonapina: 0,1-19,6; glukobrassicapina: 0,1-2,8; progoinryna: 1,5-29,2; napoleiferyna: 0,1-0,5; glukobrassicyna: 0,1-1,0; 4OH-glukobrassicyna: 0,6-9,4; suma glukozyolanów alkenowych: 2,4-55,9; suma glukozyolanów: 0,9-51,4.

Morfina(%) 0,05-1,5.

Bazując na zebranych próbkach widm rzepaku wykonano wstępną kalibrację oznaczania glukozyolanów i składu kwasów tłuszczowych w rzepaku.

Najważniejsze osiągnięcia

Poszerzono bazę próbek o nowy materiał, który pozwolił na wygenerowanie bardziej optymalnego zestawu równań kalibracyjnych stosowanych w analizie NIRS do estymacji składników w materiale roślinnym. Na bazie zebranych próbek wyliczono równania kalibracyjne dla makowin oraz rzepaku pozwalające na estymacje składu badanych materiałów za pomocą analizy w spektrofotometrycznej bliskiej podczerwieni. Otrzymane materiały posłużyły do wyselekcjonowania reprezentatywnego

zbioru widm, który został dołączony do już istniejącej populacji. Na tej bazie wygenerowano równania kalibracyjne do oznaczania zawartości glukozynolanów oraz składu kwasów tłuszczowych w rzepaku oraz morfiny w makowinach.

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

Ocena zróżnicowania genetycznego w obrębie rodzaju Brassica za pomocą markerów molekularnych:

Podjęte badania miały na celu określenie zróżnicowania genetycznego w obrębie kolekcji *B. napus*, które umożliwi utworzenie odrębnych pul genetycznych i będzie mogło znaleźć zastosowanie w hodowli odmian populacyjnych i mieszańcowych rzepaku ozimego.

Materiał do badań obejmował 101 linii rzepaku otrzymanych do badań w 2013 roku. Badano linie restorujące i męsko-sterylne dla systemu CMS *ogura*, dwie odmiany odporne na kiłę kapusty oraz linie resyntetyczne rzepaku. Genomowe DNA wyizolowano z liścieni sześciodniowych siewek rzepaku ozimego według metody opisanej przez Doyle & Doyle (1990). Linie rzepaku oceniono na obecność genu restorera stosując marker RAPD OPC 02. Badanie zróżnicowania genetycznego wykonano za pomocą kombinacji 10 starterów znakowanych fluorescencyjnie wg metody opracowanej przez Vos'a i in. (1992). Otrzymano 540 produktów amplifikacji, z czego 344 było polimorficznych. Na podstawie uzyskanych wyników obliczono dystans genetyczny i utworzono dendrogram, który przyporządkował badane genotypy rzepaku do odrębnych pul genetycznych. Wykonano analizę wariancji molekularnej (AMOVA) w celu porównania wyników analiz w obrębie poszczególnych grup genotypów, a także przeprowadzono syntetyczną analizę zróżnicowania genetycznego linii rzepaku badanych w ubiegłych latach i w bieżącym roku sprawozdawczym.

Badanie za pomocą markerów molekularnych frekwencji występowania genu restorera w populacjach rzepaku o zróżnicowanych cechach jakościowych oraz obecności cytoplazmy CMS *ogura*:

Materiał roślinny stanowiły linie restorery z genem *Rfo* oraz posiadające męsko-sterylną cytoplazmę typu *ogura*. Przeanalizowano 217 genotypów. Jako rośliny kontrolne dla każdej serii stosowano: (1) linię hodowlaną nieposiadającą genu *Rfo*, ani męsko-sterylnej cytoplazmy typu *ogura* (CMS *ogura*) – Apollo, (2) linię zrestorowanego mieszańca F1, CMS+ i gen *Rfo*+ oraz (3) linię CMS *ogura* bez genu *Rfo*, CMS+ i *Rfo*-.

Genomowy DNA z badanych linii izolowano z liści metodą ekstrakcji buforem CTAB (Doyle i Doyle, 1990). Jakość i stężenie uzyskanych prób DNA oceniano stosując elektroforezę w 0.8% żelu agarozowym, wybarwianym bromkiem etydyny o stężeniu 0.05%, w odniesieniu do referencyjnej próby DNA, jaką było 50 ng niehydrolizowanego DNA faga λ . Męsko-sterylną cytoplazmę typu *ogura* oraz gen restorer *Rfo* identyfikowano przy użyciu analizy multipleks PCR, wykorzystując w jednej amplifikacji PCR trzy pary starterów specyficznych dla markerów SCAR, odpowiednio – dla genu restorera *Rfo*, CMS *ogura*, z włączeniem kontroli wewnętrznej zachowawczej sekwencji kodującej genu konstytutywnego aktyny7 *B. napus*. Wykonano zestawienie wyników analiz genetycznych dla badanych prób DNA z poszczególnych roślin.

Wykorzystanie markera specyficznego dla genu warunkującego wysoką zawartość kwasu oleinowego w nasionach rzepaku do analizy materiałów hodowlanych:

W Oddziale Poznańskim IHAR-PIB opracowano nowy kodominujący marker typu CAPS, który służy wykrywaniu form wysokooleinowych (HOR3 i HOR4) ze zmutowanym genem *fad2A*. W bieżącym roku sprawdzano powtarzalność analizy przy zastosowaniu czterech różnych metod izolacji DNA (automatyczna FastPrep / CTAB, automatyczna FastPrep / FastDNASpinKit, standardowa z CTAB i szybka z SDS). Stwierdzono, że do analizy markera CAPS można zastosować dowolną z technik. Sprawdzano także możliwość odróżniania homozygot od heterozygot przy pomocy opracowanego markera. Wyniki analiz dla mutacji typu HOR3 nie przyniosły pozytywnych rezultatów. Analizy wykonane dla mutacji typu HOR4 pozwoliły natomiast na identyfikację heterozygot – zarówno

symulowanych (próby mieszane) jak i prawdziwych form heterozygotycznych. Analizowano także linie o wysokiej zawartości kwasu oleinowego w nasionach pochodzące z nowej mutagenyzy. Potwierdzono, że opracowany marker CAPS jest specyficzny i nie nadaje się do wykrywania nowych mutantów. Opracowano uproszczoną metodę uzyskiwania markera typu CAPS. Stwierdzono, że wyniki uzyskane przy pomocy tej metody pokrywają się z wynikami uzyskanymi metodą standardową. W bieżącym roku w badanych materiałach zidentyfikowano: 11 linii homozygotycznych typu dzikiego, 14 linii homozygotycznych typu HOR3, 17 linii homozygotycznych typu HOR4 oraz 8 linii heterozygotycznych z allelem zmutowanym typu HOR4. W sumie wykonano 133 analizy DNA rzepaku ozimego przy użyciu markera typu CAPS. Wykorzystanie opracowanego markera dla tworzenia nowych odmian wymaga uregulowania opłat licencyjnych.

Najważniejsze osiągnięcia:

- wyznaczenie odrębnych pul genowych rzepaku, co może znaleźć praktyczne zastosowanie w hodowli odmian mieszańcowych rzepaku;
- przeprowadzona analiza molekularna umożliwiła wytypowanie wartościowych genotypów do dalszych prac badawczych nad wyprowadzaniem linii restorerów z genem *Rfo* o wysokiej wartości agronomicznej;
- sprawdzono w praktyce możliwość odróżniania heterozygot oraz opracowano tańsze i szybsze procedury wykonywania analiz markerem typu CAPS specyficznym dla mutacji w genie *fad2A* rzepaku ozimego.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 56.

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

Kierownik projektu: dr hab. M. Starzycki

W badaniach wykorzystywane były następujące komponenty do krzyżowań: *B. oleracea* (wybrane odmiany botaniczne), *B. napus*, *B. campestris*, *B. taurica*, *B. cretica*, *B. carinata* oraz *B. juncea*. Zakres prac realizowanych w danym roku obejmował wytwarzanie mieszańców międzygatunkowych techniką *in vitro*: krzyżowanie międzygatunkowe, izolowanie zarodków mieszańcowych, klonowanie *in vitro* pokolenia F₁ mieszańców międzygatunkowych. Przeprowadzono także badania polowe odporności rzepaku na suchą zgniliznę kapustnych w celu wyboru komponentów rodzicielskich do krzyżowań międzygatunkowych. Poszukiwano genotypów z plemienia *Brassicaceae* odpornych na porażenie powodowane przez kilę kapuścianą - *Plasmidiophora brassicae*. Ponadto izolowano nowe patotypy *Leptosphaeria* sp. niezbędne do przeprowadzenia testów odpornościowych. Otrzymano mieszańce międzygatunkowe techniką *in vitro* poprzez krzyżowanie spokrewnionych gatunków z plemienia *Brassicaceae*. Wykonano łącznie ponad 50 krzyżowań z których wypreparowano 671 żywych zarodków, rozklonowano ok. 200 nowych genotypów. W obrębie nowych przekrzyżowań międzygatunkowych otrzymano rośliny z następujących kombinacji: Jarmuż x *B. campestris* – 221 zarodków; (CMSogu x *B. campestris*) x *B. campestris* – 44 zarodki; (CMSogu x *B. campestris*) x *B.n.* (2154/11) – 22 zarodki; (CMSogu x *B. campestris*) x *B.n.* (2147/11) – 11 zarodków; (CMSogu x *B. juncea*) x *B. campestris* – 115 zarodków; (CMSogu x *B. juncea*) x *B.n.* (2147/11) – 32 zarodki; (CMSogu x *B. juncea*) x *B.n.* (2151/11) – 50 zarodków; (CMSogu x *B. juncea*) x *B.n.* (2154/11) – 38 zarodków; [(8048/2 x *B. nigra*) x *B. rapa*] x *B.n.* (2154/11) – 16 zarodków; [(8048/2 x *B. nigra*) x *B. rapa*] x *B.n.* (STAR 182) – 25 zarodków; (119 x Roki/kl.09) x *B.n.* (2157/11) – 48 zarodków; (119 x 7Roki/kl.09) x *B.n.* (33 x 4) – 48 zarodków; [*B.o. jar.* x *B. taurica*] x *B.n.* (2154/11) – 1 zarodek. Komponentami ojcowskimi dla wytworzenia mieszańców międzygatunkowych w większości przypadków były klonowane rośliny rzepaku *Brassica napus* L. charakteryzujące się podwyższoną, sprawdzoną w warunkach polowych odpornością na patogeny z rodzaju *Leptosphaeria* sp. W większości przypadków izolowane zarodki były w stadium globularnym oraz wczesnej torpedy. Obecnie embriony te namnażane są przy użyciu klonowania w kulturach *in vitro*. Po testach odpornościowych na patogeny grzybowe z rodzaju *Leptosphaeria* (w 2013 roku), do dalszych krzyżowań międzygatunkowych wyselekcjonowano kolejne odporne gatunki z plemienia *Brassicaceae*.

W warunkach polowych prowadzono badania odporności rzepaku na suchą zgniliznę kapustnych w celu wyboru komponentów rodzicielskich do krzyżowań międzygatunkowych. Oceniano procent porażonych roślin rzepaku w doświadczeniach z formami alloplazmatycznymi oraz DW1 i DW2 zlokalizowanych w Borowie i Małyszynie, a także wybrane odmiany z Bąkowa. W wyniku przeprowadzonych doświadczeń nad odpornością nowych genotypów rzepaku z cytoplazmami kapust na grzyby z rodzaju *Leptosphaeria* sp. stwierdzono, na podstawie indeksu porażenia (% porażonych roślin), wysoki poziom ich odporności (IP w najlepszych kombinacjach wynosił 0,009 dla kombinacji: 420/08, 38 *B.t* x *B.n.* (304 TP)/5 oraz 405/08, 53 *BruxBn*/2). Równocześnie odnotowano istotne różnice plonu nasion w doświadczeniu PN-6 (mieszańce międzygatunkowe plonowały wyżej od wzorców: Monolit i Chagall). W warunkach polowych, łącznie w 3 miejscowościach (Borowie, Małyszynie, Bąkowie) oceniono 15 tys. roślin rzepaku na porażenie przez *Leptosphaeria* sp. (w doświadczeniach DW1, DW2 oraz PN-6). Najodporniejsze i najwyżej plonujące rody zostaną użyte jako komponenty ojcowskie w następnych programach badań nad mieszańcami międzygatunkowymi. Po selekcji pojedynczych roślin z cytoplazmą kapust na zdrowotność i obniżoną zawartość związków antyżywniowych, założono doświadczenie polowe z nowymi komponentami w Małyszynie w celu powtórnego sprawdzenia ich plonu i odporności na porażenie powodowane przez patogeniczne grzyby z rodzaju *Leptosphaeria* sp.

Izolowano nowe patotypy *Leptosphaeria* sp. niezbędne do przeprowadzenia testów odpornościowych. Porównano sekwencję DNA ITS1 badanego gatunku do obiektu wzorcowego *L. maculans* (informacja o przynależności gatunkowej, NCBI / BLAST). Nowe patotypy *Leptosphaeria* sp. poddano sekwencjonowaniu w celu stwierdzenia ich czystości gatunkowej. Poszukiwano genotypów z plemienia *Brassicaceae* odpornych na porażenie powodowane przez kiłę kapuścianą - *Plasmodiophora brassicae*. Do badań użyto (20) odmiany rzepaku ozimego. Atestację odporności wybranych odmian *B. napus* na *P. brassicae* przeprowadzono po raz pierwszy w kulturach hydroponicznych. W badaniach wykorzystano mieszaninę (4) ras patogena, zróżnicowaną pod względem genetycznym, wykorzystywaną do inokulacji przez Instytut Ogrodnictwa, Oddział Warzywnictwa, Zakład Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin Warzywnych w Skierniewicach. Najodporniejsze po testach hydroponicznych okazały się 4 odmiany *B. napus*: SY Cassidy, SY Alister, Mendel, Xenon, które nie wykazywały oznak porażenia. Użyta metoda hydroponiczna wykorzystana w badaniach odporności rzepaku i kapust jest metodą, która po testach nie zagraża środowisku ze względu na możliwość całkowitej utylizacji roztworu z inokulum *P. brassicae*.

Najważniejsze osiągnięcia:

- Po raz pierwszy otrzymano mieszańce międzygatunkowe w dużej liczbie 671 żyjących zarodków, z których otrzymano rośliny.
- Po testach odpornościowych w doświadczeniach: z mieszańcami międzygatunkowymi (PN-6) oraz DW1 i DW2 oceniono ponad 15 tys. roślin na porażenie przez *Leptosphaeria* sp. i na podstawie otrzymanych wyników wybrano najodporniejsze.
- W badaniach nad kiłą kapusty po raz pierwszy badano w hydroponikach rośliny wybranych odmian rzepaku. W wyniku czego potwierdzono przydatność testu hydroponicznego do badań nad odpornością roślin z plemienia *Brassicaceae* oraz wskazano najodporniejsze genotypy. Ponadto metoda hydroponiczna wykorzystana w badaniach odporności rzepaku i kapust jest metodą, która po testach nie zagraża środowisku ze względu na możliwość całkowitej utylizacji roztworu z inokulum *P. brassicae*.

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

Kontynuowano badania nad poszerzeniem puli genetycznej rzepaku ozimego poprzez uzyskanie nowych allopoliploidalnych roślin *Brassica napus* przy wykorzystaniu krzyżowania

międzygatunkowego *Brassica rapa* i *Brassica oleracea*, z zastosowaniem kultur *in vitro* zarodków mieszańcowych.

Uzyskano linie DH semi-resyntetyzowanego rzepaku ozimego, o cechach rzepaku podwójnie ulepszanego z genem restorerem, wykazującego odrębność genetyczną od linii i odmian rzepaku obecnie hodowanego i uprawianego.

Do resyntezy rzepaku ozimego (*Brassica napus*) wybrano genetycznie odległe diploidalne gatunki (*Brassica rapa* ssp. *chinensis* (pak choy) oraz *Brassica oleracea* ssp. *acephala* var. *sabellica* (jarmuż). Kapusta chińska, nie jest kapustą głowiastą i jest tolerancyjna na niskie temperatury. Natomiast jarmuż jest rośliną zimotrwałą, odporną na szereg chorób, na które wiele gatunków tego rodzaju jest podatne. Krzyżowania wykonano ręcznie w warunkach *in vivo*. Po trzech tygodniach od zapylenia z wykształconych łuszczyń izolowano zarodki, które przenoszono na pożywkę B5. Dalszy rozwój, aż do wykształcenia roślin przebiegał w warunkach kultur *in vitro*. Wydajność tego procesu wynosiła 10% w stosunku do zarodków wyłożonych na pożywkę.

Analiza cytometryczna jądrowego DNA otrzymanych roślin potwierdziła mieszańcowy charakter zregenerowanych roślin. Rośliny jaryzowano, a liczbę chromosomów podwajano poprzez zanurzenie korzeni w roztworze kolchicyny. Następnie rośliny rozwijały się w szklarni, aż do kwitnienia i zawiązania łuszczyń. Nasiona rzepaku RS (resyntetyzowanego) charakteryzowały się wysoką zawartością kwasu erukowego i glukozynolanów. Analiza molekularna przy użyciu 20 starterów RAPD wykazała odrębność uzyskanych linii RS od obecnie hodowanego i uprawianego rzepaku.

Dwie linie RS2 i RS3 wykorzystano jako zapylacze w krzyżowaniu z liniami restorerami w systemie CMS *ogu* rzepaku podwójnie ulepszanego. Nasiona uzyskanych mieszańców F₁ charakteryzowały się wysoką zawartością kwasu erukowego i glukozynolanów. Dla wyselekcjonowania linii semi-RS rzepaku 00 z genem *Rfo* przeprowadzono androgenezę *in vitro* w kulturze izolowanych mikrospor trzech mieszańców F₁ o symbolach 12r, 17r, 29r. Łącznie uzyskano ponad 1000 androgenicznych roślin.

Zbadano segregację genu restorera przy pomocy izoenzymatycznego markera PGI-2 związanego z allelami genu *Rfo*. W rezultacie wyselekcjonowano 356 roślin z genem restorerem. Gen *Rfo* posiadało od 29,6% do 40,8% roślin w zależności od populacji. Natomiast cytometryczna analiza jądrowego DNA wykazała obecność od 26,6% do 51,8% podwojonych haploidów. Dlatego w kolejnym etapie haploidom podwajano liczbę chromosomów zanurzając korzenie w roztworze kolchicyny. Po jaryzacji 218 roślin rozwijało się w szklarni. Nie ze wszystkich linii DH rzepaku RS uzyskano nasiona. Od 7,9 % do 33,6 % linii DH było samopylne, natomiast od 64% do 92% roślin w zależności od populacji wykazywało samoniezdgodność lub nietypową budowę kwiatów.

W otrzymanych nasionach rzepaku RS oznaczono ilościowy skład kwasów tłuszczowych i glukozynolanów. Pośród nasion linii z genem *Rfo*: z populacji 12r 15% DH, a z populacji 17r około 10% podwojonych haploidów zawierało poniżej 1% kwasu erukowego. Natomiast zawartością glukozynolanów poniżej 15 μmol g⁻¹ charakteryzowało się 21% linii populacji 12r i 12 % linii DH populacji 17r. W rezultacie możliwe było wyselekcjonowanie czterech linii DH rzepaku semi-RS z genem *Rfo* typu 00; z populacji 12r jedna linia S3, a z populacji 17r trzy linie S2, S3, S4.

Izoenzymatyczny kodominujący marker PGI-2 związany z allelami genu *Rfo* nie zawsze jest efektywny w przypadku selekcji genotypów z allelami genu restorera i niską zawartością glukozynolanów. Dlatego w czterech liniach semi-RS typu 00 potwierdzono obecność genu *Rfo* przy pomocy markera molekularnego OPC02.

Linia S1 została przekazana Pracowni Hodowli Heterozyjnej do badań nad mieszańcami typu CMS *Sogu*. Rośliny linii DH semi-RS z trzech kolejnych populacji PH109, PH111, PH112, uzyskanych z mieszańców F₁ powstałych z krzyżowania: linia DH z genem restorerem x RS (jarmuż x rzepik jary odm. Kova), rozwijają się obecnie w szklarni. W nasionach analizowany będzie skład kwasów tłuszczowych oraz zawartość glukozynolanów.

Utworzono także nowe mieszańce F₁ z krzyżowania w układzie linie restorery x nowe linie RS. Kilka z uzyskanych mieszańców wytypowano do androgenyzy *in vitro* w przyszłym sezonie.

W ciągu całego okresu badań nad rzepakiem resytetycznym dotychczas uzyskano 40 linii rzepaku RS poprzez krzyżowanie pak choy'a, rzepiku ozimego podwójnie ulepszanego, rzepiku jarego zeroerukowego z jarmużem.

Najważniejsze osiągnięcia:

- Uzyskano cztery linie DH semi-RS rzepaku ozimego typu 00 z genem restorerem *Rfo*.
- Przekazano linię DH S1 (rzepak 00 semi RS z genem restorerem) do badań nad rzepakiem mieszańcowym Pracowni Heterozji.

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 prowadzonych badań było wyodrębnienie, spośród zróżnicowanych pod względem cech jakościowych populacji rzepaku ozimego, genotypów o zwiększonych zdolnościach adaptacyjnych do różnych warunków agroklimatycznych. Oceny nowych genotypów roślin uprawnych dokonano poprzez wykonanie doświadczeń polowych prowadzonych w różnych warunkach środowiskowych. Wykonano 4 serie doświadczeń 25-obiektowych przeprowadzonych w pięciu środowiskach o różnych warunkach agroklimatycznych. W każdym z doświadczeń brały udział dwie odmiany wzorcowe oraz 23 genotypy rzepaku ozimego, pochodzące z różnych stacji hodowlanych, wybrane na podstawie wcześniej przeprowadzonych pojedynczych doświadczeń oraz dwie odmiany wzorcowe populacyjne Monolit i Chagall, lub odmiany mieszańcowe Artoga i Visby. Wszystkie doświadczenia założono w układzie bloków losowanych w 3 powtórzeniach na poletkach o powierzchni 10–12 m². Doświadczenia prowadzone były zgodnie z zasadami agrotechniki przyjętymi dla rzepaku ozimego.

Dla środowisk, w których były przeprowadzone serie doświadczeń zostały zgromadzone dane agrometeorologiczne.

W każdej stacji na doświadczeniach polowych wykonano następujące obserwacje i pomiary: ocena bonitacyjna wschodów stanu roślin przed i po zimie, początek i koniec kwitnienia wyrażony w liczbie dni od 1.1.2013 roku, wysokość roślin i łanu w cm oraz plon nasion w kg/poletka i wilgotność nasion w %. Na podstawie uzyskanych wyników policzono długość kwitnienia dla każdego obiektu doświadczalnego a także, w celu możliwości porównania pomiędzy środowiskami, przeliczono plon nasion wyrażając go w dt/ha przy 13% wilgotności.

Wykonano zbiorcze zestawienia wyników uzyskanych dla badanych czterech serii doświadczeń polowych. Przedstawiono w nich średnie uzyskane dla każdego genotypu dla każdej z badanych cech oraz policzone najmniejsze istotne różnice (NIR). Uzyskane wyniki przedstawiono również graficznie przy pomocy wykresów „ramka-wąs” (boxplot).

Przedstawiono charakterystyki linii biorących udział w doświadczeniach dla każdego środowiska i sześciu badanych cech. Charakterystyki zawierają informacje na temat plonowania badanych linii, wczesności kwitnienia, końca i długości kwitnienia oraz wysokości roślin i łanu. Dla każdego doświadczenia wykonano pojedyncze analizy wariancji, a następnie syntezę — ogólną analizę wariancji, na podstawie której określono zmienność genotypów, zmienność środowisk oraz interakcję genotypów ze środowiskiem. Podano dla każdego doświadczenia, środowiska i każdej badanej cechy: średnie wartości uzyskane dla każdej cechy, osiągnięte w doświadczeniu maksimum i minimum, współczynnik zmienności wyrażony w %, F_{obl} uzyskany na podstawie wykonanej analizy wariancji, F_{obl} dla interakcji genotypów ze środowiskiem uzyskany na podstawie zbiorczej analizy wariancji, wartości badanych cech wyrażone w % wartości uzyskanych przez odmiany wzorcowe biorące udział w doświadczeniach.

Następnie przeprowadzono analizy statystyczne uwzględniające interakcję genotypowo-środowiskową, które 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 genotypami 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. Dla wszystkich serii doświadczeń zestawiono wyniki testowania indywidualnego poszczególnych genotypów w kolejnych doświadczeniach: średni uzyskany plon, ocenę efektu głównego, wartość statystyki F dla efektu głównego, wielkość interakcji genotypowo-środowiskowej mierzoną statystyką F, współczynnik regresji interakcji względem środowiska, wartość statystyki F dla tej regresji.

Efekty główne i proste regresji efektów interakcyjnych genotypów względem środowiska przedstawiono również graficznie. Na podstawie istotności współczynników regresji można było wskazać genotypy, które uzyskując wysokie przeciętne plony są równocześnie dobrze plonującymi we wszystkich środowiskach — są genotypami o stabilnej ekspresji genów warunkujących plonowanie, ich plonowanie w małym stopniu zależy od zmiany warunków środowiska.

W oparciu o wartości średnie badanych cech fenotypowych dla każdego doświadczenia utworzono macierze, które stanowiły bazę do wykonania dendrogramów obrazujących podobieństwo linii biorących udział w doświadczeniach. Do konstruowania dendrogramów zastosowano aglomeracyjną analizę skupień metodą Warda.

Wyniki prac pozwoliły na ocenę rodów/linii i mieszańców rzepaku ozimego pod względem plonowania i zdolności adaptacyjnych do różnych warunków agroklimatycznych. Wyodrębniono genotypy do dalszych badań: doświadczenie I — MA 268, MA 285, MA 280 i MA 282, doświadczenie II — H 1067, doświadczenie III — BK 9/12 i BK 21/12 oraz doświadczenie IV — MA 291, MA 297, BRH 13/10-2 i MA 290.

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. Celem tematu było analizowanie puli genetycznej ziemniaka pod kątem cech warunkujących przydatność do upraw ekologicznych. W szczególności analizowano związki genetyczne pomiędzy odpornością na zarazę naci, a wybranymi cechami użytkowymi (długością wegetacji, plonem bulw i cechami jakości).

Material i metody

Material. Analiza związków pomiędzy odpornością na zarazę ziemniaka a wybranymi cechami użytkowymi kontynuowana była na danych pochodzących z ocen prowadzonych dla odpornych na zarazę ziemniaka klonów wybranych z nieselekcjonowanych potomstw prowadzonych w polu w latach ubiegłych (łącznie 35 klonów z 4 kombinacji krzyżówkowych). Badane formy pochodziły z krzyżowania form odpornych na zarazę ziemniaka, których odporność warunkowana jest dwoma różnymi genami, a mianowicie genem *Rpi phu1* z *Solanum phureja* oraz genem *R9* z *S. demissum*. Klony prowadzono w polu na poletkach 30 krzakowych wraz z odmianami wzorcowymi (Miłek, Satina, Tajfun).

Ponadto w doświadczeniu polowym oceniano cechy użytkowe 38 klonów pochodzących z krzyżowań interploidalnych, w których formy tetraploidalne były donorami cech odpornościowych i jakościowych, a partnerzy diploidalni charakteryzowali się odpornością na patogeny i szczególnie wysokim poziomem właściwości kulinarnych. Klony te porównywano do 3 odmian wzorcowych (Miłek, Satina, Tajfun).

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 rodzajów hodowlanych.

Ocena odporności. Odporność na wirus Y ziemniaka nie była oceniana. Przy użyciu markera molekularnego identyfikowano formy z genem warunkującym krańcową odporność.

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 przeprowadzano opisy bujności wzrostu roślin oraz kwitnienia (barwa kwiatów). Po zbiorze bulw oceniany był ogólny i handlowy plon bulw, morfologia bulw (wielkość, regularność zarysu, głębokość oczek, typ kształtu, wady zewnętrzne bulw) oraz zawartość skrobi. W doświadczeniach założonych dla oceny zdolności kombinacyjnej szacowano dla każdego klonu plon oraz porażenie zarazą ziemniaka części nadziemnej w okresie wegetacji oraz bulw po zbiorze (ocena w skali).

Wyniki

Analiza związków pomiędzy cechami jakości, a odpornością na patogeny. W 2013 r. oceniano cechy użytkowe wybranych 35 klonów pochodzących z 4 kombinacji krzyżówkowych łączących odporność na zarazę ziemniaka warunkowaną genem *Rpi-phu1* lub *R9* z cechami użytkowymi i odpornością na wirusy. Badane formy zostały wyselekcjonowane na podstawie ocen plonu, morfologii bulw oraz odporności na zarazę ziemniaka w teście listkowym. W sezonie wegetacyjnym przeprowadzono standardowy opis roślin oraz ocenę odporności na zarazę ziemniaka w teście listkowym. Po zbiorze oceniono plon, morfologię bulw, zawartość skrobi.

Stwierdzono, że badane w doświadczeniu polowym formy charakteryzowały się: (a) plonem bulw niższym od odmian wzorcowych, (b) morfologią bulw (tj. wielkością, regularnością zarysu i głębokością oczek) oraz występowaniem wad bulw na poziomie odmian wzorcowych oraz (c) wyższą zawartością skrobi.

Na podstawie uzyskanych wyników można wnioskować, że klony odporne na zarazę ziemniaka będą charakteryzować się wyższą zawartością skrobi w bulwach. Na wystąpienie takiej zależności wskazuje korelacja pomiędzy odpornością na zarazę (ocenianą w teście listkowym) a zawartością skrobi, która została stwierdzona na podstawie ocen w nieselekcjonowanych potomstwach prowadzonych w polu w latach ubiegłych.

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 2013 roku w doświadczeniu polowym oceniano 38 klonów pochodzących z krzyżowań interploidalnych. W doświadczeniu polowym porównywano te klony do odmian wzorcowych. Średnie wartości plonu, udziału plonu handlowego, zawartości i plonu skrobi oraz wielkości bulw badanych klonów były wyższe niż stwierdzono dla odmian wzorcowych. Natomiast oceny morfologii bulw badanych klonów były na nieznacznie niższym poziomie. Badane klony charakteryzowały się wyraźnie większym nasileniem wad bulw w porównaniu do odmian wzorcowych.

Ocena zdolności kombinacyjnej odmian jadalnych przydatnych do upraw ekologicznych i niskonakładowych. Przeprowadzono trzy doświadczenia polowe, w których oceniano plon bulw oraz porażenie naci i bulw zarazą ziemniaka. Przygotowano dane do obliczeń. Przeprowadzono analizy dla danych zebranych w ciągu trzech lat doświadczeń polowych. (analizy wariancji i oceny efektów ogólnej i specyficznej zdolności kombinacyjnej) i na ich podstawie wyróżniono odmiany i rody charakteryzujące się istotnymi efektami ogólnej zdolności kombinacyjnej oraz znaleziono najkorzystniejsze kombinacje rodzicielskie.

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

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

Zakres prac obejmował zabezpieczenie *in vitro* odmian zgromadzonych w kolekcji odmian mątwikoodpornych. Przeprowadzono również charakterystykę odporności na patotypy Pa2 i Pa3 *G. pallida* odmian wprowadzonych do kolekcji w 2011 roku. Ponadto odmiany o potwierdzonej odporności na różne patotypy mątwika agresywnego przetestowano pod kątem obecności 5 markerów związanych z genami odporności na *G. pallida*. Marker SPUD1636 wytypowano jako przydatny do selekcji form o podwyższonej odporności na patotypy Pa2/Pa3 *G. pallida*.

W polu prowadzono również trzy populacje siewkowe uzyskane z krzyżowań w roku 2012 oraz przeprowadzono program krzyżowań mający na celu połączenie odporności na różne patotypy mątwików.

Charakterystyka tworzonej puli form odpornych na mątwiki.

W doświadczeniu polowym w 2013 roku oceniono cechy agronomiczne rodów uzyskanych w krzyżowaniach 2008 i 2009. Wybrane kłony oceniono pod kątem przydatności konsumpcyjnej oraz przydatności do przetwarzania na chipsy.

Przeprowadzono fenotypowe testy odporności na poszczególne patotypy mątwika ziemniaczanego i agresywnego. Wyselekcjonowano formy wyróżniające się złożoną odpornością na wszystkie patotypy mątwika ziemniaczanego i agresywnego, charakteryzujące się równocześnie akceptowalnymi cechami agronomicznymi

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

Kontynuowano charakteryzowanie diploidalnych klonów pod względem odporności na PVM i PVS. Oceniono cechy agronomiczne klonów odpornych na PVM w doświadczeniach polowych. Powiększono pulę diploidów o kolejne kłony odporne na PVM (gen *Gm*). Prowadzono polowe rozmnożenie 106 klonów, w których stwierdzono obecność markera sprzężonego z genem *Ns_{adg}*. Stwierdzono, że z tej puli można wyselekcjonować kłony o dobrym plonie oraz poprawnej morfologii bulw. Kłony te mogą służyć jako formy rodzicielskie w programie krzyżowań. Uzyskano rośliny z 19 populacji testowych (R x S) do identyfikacji form homozygotycznych pod względem genu *Ns_{adg}* – identyfikację prowadzono przy użyciu markera sprzężonego z tym genem. Nie znaleziono w 9 zbadanych populacjach form homozygotycznych *Ns_{adg} Ns_{adg}*.

Kontynuowano identyfikację 4x ziemniaków wykazujących odporność na PVM i PVS.

W odmianie ziemniaka Etiuda stwierdzono obecność genu *Rm* warunkującego odporność na PVM. Obecność tego genu stwierdzono również w 5 genotypach (10-VIII-250, 10-VIII-499, 10-VIII-875, 10-VIII-935, 10-VIII-1205) pochodzących z grupy materiałów wyjściowych. Silną reakcją nadwrażliwości na porażenie PVS w teście szczepieniowym, wskazującą na obecność genu *Ns_{adg}*, wykazały wszystkie cztery oceniane rody i odmiany: 10-VIII-499, 10-VIII-512, Etola, Zenia

W obrębie 27 izolatów PVM, zebranych w 2013 roku, wykazano zróżnicowanie w reakcji roślin testowych na zakażenie i w poziomie detekcji techniką RT-PCR, a także różnice genetyczne w genie kodującym CP między czterema wybranymi izolatami PVM.

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

Celem zadania była wstępna selekcja, odmian i rodów ziemniaka a także form 2x i 4x, po względem odporności na podstawowy patotyp *S. endobioticum* 1(D1). Poszukiwano ponadto genotypów odpornych, które wykazują odporność na wirulentne patotypy *S. endobioticum*: 2(G1), 2(Ch1), 3(M1), 6(O1), 8(F1), 18(T1) i nowy patotyp 39(P1). Dla genotypów uznanych za odporne na wczesnym etapie selekcji, kontynuowano ocenę w celu potwierdzenia odporności na liczniejszym materiale bulwowym.

Selekcja genotypów ziemniaka po względem odporności na patotyp 1(D1) wykazała, że nadal wykrywane są podatne rody (ok. 7%) na ostatnim etapie oceny – w drugim lub trzecim roku badań. Wyniki te potwierdzają zasadność oceny genotypów na dużych próbach i jednocześnie wskazują na ogromny wpływ jakości inokulum (świeże narośla rakowe) na miarodajność oceny.

Wśród odmian uprawnych ziemniaka wyróżniono 4 odmiany: Asche Sämlng, Talent, Dersiree i Igor. Pierwsza odmiana ziemniaka reaguje szybkim zamieraniem kielków, które były inokulowane patotypem 2(Ch1) lub jego nowymi izolatami. Ta unikalna reakcja pozwala na precyzyjne odróżnianie patotypu 2(Ch1) od pozostałych patotypów. Odmiana Desiree z kolei pozwala na rozróżnianie izolatów w populacji patotypu 2(Ch1) a Talent na rozróżnianie patotypów europejskich. Odmiana Igor została wyróżniona, ponieważ, po pełnej ocenie, nadal wykazywała krańcową odporność na wszystkie patotypy i izolaty *S. endobioticum*, jakie znajdują się w kolekcji IHAR-PIB. Wykonano również szereg ocen na materiałach 2x oraz 4x, które odznaczały się krańcową odpornością na wszystkie testowane patotypy. Klony 4x, pochodzące m. in. z interploidalnych krzyżowań, zachowały, po diploidalnych rodzicach, krańcową odporność na patotypy *S. endobioticum*. Badania te wymagają jednak potwierdzenia na znacznie większej próbie obiektów

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

Celem zadania dotyczącym identyfikacji odporności puli genetycznej ziemniaka na mątwika ziemniaczanego i mątwika agresywnego było usprawnienie metodyki oceny odporności opisanej w projekcie Dyrektywy Unii Europejskiej (EPPO Dokument, No. 92/3784). Weryfikowano stopień odporności linii hodowlanych oraz polskich odmian ziemniaka na 5 patotypów *Globodera rostochiensis* (Ro1–Ro5) i 3 patotypy *Globodera pallida* (Pa1-Pa3). Badania oceny odporności na patotyp Ro1 mątwika ziemniaczanego przeprowadzono łącznie na 4369 liniach tetraploidalnych ziemniaka w oparciu o obowiązującą procedurę EPPO (OEPP/EPPO, 1992).

W roku 2013 prowadzono doświadczenia nad odpornością 32 odmian ziemniaka wpisanych do Krajowego Rejestru Odmian w celu określenia ich reakcji na różne patotypy mątwika ziemniaczanego i agresywnego. Wyniki badań przesłano do COBORU. U odmian Promyk, Rumpel i Syrena zaobserwowano umiarkowaną do wysokiej odporność na nowy, występujący w kraju patotyp Ro5 mątwika ziemniaczanego. Dodatkowo przeprowadzono weryfikację stopnia odporności na patotypy mątwików Ro2, Ro3 i Ro5 oraz Pa1-Pa3 dla 1650 genotypów ziemniaka.

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 była 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 pożądaných genotypów w potomstwach. W ramach projektu prowadzone były prace związane z otrzymaniem najbardziej przydatnych w hodowli markerów genu odporności na mątwika ziemniaczanego (patotyp Ro1). Planowane było także tworzenie form typu dupleks pod względem wybranych genów odporności, co prowadzi do istotnego zwiększenia frekwencji form odpornych w ich potomstwach. Wśród celów projektu było 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.

Material i metody

Prace prowadzono ze 129 klonami wybranymi z 3 nieselekcjonowanych potomstw pochodzących z krzyżowań form charakteryzujących się krańcową odpornością na PVY (z genem *Ry fsto*)

i odpornością na patotyp Ro1 mątwika ziemniaczanego (*Globodera rostochiensis*) warunkowaną genem *HI*. Utrzymywano także 2 nioselekcjonowane potomstwa wykorzystywane w pracach związanych z identyfikacją form dupleks genu *HI*. Wykorzystywano także rody własne.

Materiały prowadzone były w polu na poletkach 7 lub 15 krzakowych. Wraz z badanymi klonami wysadzano zestaw odmian wzorcowych (Miłek, Satina, Tajfun).

Molekularna charakterystyka badanego materiału opiera się na wykorzystaniu techniki PCR z użyciem markerów związanych z poszukiwanymi genami odporności: (a) do detekcji genu *Ry fsto* stosowany jest marker GP122 (marker typu CAPS), (b) do detekcji genu *HI* stosuje się marker TG689 typu SCAR – niewymagający trawienia oraz marker 57R nie wymagający stosowania dodatkowych markerów, jako wewnętrznej kontroli reakcji PCR.

Wyniki

Metody masowej selekcji form ziemniaka w oparciu o markery molekularne.

W 2013 r. przeprowadzono doświadczenie polowe w celu oceny cech użytkowych wybranych 129 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. Porównywano je do odmian Miłek, Satina i Tajfun. W sezonie wegetacyjnym przeprowadzono opis roślin (bujność wzrostu, barwę kwiatów i obfitość kwitnienia). Po zbiorze oceniono: plon bulw, udział plonu handlowego, zawartość skrobi oraz morfologię bulw i nasilenie występowania wad (wzrostu wtórnego, kielkowania, pękania).

W poprzednich sezonach przeprowadzono identyfikację markerów GP122 (dla genu *Ry fsto*) i TG689 (dla genu *HI*) oraz fenotypowe oceny odporności na PVY i patotyp Ro1 mątwika ziemniaczanego.

Stwierdzono istotne zróżnicowanie klonów pod względem wszystkich ocenianych cech. Porównanie wybranych klonów z markerem z klonami bez markera i odmianami wzorcowymi nie wskazuje na istotne różnice między takimi grupami. Wyjątek stwierdzono dla udziału plonu handlowego – dla klonów z markerem i odmian wzorcowych udział ten był istotnie wyższy niż w grupie klonów bez markera. Ponadto badane klony miały istotnie wyższą zawartość skrobi i bardziej wydłużone bulwy od odmian wzorcowych. Jednak można uznać, że zawartość skrobi przy poziomie obserwowanym w ocenianym materiale nie ma dużego wpływu na wynik selekcji, tj. nie decyduje o wadliwości czy przydatności danego klonu. Kształt bulw również nie jest istotnym kryterium selekcji.

Identyfikacja form dupleks.

W ramach zadania dotyczącego identyfikacji form dupleks genu *HI* warunkującego odporność na patotyp Ro1 mątwika ziemniaczanego prowadzono w polu 173 klony pochodzące z dwóch kombinacji krzyżówkowych.

W celu identyfikacji form typu dupleks pod względem genu *HI* za pomocą technik molekularnych przeprowadzono reakcje Real Time PCR z wykorzystaniem barwnika SYBR Green. Przeprowadzono reakcje Real Time PCR dla 104 wybranych klonów, posiadających marker TG689 genu *HI*, oraz ich form rodzicielskich. Wykonano trzy powtórzenia techniczne. Uzyskane wyniki pozwalają rozsegregować wybrane klony potomne na klony reprezentujące typ rodzicielski (simpleks genu *HI*) oraz klony odbiegające od tego typu. 32 badane klony zostały na podstawie statystycznej analizy uzyskanych wyników uznane za formy typu dupleks pod względem genu *HI*. W celu potwierdzenia wyników uzyskanych za pomocą zastosowania reakcji Real Time PCR do różnicowania form typu simpleks i dupleks w stosunku do genu *HI* wykonano krzyżowania testowe. Do krzyżowań wybrano cztery formy typu dupleks oraz formę podatną. Uzyskano cztery populacje, łącznie 1 180 nasion.

Markery molekularne do identyfikacji odporności na patotyp Ro1 mątwika ziemniaczanego.

W ramach poszukiwań markerów przydatnych do selekcji form odpornych na patotyp Ro1 mątwika ziemniaczanego (*Globodera rostochiensis*) użyto markera 57R genu *HI*. W 2013 roku przebadano pod kątem posiadania tego markera siedem zaawansowanych rodów hodowlanych oraz 98 nowych klonów pochodzących z kombinacji Sante × Innovator. Marker został stwierdzony w 5 klonach zaawansowanych i 45 nowych klonach (liczebność ta jest zgodna z oczekiwaną w krzyżowaniu odpornej na mątwika ziemniaczanego odm. Sante z podatną odm. Innovator). Dla klonów tych przeprowadzono uprzednio laboratoryjną ocenę odporności na patotyp Ro1 mątwika ziemniaczanego. Nie stwierdzono występowania rekombinantów.

Identyfikacja wybranych genów odporności markerami molekularnymi w różnych pulach materiałów. Oceniono 8 genotypów różniących się pochodzeniem, gdyż dwa z nich pochodziły z CIP i były mieszańcami pomiędzy *S.tuberosum* ssp. *tuberosum* i ssp. *andigena*. W materiałach tych sprawdzano obecność markera genu krańcowej odporności na PVY oraz przeprowadzono ocenę fenotypową po sztucznej inokulacji mechanicznej z użyciem izolatu z grupy PVY^{NTN}. Stwierdzono całkowitą zgodność pomiędzy genotypem (tj. obecnością markera GP122 dla genu *Ry fsto*), a fenotypem obserwowanym po zakażeniu mechanicznym.

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 bieżącym roku w realizowanym projekcie wykonano szereg prac badawczych zmierzających kolejno do opracowania materiałów i metod diagnostycznych do wykrywania i identyfikacji bakterii *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* (*Cms*), określenia warunków rozprzestrzeniania i przeżycia *Cms* w środowisku, zbadania oddziaływań z naturalnymi substancjami roślin ziemniaka stymulującymi i hamującymi wzrost bakterii *Cms*, jak również opracowania i wykorzystania substancji o charakterze pro-ekologicznym w utylizacji zainfekowanego materiału roślinnego.

W ramach zadania związanego z opracowaniem materiałów diagnostycznych, wykonano badania pozwalające na polepszenie i optymalizację materiałów do selektywnego izolowania, koncentracji i identyfikacji komórek bakterii *Cms* z ekstraktów bulw ziemniaka. W oparciu o uzyskane materiały oraz wprowadzone modyfikacje opracowano metody umożliwiające wykrywanie bakterii *Cms* z wyższą czułością i specyficznością niż za pomocą obecnie stosowanych, dopuszczonych przez EPPO klasycznych metod detekcji bakterii *Cms*. Wykonano również badania dotyczące oznaczania jakości opracowanych przeciwciał anty-*Cms* pod kątem ich specyficzności względem różnych szczepów bakterii *Cms*, innych podgatunków gatunku *Clavibacter michiganensis* oraz innych patogenów ziemniaka. Wykazano przydatność opracowanych materiałów do przyżyciowego izolowania czystych kultur bakterii *Cms* przy bezpośredniej izolacji bakterii *Cms* z buforowanych ekstraktów roślinnych oraz posiew komórek i wzrost uzyskanych kolonii bakteryjnych na podłożu wzrostowym. Opracowane materiały okazały się również wysoce przydatne w identyfikacji molekularnej bakterii *Cms* przy pomocy testu PCR po bezpośredniej izolacji DNA opracowanego w ramach zadania 3. Skuteczność opracowanych rozwiązań oceniano w obecności tkanki bulw 9-ciu zróżnicowanych odmian ziemniaka w trzech niezależnych laboratoriach zewnętrznych. W porównaniu ze standardowymi testami przesiewowymi IFAS i PCR, opracowane rozwiązania charakteryzowały się lepszą specyficznością, czułością, szybkością i łatwością wykonania.

W badaniach dotyczących identyfikacji *Cms* w oparciu o technikę PCR, opracowano rozwiązania, które pozwoliły na podniesienie czułości i specyficzności oraz jednocześnie uproszczenie procedury wykrywania *Cms* techniką PCR bezpośrednio z ekstraktu roślinnego. Aby określić wpływ składników soku ziemniaczanego na skuteczność immunopułpkowania i końcowy wynik testu, badania prowadzono zarówno na czystych kulturach *Cms*, jak również w ekstrakcie ziemniaka. Badaniu poddano skrajnie zróżnicowane mukoidalnie szczepy *Cms*, natomiast jako test odnośny stosowano standardowy, zalecany przez EPPO klasyczny test PCR ze starterami PSA 1/R.

W ramach badań dotyczących epidemiologicznych aspektów bakteriozy pierścieniowej ziemniaka, określano czas przeżycia sprawcy bakteriozy pierścieniowej ziemniaka zarówno w skontaminowanej glebie w warunkach polowych, jak również na powierzchni różnych materiałów przechowywanych w zmiennych warunkach temperatury i wilgotności. Dzięki opracowanej metodyce badawczej, stwierdzono znaczną redukcję liczebności komórek badanego szczepu NCPPB 4053 w środowisku glebowym w warunkach polowych. Wykazano również zróżnicowaną przeżywalność komórek *Cms* inkubowanych na powierzchni materiałów typu drewno, guma, juta, polipropylen (pp), papier pakowy, beton i stal, poddanych działaniu zmiennych warunków wilgotności i temperatury. Największą

przeżywalność bakterii *Cms* stwierdzano na próbach inkubowanych w piwnicy w okresie zimowo-wiosennym i na powierzchni betonowej, natomiast najkrótszą żywotnością charakteryzowały się bakterie *Cms* poddane działaniu warunków atmosferycznych na poletku doświadczalnym oraz izolowane z drewna.

W ramach badań dotyczących substancji białkowych z ziemniaka zdolnych do oddziaływania z *Cms*, izolowano, charakteryzowano oraz badano antybakteryjny wpływ na komórki *Cms* białek izolowanych z soku bulw wyselekcjonowanych odmian ziemniaka. Badania przeprowadzono na sześciu odmianach o zróżnicowanej podatności na porażenie bakteriami *Cms*, odpowiednio trzech tolerancyjnych oraz trzech podatnych. Wpływ na wzrost badanych szczepów bakterii *Cms* uzyskanych dzięki zastosowaniu technik jonowymiennej chromatografii membranowej frakcji białkowych, oceniano przy pomocy opracowanego testu przyżyciowego oraz technik mikrobiologicznych. Wykazano zdolność hamowania wzrostu bakterii *Cms* głównie w obecności białek o charakterze zasadowym, izolowanych z odmian wykazujących tolerancję na obecność bakterii *Cms*. Preparaty zawierające frakcje białek o charakterze kwaśnym izolowanych na membranie jonowymiennej Q wykazywały umiarkowane hamowanie wzrostu bakterii *Cms*. Zaobserwowano, iż aktywność antybakteryjna w znacznym stopniu korelowała z wysoką aktywnością peroksydazową preparatów, przy czym białka zasadowe izolowane z odmian tolerancyjnych na *Cms* wykazywały silniejsze działanie antybakteryjne, nawet przy niższej aktywności peroksydazowej. Stwierdzono działanie antybakteryjne frakcji białek termostabilnych oraz brak hamowania wzrostu *Cms* w obecności soków wyjściowych izolowanych z badanych odmian.

W ramach zadania dotyczącego substancji o charakterze pro-ekologicznym, opracowano sposób wytwarzania preparatu antybakteryjnego na bazie nanocząsteczek koloidu srebra syntetyzowanych w obecności komponentów roślinnych przyjaznych dla środowiska. Wykazano użyteczność i skuteczność antymikrobiologiczną opracowanego preparatu jako pro-ekologicznego środka dezynfekcyjnego pozwalającego eliminować żywotność badanych szczepów bakterii *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus*. Spośród opracowanych preparatów zróżnicowanych zawartością substancji redukujących, skuteczniejszy w ograniczaniu żywotności komórek bakterii *Cms* okazał się preparat syntetyzowany przy udziale mniejszej koncentracji ekstrahowanych substancji, przy czym bardziej podatne na działanie preparatu okazały się szczepy *Cms* o wyższym stopniu mukoidalności.

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 K. Treder

Wytworzenie materiałów diagnostycznych do wykrywania infekcji wirusowych w roślinach ziemniaka:

W celu optymalizacji izolacji wirusa ziemniaka M modyfikowano procedurę Maat i Mierzwa (Potato Research. 1975 18/1. 126-129) poprzez dodanie etapu strącania białek roślinnych za pomocą 1M chlorku wapnia. Ponadto w celu dalszej eliminacji białek roślinnych, podczas ultrawierowania stosowano poduszkę z 20% sacharozy. Preparat oczyszczony metodą modyfikowaną zawierał głównie białko płaszczka PVM o wielkości 34 kDa, podczas gdy preparaty izolowane metodą oryginalną zawierały głównie białka, których skład i wielkości były identyczne z ekstraktem białkowym z roślin wolnych od wirusów. W ramach zadania podjęto również próbę adaptacji chromatografii membranowej na membranie jonowymiennej Q75 do izolacji wirusa PVM. Wirus silnie wiązał się ze złożem, optymalne stężenie soli, potrzebne do jego elucji wynosiło 0,5 M. Po połączeniu frakcji zawierających wirus uzyskano preparat o stężeniu białka zbyt niskim by można go było analizować elektroforetycznie. Podejmowano różne próby zagęszczenia preparatu (wirowanie na filtrach o niskich punktach odcięcia, strącanie solami, ultrawierowanie). Żadna z podjętych czynności nie doprowadziła do uzyskania zatężonego preparatu wirusa. W związku z powyższym do produkcji przeciwciał stosowano preparat PVM oczyszczony za pomocą zmodyfikowanej metody tradycyjnej. Przeciwciała

o wyraźnym mianie uzyskano dopiero po trzykrotnym cyklu immunizacyjnym. Miano surowic króliczych uzyskanych po trzecim (S3) i czwartym (S4) cyklu było podobne i wynosiło ok 500 000.

Opracowanie metod wykrywania obecności wirusów w bulwach ziemniaka bezpośrednio po zbiorze lub w trakcie przechowywania bulw:

Celem zadania jest opracowanie metodyki pozwalającej na wiarygodne wykrywanie infekcji wirusowych w ekstraktach z tkanek bulw (sokach) oraz w ekstraktach z kiełków.

Porównanie wykrywalności wirusów w bulwach za pomocą testu koktajl-ELISA z wykrywalnością w kiełkach i w roślinach z prób oczkowych za pomocą DAS-ELISA.

Badania porównujące próbę oczkową z testem koktajlowym na bulwach były prowadzone w roku 2013 przez trzech niezależnych wykonawców określanych jako Wykonawca I-III. Bulwy testowane były za pomocą testu koktajl-ELISA wykonanego na bulwach z przechowalni (koktajl termin I) oraz na tych samych bulwach inkubowanych przez 24h w temperaturze pokojowej (koktajl termin II). Następnie bulwy z tych samych roślin podkiełkowano i wykonano test koktajl-ELISA na ekstraktach z kiełków (kiełki). Z bulw wycinano oczka i liście potomnych roślin testowano DAS-ELISA (próba oczkowa). Wykonawca I w roku 2013 przebadał 120 bulw. W próbie oczkowej zidentyfikowano 52 porażenia PVM oraz 60 wirusem PVY. Nie zdiagnozowano porażenia PLRV. Zgodność otrzymanych wyników z próbą oczkową była niska dla PVM (20%) i nieco wyższa dla PVY (63%). W drugim terminie badania bulw testem koktajl po inkubacji bulw w temperaturze pokojowej wykryto 76 porażen wirusem PVM i 42 wirusem PVY. Zgodność otrzymanych wyników z próbą oczkową dla PVM wynosiła 98%, a dla wirusa PVY 67%. Wykonawca II przebadał 180 bulw. W próbie oczkowej wykryto PVY w 109, PVM w 76 i PLRV w 99 bulwach. W pierwszym terminie badania bulw zidentyfikowano 101 bulw porażonych PLRV, w tym 91 zgodnych z próbą oczkową (92% zgodności). W drugim terminie testowania bulw wykryto 77 porażen, 72 zgodne z oczkową (73% zgodności). W kiełkach wykryto 62 porażenia PLRV (62% zgodności). Dla PVM w pierwszym terminie wykryto 85 porażen, z czego zgodne z oczkową było 62 (82% zgodności). W drugim terminie wykryto 56 porażonych bulw (74% zgodności). W kiełkach wykryto 46 z 76 porażonych roślin. Wykonawca III nie wykrył w badanych próbach PLRV. Wirusa PVM wykryto próbą oczkową w 103 próbach co stanowi 34 wszystkich testowanych. Podobną liczbę wykryto w pierwszym terminie badania bulw, w dodatku z wysoką zgodnością na poziomie 89%. W drugim terminie zidentyfikowane zostało 97 bulw (93% zgodności). Również testowanie kiełków pozwoliło wykryć około 30% porażen z 85% zgodnością względem próby oczkowej. W przypadku PVY w próbach oczkowych wykryto 6 porażonych roślin, w pierwszym terminie testem koktajl 3 bulwy, a w drugim terminie 2 bulwy, podobnie jak w przypadku kiełków. Dla tego wirusa testowanie bezpośrednio w bulwach obniżyło wykrywalność o 50%.

Test na kiełkach wykrywał porażenia w 100% w tych samych bulwach co próba oczkowa, jednak liczba wykrytych porażen była niższa. Test koktajl ELISA wykonywany na bulwach z przechowalni pozwolił na wykrycie porażen wirusowych na poziomie 10-56%, ale zgodność uzyskanych wyników w odniesieniu do próby oczkowej DAS ELISA nie jest zadowalająca dla wszystkich wirusów. Inkubacja bulw w temperaturze pokojowej wywierała zmienny wpływ na wykrywalność wirusów w zależności od wykonawcy. Kondycjonowanie bulw w temperaturze pokojowej, opisywane w literaturze, jako zwiększające wykrywalność wirusów nie ma jednoznacznie takiego wpływu w opisanych wynikach badań. W próbie oczkowej wykrywa się nawet siedmiokrotnie więcej porażen PVY niż w próbie koktajlowej na bulwach. 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.

Wpływ odporności na wykrywalność wirusów w bulwach.

Wiosną wysadzono na polu zdrowe sadzeniaki. Pod koniec sierpnia zebrano i ponumerowano po trzy bulwy spod każdej rośliny. Po czterech tygodniach przechowywania bulwy umyto, przebadano testem koktajl-ELISA, pobierając fragment części przystolonowej. Z tych samych bulw wycięto po trzy oczka do próby oczkowej oraz po trzy oczka do badania kiełków. Badano łączone ekstrakty z trzech bulw oraz z kiełków i liści uzyskanych z oczek. Ekstrakty z bulw badano, stosując koktajl-ELISA a kiełki i liście – DAS-ELISA. W badaniu porażenia PVY stosunkowo dobrą zgodność wyników obserwowano dla odmiany Quincy. Odporność tej odmiany na porażenie wirusem PVY wynosi 3,5. W przypadku odmian Irys i Zeus za pomocą testu koktajl-ELISA w bulwach wykryto infekcję PVY tylko w 9 (Irys) i 2 (Zeus) roślinach, podczas gdy zarówno test na kiełkach, jak i próby oczkowe na

liściach wykazały, że znaczna część roślin była porażona tym wirusem. Odporność dla Irysa wynosi 5,5 a dla Zeusa 7. Dla PVM i PLRV obserwowano wysoką zgodność skuteczności wykrywania wirusa w bulwach, kielkach i w liściach z roślin uzyskanych z oczek.

Z przeprowadzonych badań wynika, że odporność odmianowa ma wpływ na wykrywanie wirusa PVY. Im wyższa klasa odporności tym wyniki między bulwami a próbą oczkową są mniej zbieżne. Ponadto obserwowano bardzo dobrą zgodność pomiędzy oceną porażenia bulw wykonaną na kielkach i za pomocą klasycznej próby oczkowej. Należy jednak zwrócić uwagę, że jest to doświadczenie dwuletnie. Wyciągnięcie „twardych” wniosków wymaga kontynuacji badań.

Zastosowanie czułych metod molekularnych do wykrywania wirusów w roślinach wprowadzanych do banku genów:

Materiałem badawczym były losowo zebrane liście roślin ziemniaka porażone wirusem PVY. Za pomocą zestawów komercyjnych RNA izolowano ze 100 mg tkanki, a w metodzie izolacji na krzemionce wykorzystano sok z roślin (ok. 50 µl). Izolacja RNA przy użyciu komercyjnych zestawów była wykonana wg firmowych protokołów. Przetestowano NucleoSpin® RNA Plant (Nr kat. 740949.10, Macherey-Nagel), Isolate Plant RNA (Nr kat. BIO-52071, Bioline), Plant RNA MiniKit (Nr kat. SY341011, Syngen), GeneJet RNA Purification (Nr kat. K0731, Thermo Scientific), Zestaw do izolacji całkowitego RNA z bakterii, hodowli komórkowych, tkanek i krwi (Nr kat. 031-25, A & A Biotechnology), RNA 3-zone (Nr kat. RA1000-10, Novazym). Wśród wybranych zestawów najtańszy był odczynnik RNA 3-zone, a najdroższy (7-krotnie wyższe koszty za próbę) – zestaw NucleoSpin RNA Plant. Najwygodniejsze były kity NucleoSpin RNA Plant oraz Plant RNA MiniKit. Izolacja w obu przypadkach została zrealizowana w ciągu 30 minut, ale dała tylko 15 ng RNA. Dłuższy czas izolacji (60 min) przy użyciu zestawu GeneJet RNA Purification został zrekompensowany przez dobrą wydajność RNA (26ug). Kit A&A Biotechnology wymagał wieloetapowej procedury i był najbardziej pracochłonny spośród testowanych modeli zawierających kolumnienki. Najniższą wydajność RNA (13ug), otrzymano z Isolate Plant RNA. Najbardziej skoncentrowany preparat (34 ug) oczyszczono za pomocą zestawu RNA 3-Zone, jednakże ta metoda izolacji była najdłuższa i najtrudniejsza do wykonania. Stosunek 260/280 dla wszystkich badanych prób był równy 2,0 lub większy. Wyjątkiem była izolacja na krzemionce, dla której wynosił on 1,87. Stosunek niższy niż 2,0 nie jest zaskakującym wynikiem, ponieważ ta procedura oczyszcza zarówno kwas rybonukleinowy, jak i deoksyrybonukleinowy. Wydajność izolacji tą metodą wynosi 30µg, która to wartość jest podwyższona ze względu na obecność DNA w próbce. Aby sprawdzić czy wybór metody izolacji RNA może wpływać na czułość wykrywania PVY za pomocą RT-PCR, wszystkie RNA doprowadzono do 100 ng/ml i 10-krotne rozcieńczano do 1pg/ml. Syntezę cDNA przeprowadzono przy użyciu zestawu do odwrotnej transkrypcji Super Verte Kit (Novazym). DNA amplifikowano w reakcji PCR przy użyciu własnych starterów Y5-F oraz Y-5R generujących produkt wielkości 159 pz. Para starterów Y5 została zaprojektowana przez nas dla wysoce konserwatywnego regionu białka CI wirusa i teoretycznie powinna amplifikować wszystkie obecnie zsekwencjonowane izolaty PVY. Przy wyższych stężeniach RNA wszędzie był widoczny wyraźny prążek, jednak w najniższym stężeniu RNA (1pg/ml całkowitego RNA) słaby, ale specyficzny prążek wykryto tylko w próbkach RNA izolowanych przy użyciu krzemionki, zestawu GeneJet RNA Purification oraz zestawu Plant RNA MiniKit.

Najwyższą czułość detekcji PVY osiągnięto, stosując RNA wyizolowane na krzemionce oraz przy użyciu komercyjnych zestawów - Plant RNA MiniKit (Syngene) i GeneJet RNA Purification (Thermo Scientific). Izolacja RNA na krzemionce stanowi dobrą i efektywną ekonomicznie alternatywę dla zestawów komercyjnych.

Opracowanie testów przydatnych do wykrywania wirusów w warunkach polowych:

Test RT-LAMP pozwala na wykrycie wirusa w czasie 12-15 minut. Test można wykonywać w łaźni wodnej lub w jakimkolwiek inkubatorze zapewniającym uzyskanie 60-65°C. Jednak bardziej jednorodnie warunki temperaturowe oraz możliwość monitorowania postępu reakcji w czasie rzeczywistym umożliwia urządzenie do amplifikacji izotermicznej firmy OptiGen – Genie II. Urządzenie jest niewielkie, można je zasilać baterią, dlatego idealnie nadaje się do wykonywania testów polowych. Ponadto pozwala na pomiar fluorescencji, dzięki czemu czułość wykrywania wirusów znacznie wzrasta. W związku z tym dopracowano test RT-LAMP do polowego wykrywania

wirusów, stosując wirus ziemniaka Y (PVY) jako organizm modelowy. Test pozwalał na wykrycie różnych szczepów PVY i był ok 100-krotnie bardziej czuły niż RT-PCR.

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. Warunkiem właściwego stosowania mikrorozmnażania powinno być zapewnienie stabilności cech rozmnażanego materiału genetycznego. Prace badawcze prowadzono w 3 zadaniach.

Opracowanie i zastosowanie technik *in vitro* dla mikrorozmnażania ziemniaka

(Pracownia Zasobów Genowych i Kultur *in vitro* Bonin)

W 2013 roku ocenie poddano 4 genotypy ziemniaka: Bursztyn, Legenda, Stasia i Zenia pod kątem opracowania metod ich szybkiego rozmnażania. Celem zadania było określenie wpływu zastosowanych technik mikrorozmnażania na wzrost, rozwój i plonowanie ocenianych odmian.

Wiosną 2013 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 Stasia, niższe – u pozostałych odmian. Gęstość sadzenia roślin na 1m² ma istotny wpływ na uzyskane współczynniki rozmnażania. W miarę zwiększania się obsady na 1m² uzyskuje się niższe współczynniki, nawet o 45% (odmiana Legenda z 8,92 do 4,84).

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 4 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:

- I. 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;
- II. 3 dni w fitotronie; warunki j.w.; dzień/noc → przeniesienie kultur do ciemnego pomieszczenia - noc, 18-20⁰C, 12 tygodni;
- III. 3 tygodnie dzień/noc, 20⁰C → przeniesienie kultur do ciemnego pomieszczenia – noc, temperatura 8-10⁰C, 9 tygodni;
- IV. 3 dni w fitotronie, temperatura 20-22 ⁰C, oświetlenie ok. 3 tys lux, dobowy cykl dzień/noc (16/8h) → przeniesienie do pomieszczenia ciemnego, temperatura 8-10⁰C, 12 tygodni.

Przeprowadzono ocenę genotypów pod kątem ich przydatności w produkcji mikrobulw – tj. bulw wyprodukowanych w szkle. Warunki utrzymywania kultur *in vitro* (temperatura, światło) oraz odmiana miały istotny wpływ na produkcję mikrobulw. Rodzaj zastosowanej pożywki nie miał istotnego wpływu na mikrotuberyzację. Najwyższy współczynnik rozmnażania uzyskano dla odmiany Stasia, natomiast odmiana Bursztyn plonowała na niskim poziomie (współczynnik 0,69). Dla każdego genotypu ocenie poddano 2400 roślin *in vitro* tj. wykonano 9600 analiz.

Uzyskane rok wcześniej mikrobulwy odmian Bursztyn, Legenda, Stasia i Zenia zostały wysadzone do skrzynek zawierających ok. 15 l podłoża kompostowo-torfowego. Zastosowano 3 gęstości sadzenia 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 (Zenia z 12,01 do 6.10).

Minibulwy ocenianych odmian wysadzono w warunkach polowych rozmnożeń w roku 2013. Doświadczenie polowe z wybranymi odmianami założono w układzie bloków losowanych w trzech powtórzeniach. Zastosowano trzy wielkości wysadzanych minibulw:

- I. minibulwy o średnicy > 3 cm,
- II. minibulwy o średnicy 3-2 cm,
- III. 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 Legenda, najwięcej odmiana Stasia u której uzyskano wysoki współczynnik rozmnażania. W warunkach polowych minibulwy o średnicy poniżej 2 cm dały plon o ok. 17-29 % niższy w porównaniu z minibulwami większymi. Odmiany Bursztyn i Legenda zareagowały najwyższym, bo 28-procentowym spadkiem plonu.

Badania nad szybkim mnożeniem minibulw z wykorzystaniem technologii hydroponicznej i zbiorem w trakcie wzrostu roślin matecznych

(Pracownia Fizjologii Zakładu Agronomii Ziemiaka w Jadwisinie).

W badaniach zastosowano trzy prototypowe urządzenia do aeroponicznej uprawy ziemniaka. Podstawę każdego z nich stanowił stół z aluminiową wanną, wykonany w wersji mobilnej, pozwalającej na swobodne przemieszczanie. Na każdym stole ustawiono komorę aeroponiczną, skonstruowaną z lekkich, ocynkowanych profili stalowych, osłoniętych po bokach folią dwubarwną, zewnętrznie białą refleksyjną. Od góry konstrukcję zamykały blaty wykonane z PCV z otworami na rośliny. Liczba otworów na każdym stole wynosiła od 108 do 126, zależnie od kombinacji.

Instalacja do podawania pożywki w każdym z trzech urządzeń składała się ze zbiornika o wymiarach 600 x 700 x 550 mm i pojemności 300 litrów, pompy pobierającej pożywkę ze zbiornika przez rurociąg ssący, filtra dyskowego, przewodu Tricoflex oraz instalacji zamgławiającej, znajdującej się w komorze aeroponicznej. Wydajność zamgławiaczy dla każdej komory ustalono na 308 l/godzinę. Zabezpieczenie pompy przed pracą na sucho stanowił czujnik poziomu pożywki w zbiorniku. Drenaż spływał ze stołu przez otwór spustowy, grawitacyjnie do zbiornika z pożywką. Układ zaworów PCV pozwalał manualnie ustawić przelew powrotny do zbiornika i ustawić żądane ciśnienie. Pracą każdego z urządzeń aeroponicznych zarządzały sterowniki czasowe Galcon AC-6S, które umożliwiły zaprogramowanie czasu wtrysku pożywki, czasu przerwy między wtryskami w ciągu dnia oraz w nocy.

Doświadczenia przeprowadzono na średnio wczesnych odmianach: Ametyst i Tajfun. Mikrobulwy tych odmian otrzymano z Pomorsko-Mazurskiej Hodowli Ziemiaka. Zastosowano dwie gęstości sadzenia: 36 i 42 rośliny na 1 m². W ten sposób uzyskano trzy kombinacje:

- I. Aeroponika I (AE I) – sadzenie roślin do koszyczków; gęstość sadzenia 36 roślin /m².
- II. Aeroponika II (AE II) – sadzenie bezpośrednio do otworów; gęstość sadzenia 36 roślin /m².
- III. Aeroponika III (AE III) - sadzenie roślin do koszyczków; gęstość sadzenia 42 roślin /m².

Wytwarzanie minibulw prowadzono dwoma metodami: a/ przy zastosowaniu urządzenia do aeroponicznej uprawy ziemniaka b/ metodą tradycyjną, w substracie glebowym.

Współczynnik rozmnażania zależny był od odmiany. 'Ametyst' charakteryzował się wyższym współczynnikiem rozmnażania (32,02) niż 'Tajfun' (29,09). Najwyższą wartość tego współczynnika u odmiany Ametyst (36,36) uzyskano w kombinacji AE II. U odmiany Tajfun różnice między systemami AE nie były istotne.

W doświadczeniu przeprowadzonym metodą tradycyjną, w substracie glebowym, współczynnik rozmnażania był również zależny od odmiany. Stwierdzono, iż 'Ametyst' charakteryzował się wyższym poziomem tego współczynnika (8,94) niż 'Tajfun' (7,11).

Współczynnik rozmnażania badanych odmian ziemniaka uzyskany z roślin rosnących w systemie aeroponicznym wyrażony w procentach w stosunku do współczynnika uzyskanego z roślin rosnących w substracie glebowym wynosił w najlepszej kombinacji 407% u odmiany Ametyst i 413% u odmiany Tajfun. Liczba minibulw wyprodukowanych w aeroponice przekroczyła zatem wartość progową dla opłacalności stosowania systemu wynoszącą 1300 minibulw z 1 m². Plon badanych odmian wynosił średnio 180% w stosunku do plonu uzyskanego z substratu glebowego, a wielkość minibulw - średnio 76%.

Adaptacja technik *in vitro* dla mikorozmnażania 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 10 genotypów ziemniaka. W doświadczeniu stosowano metodę połączoną: termoterapii z hodowlą tkanek merystematycznych *in vitro*. Do doświadczenia pobrano genotypy ziemniaka w 100% porażone wirusami S, M i Y. Wstępnie materiał został przebadany na obecność bakterii *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* i *Ralstonii solanaceum*. Wykonano 30 testów 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 16/8h i odpowiednio temperaturach 35-37⁰C(dzień) i 30-33⁰C(noc). Okres działania temperatur był różny (od 4 do 8 tygodni). W 3. tygodniu wzrostu, za pomocą testu PCR (reakcja łańcuchowa polimerazy), wykonano 30 testów 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 (64% zdrowych kultur). Największe trudności sprawia wirus S, najczęściej stwierdzany w przebadanych kulturach. Ponowne termoterapie (z roślin *in vitro*) i izolowanie merystemów pozwalają, być może na uzyskanie zdrowych kultur. Ewentualne zastosowanie chemioterapii zwiększy szanse na uzyskanie genotypów wolnych od wirusa S i M.

Najważniejsze osiągnięcia:

- Opracowanie metod szybkiego rozmnażania dla kolejnych wybranych odmian ziemniaka wpisanych do Rejestru Odmian.
- Opracowanie projektu i wykonanie trzech systemów urządzenia do aeroponicznej uprawy ziemniaka.
- Opracowanie technologii produkcji minibulw z mikrobulw ziemniaka z wykorzystaniem urządzeń do aeroponicznej uprawy oraz zbiorami w trakcie wzrostu roślin.

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.

W ramach realizowanego tematu w roku 2013 przeprowadzono doświadczenie w warunkach hali wegetacyjnej dla sześciu genotypów ziemniaka, w którym zastosowano dwutygodniową suszę glebową, trzy tygodnie po rozpoczęciu tuberyzacji. Badano następujące odmiany: Bogatka, Igor, Jubilat, Jurek, Legenda, Malaga.

Celem prowadzonych badań była:

- Ocena zdolności do unikania i do tolerowania odwodnienia przez rośliny ziemniaka i określenie występującej zmienności w obrębie różnych genotypów pod względem cech pogarszających wygląd bulw.

- Ocena genotypów roślin ziemniaka pod względem produkcji biomasy, skrobi, cukrów redukujących, sacharozy w warunkach suszy glebowej.
- Charakterystyka zdolności roślin ziemniaka w warunkach suszy wykazujących zmiany w tolerowaniu niedoboru wody w stosunku do roślin kontrolnych do utrzymywania potencjału redoks na podstawie oceny stopnia karbonylacji białek.
- Poszukiwanie białek, których synteza jest specyficznie indukowana, zmienia się (wzrasta/spada) lub zostaje zahamowana pod wpływem suszy.

Otrzymane wyniki pozwoliły na sformułowanie następujących wniosków:

- Wykazano, że odmiana Legenda jest odporna na suszę glebową.
- Wykazano, że zawartość grup karbonylowych zmniejsza się w liściach roślin poddanych suszy glebowej, natomiast zwiększa się w bulwach i korzeniach.
- Intensywność utleniania białek wydaje się być niezależna od odporności odmian na suszę mierzzonej plonem bulw.
- Zidentyfikowano dziesięć białek charakteryzujących proteom korzeni ziemniaka wrażliwych na suszę glebową.
- Wykazano, że ekspresja białek histonowych, białek odpowiedzialnych za osmoregulację (akwaporyny) i przenoszenie sygnałów (kinaza NDP) oraz metabolizm energetyczny jest zwiększona w korzeniach ziemniaka wrażliwego na suszę glebową.

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

Celem prac prowadzonych przez IHAR-PIB Oddział w Jadwisinie było pozyskanie i gromadzenie danych eksperymentalnych, uzyskiwanych w badaniach polowych, przechowalniczych i laboratoryjnych, pozwalających na ocenę zakresu zmienności puli genetycznej *Solanum tuberosum* a także ocena interakcji genotypowo–środowiskowej tych cech wymienionego gatunku, które determinują jego wartość agrotechniczną i użytkową w tym także bezpieczeństwo żywieniowe i paszowe.

Wykonane dla jego realizacji zadania badawcze obejmowały następujące zagadnienia:

1. Analiza parametrów rozwoju roślin ziemniaka determinujących plon i jego strukturę.
2. Ocena zakresu zmienności w puli genetycznej ziemniaka pod względem abiotycznie uwarunkowanych cech, pogarszających wygląd bulw (podatność na spęknięcia fizjologiczne, deformacje, pustowatość, rdzawa plamistość).
3. Analiza zależności pomiędzy warunkami środowiska uprawy a genotypem w powstawaniu chorób skórki bulw powodowanych przez: *Rhizoctona solani*, *Helminthosporium solani*, *Streptomyces scabies*.
4. Poszukiwanie form łączących małe wymagania nawozowe oraz niską kumulację azotanów i glikoalkaloidów w bulwach ziemniaka.
5. Ocena genotypów roślin ziemniaka pod względem zdolności do produkcji biomasy, skrobi i jej jakości oraz białka.
6. Identyfikacja źródeł zmienności parametrów procesu kiełkowania sadzeniaków ziemniaka (liczba kiełkujących oczek, długość okresu spoczynku, intensywność kiełkowania, itp.).
7. Badanie wpływu genotypu na cechy konsumpcyjno-technologiczne w okresie przechowywania
8. Określenie trwałości przechowalniczej genotypów ziemniaka w zależności od warunków przechowywania.
9. Kwantyfikacja cech określających przydatność odmian ziemniaka do produkcji ekologicznej oraz niskonakładowej.

Materiał badawczy wymienionych zadań stanowiło 61 nowych genotypów ziemniaka wytypowanych przez krajowe jednostki jego hodowli. Z tego w badaniach polowych oraz ocenach i analizach

laboratoryjnych prowadzonych bezpośrednio po zbiorze uwzględnione zostały 34 genotypy, 9 oceniano w aspekcie przydatności do uprawy ekologicznej a 35, uwzględnionych w badaniach polowych w sezonie wegetacyjnym 2012 stanowiło przedmiot kompleksowych badań przechowalniczych oraz oceny przydatności użytkowej w sezonie 2012/2013.

Obserwacyjno-pomiarowe doświadczenia polowe przeprowadzono w 4 miejscowościach zlokalizowanych w województwach: mazowieckim zachodniopomorskim, warmińsko-mazurskim i pomorskim. Każdy uwzględniony w badaniach genotyp uczestniczył w doświadczeniach zrealizowanych w 2 punktach, zaś wszystkie badania i oceny laboratoryjne i przechowalnicze uzyskanych plonów zostały wykonane w IHAR-PIB Oddział w Jadwisinie, w Zakładzie Agronomii Ziemiaka oraz w Zakładzie Przechowalnictwa i Przetwórstwa Ziemiaka. Warunki siedliskowe doświadczeń polowych charakteryzowało średnie zróżnicowanie warunków glebowych i agrotechnicznych, natomiast układ czynników meteorologicznych w kolejnych miesiącach wegetacji był w poszczególnych punktach badawczych bardzo zróżnicowany. Odnotowano znaczną lokalną dynamikę zarówno opadów jak i temperatury. Najmniej opadów- łącznie tylko 290,4mm odnotowano w punkcie badawczym 2, podczas gdy w miejscowościach 1 i 3 wyniosły one niewiele poniżej 500mm (odpowiednio 495,mm i 480,4mm). Punkt badawczy 2 był też miejscem o najniższej średniej temperaturze powietrza -14,2°C. Jednocześnie, porównanie warunków termicznych w kolejnych miesiącach roku 2013 w poszczególnych punktach badań z odpowiednimi wartościami miesięcznych średnich wieloletnich wykazało, że sezon wegetacyjny cechował się występowaniem zdecydowanie wyższych temperatur w głównych miesiącach rozwoju roślin. W okresie maj- sierpień kształtowały się one od 0,3°C - do 2,6°C powyżej wartości średnich wieloletnich.

Odnotowana zmienność warunków okazała się ważnym czynnikiem modyfikującym rozwój roślin, poziom nagromadzonego plonu a także jego jakość. Wyniki analiz wykazały, bowiem, że niezależnie od zmienności genotypowej wiele spośród ocenianych cech podlegało także silnej zmienności genotypowo-środowiskowej. Udowodnione zostały również genotypowo-środowiskowe uwarunkowania, co do kształtowania właściwości determinujących wartość plonu przechowywanego tj. pochodzącego ze zbiorów 2012.

Wyniki badań upoważniają do przedstawienia następujących wniosków:

- Występowanie i długość faz rozwoju roślin było silnie modyfikowane warunkami środowiska, ale wśród materiałów poddanych badaniom wystąpiły również genotypy wykazujące znaczną stabilność, co do przebiegu kolejnych fenofaz.
- Ujawniony w zmiennych warunkach punktów badań bardzo zróżnicowany potencjał plonowania genotypów był przede wszystkim determinowany warunkami hydrotermicznymi w pełni nagromadzenia plonu. Występująca w badaniach zmienność zaopatrzenia w wodę pozwoliła na wskazanie genotypów wykazujących silną wrażliwość na nieoptymalny poziom czynników meteorologicznych oraz takich, które wykazują znaczną stabilność plonowania.
- Ponad 50% ocenianych genotypów w pełni wykorzystano potencjał plonowania ziemniaka w warunkach naszego kraju wydając plonu suchej masy powyżej 13 t·ha⁻¹ oraz skrobi powyżej 9 t·ha⁻¹.
- Występowanie większości analizowanych wad morfologii i miąższu bulw stanowiło efekt interakcji genotypowo-środowiskowej. Nasilenie rdzawej plamistości miąższu było determinowane głównie warunkami środowiska uprawy. Jednocześnie u 30% genotypów stwierdzono niską skłonność do powstawania tej wady, a niemal u połowy ocenianych kracji nie notowano bulw z pustawością.
- Wszystkie badane genotypy były podatne na powstawanie deformacji. Stabilność w powstawaniu wad morfologicznych w zmiennych warunkach środowiska wykazało 4 genotypy.
- Bulwy różnych genotypów zebrane w sezonie wegetacyjnym 2012 w 4 punktach badań charakteryzowało pewne środowiskowe zróżnicowanie porażenia parchem srebrzystym, ale tak w grupie wcześniejszych jak i średnio wczesnych odnotowano formy bardziej stabilne tj. takie, które niezależnie od miejsca uprawy wykazywały zbliżone porażenie sprawcą choroby.
- Środowiskowa zmienność występowania ospowatości bulw była istotnie zróżnicowana, nie mniej w ocenianej puli materiałów występowały genotypy, które w odmiennych warunkach rozwoju bulw, a zatem i patogena, wykazały małą bądź wyraźnie większą podatność na namnażanie się sklerocjów na bulwach.

- Plon uzyskany w sezonie wegetacyjnym 2103 cechowała bardzo duża środowiskowa zmienność porażenia parchem zwykłym. W aspekcie zróżnicowania genotypowego stwierdzono zarówno obecność form, które wykazywały znaczną stabilność odporności na porażenia tym patogenem jak i takich u których środowiskowa zmienność występowania zmian spowodowanych rozwojem tej choroby była duża.
- Genotypowa zmienność odporności na uszkodzenia mechaniczne bulw u nowych form hodowlanych okazała się większa niż w przypadku odmian zarejestrowanych. Niepokojący jest, stwierdzony już w kolejnym roku, niski udział genotypów o wysokiej odporności na uszkodzenia w grupie genotypów wcześniejszych.
- Spośród 34 ocenianych nowych kreacji hodowlanych wysoką efektywnością nawożenia i jednocześnie małymi wymaganiami nawozowymi wyróżnił się 1 genotyp i także 1-wysoką efektywnością nawożenia i średnimi wymaganiami nawozowymi.
- Niezależnie od warunków gromadzenia plonu przeważająca liczba genotypów (32) wykazała niską skłonność do kumulacji azotanów, natomiast w przypadku glikoalkaloidów taką środowiskową zbieżność niskiej ich zawartości stwierdzono u 20 nowych genotypów.
- W ocenianej puli materiałów wyróżniono 9 genotypów wysokoskrobiowych- o średniej jej zawartości 19,7%, w których najwartościowsza frakcja ziaren skrobiowych dużych (o średnicy 40–115 μm) stanowiła 47–71%.
- Bulwy stanowiące plon uzyskany w sezonie wegetacyjnym, którego warunki meteorologiczne wyrażone współczynnikiem Sielianinowa cechuje niższa jego wartość, charakteryzowało późniejsze rozpoczęcie kiełkowania i mniejsze tempo przyrostu kiełków niż bulwy pochodzące z warunków uprawy o wyższym współczynniku Sielianinowa.
- Najwyższy poziom chorób przechowalniczych wystąpił w punkcie uprawy charakteryzującym się dużymi opadami w okresie sierpnia i września.
- Potwierdzono, że wiele nowych genotypów charakteryzuje się długim lub średnim okresem spoczynku, co jest pożądaną cechą z punktu widzenia praktyki rolniczej.
- Wśród 35 badanych genotypów wyodrębniono 4 formy, które niezależnie od warunków środowiska i przechowywania (temperatura 5 i 8°C) nie nagromadzały cukrów prostych (cold storage).
- Frytki dobrej jakości niezależnie od temperatury przechowywania bulw otrzymano tylko z trzech nowych form hodowlanych.
- W niekorzystnych warunkach pogodowych roku 2013 (wyjątkowo duży nadmiar opadów w maju i czerwcu a następnie susza w lipcu), w systemie ekologicznym plon frakcji handlowej wszystkich 9-ciu badanych genotypów w warunkach uprawy bez nawadniania był bardzo niski: 6,0-17,5 t/ha. Ponadto wartość plonu większości genotypów z produkcji w tym systemie została dodatkowo znacznie obniżona słabą jakością plonu wynikającą z ponad 80% porażenia bulw parchem zwykłym oraz wysokim udziałem w plonie bulw zdeformowanych.

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

Identyfikacja nasion haploidalnych kukurydzy w kolbach matecznych poddanych indukcji

Celem prowadzonych badań było określenie efektywności haploidów w zróżnicowanych genotypach kukurydzy, reprezentujących dwie pule genowe: SH i KB. W badaniach wykorzystano genotyp RWS, indukujący haploidy mateczne.

Przedmiotem indukcji haploidów były 182 genotypy mateczne kukurydzy. Przeprowadzono analizę laboratoryjną nasion z kolb matecznych uzyskanych w wyniku indukcji haploidów. Zidentyfikowano łącznie 50000 nasion „domniemanych” haploidów do dalszych analiz i prac badawczych. Przeprowadzono podwajanie liczby chromosomów w siewkach domniemanych haploidów przy zastosowaniu kolchicyny.

W puli genowej SH średnia efektywność indukcji wyniosła 2,3% (1,0-4,2%), a w genotypach z puli genowej KB - 3,25% (1,0-6,0%).

Przeprowadzenie podwajania liczby chromosomów w roślinach haploidalnych

Procedura podwajania chromosomów polegała na zalaniu siewek domniemanych haploidów wodnym roztworem kolchicyny o stężeniu 0,06% + 0,5% DMSO, i pozostawieniu ich na 8 godzin w ciemności. Po zakończeniu kolchicynowania siewki były płukane przez pół godziny pod zimną wodą.

Identyfikacja podwojonych haploidów

Siewki, po zakończeniu kolchicynowania wypikowano do wielodoniczek w szklarni, a po około 2 tygodniach wysadzono w polu do końca pierwszej dekady czerwca. Przed kwitnieniem roślin wyeliminowano rośliny wykazujące cechy mieszańcowe (diploidy). Zidentyfikowano i pozostawiono do dalszych badań 11677 roślin, które wykazywały cechy roślin haploidalnych. W tej grupie, było jednak 2974 (25,5%) roślin, które nie wytworzyły znamion. 4831 (41,4%) roślin o fenotypie haploidalnym było sterylnych (nie wytwarzały pyłku). 3872 (33,2%) roślin było płodnych. Identyfikacja tej grupy roślin - podwojonych haploidów - jest głównym celem prowadzonych badań. Rośliny te poddano samozapyleniu w celu wytworzenia nasion pokolenia DH₁. 1817 roślin (48,3%) spośród poddanych samozapyleniu zawiązało nasiona. Stwierdzono zróżnicowany stopień zawiązywania nasion DH₁ na poszczególnych roślinach DH₀.

Badania nad optymalizacją otrzymywania roślin di-haploidalnych kukurydzy przy pomocy substancji c-mitotycznych

Przedmiotem badań były haploidy mateczne z 5 genotypów reprezentujących pulę genową SH i 4 genotypy reprezentujące pulę genową 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 i KB wskazała, że najbardziej efektywnym wariantem było traktowanie siewek roztworem kolchicyny w stężeniu 0,06% przy czasie ekspozycji 10 godzin - efektywność podwajania dla obydwu grup genotypów była jednakowa i wyniosła odpowiednio 37,0% oraz 36,9%. Najwyższa efektywność podwajania wystąpiła: wśród genotypów z puli SH, dla genotypu SH 187/12 (43,8%), a wśród genotypów z puli KB dla genotypu KB 87/12 (46,8%).

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 71.

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

Kierownik projektu: dr R. Warzecha

Celem badań było wyróżnienie mieszańców F₁ kukurydzy ocenianych w doświadczeniach na ziarno (96 mieszańców w 5. seriach doświadczeń) i na kiszonkę całych roślin (39 mieszańców w 2. seriach doświadczeń), o parametrach użytkowych istotnie wyższych od wzorca, oraz określenie typu ich reakcji genotypowo-środowiskowej, w doświadczeniach międzystacyjnych o zróżnicowanych warunkach glebowo-klimatycznych (6 miejscowości). Poszukiwano mieszańców

- o stabilnej (nieistotnej) interakcji genotypu i środowiska, które mają szeroką zdolność adaptacyjną i wykazują wysoki poziom parametrów użytkowych, w tym plonu, w większości środowisk;
- o niestabilnej, istotnej interakcji genotypu i środowiska: intensywne - o mniejszej adaptacji do zróżnicowanych warunków środowiska, wykazujące dodatnią interakcję w środowiskach lepszych, ekstensywne - o lepszej adaptacji do gorszych warunków środowiska;
- o reakcji nieokreślonej.

W wyniku badań nad kukurydzą ziarnową wyróżniono:

- Mieszańce o plonie ziarna istotnie wyższym od wzorca:
 - charakteryzujące się stabilną (nieistotną) interakcją genotypu i środowiska (7 mieszańców),
 - o niestabilnej (istotnej) interakcji środowiskowej, w podgrupie nieokreślonej (3 mieszańce).
- Mieszańce o zawartości suchej masy w ziarnie w czasie zbioru istotnie wyższej od wzorca:
 - charakteryzujące się stabilną (nieistotną) interakcją genotypu i środowiska (3 mieszańce),

- o niestabilnej (istotnej) interakcji genotypu i środowiska, w grupie nieokreślonej (18 mieszańców).

W wyniku badań nad kukurydzą kiszonkową wyróżniono:

- Mieszańce o plonie ogólnym suchej masy całych roślin istotnie wyższym od wzorca:
 - o stabilnej (nieistotnej) interakcji genotypu i środowiska (11 mieszańców),
 - o niestabilnej (istotnej) interakcji genotypu i środowiska, w grupie nieokreślonej (7 mieszańców).
- Mieszańce o zawartości suchej masy w całych roślinach w czasie zbioru istotnie wyższej od wzorca:
 - o stabilnej (nieistotnej) interakcji genotypu i środowiska (1 mieszańiec).
- Mieszańce o plonie suchej masy kolb istotnie wyższym od wzorca:
 - o stabilnej (nieistotnej) interakcji genotypu i środowiska (3 mieszańce),
 - o niestabilnej (istotnej) interakcji genotypu i środowiska, w grupie nieokreślonej (2 mieszańce).

Stwierdzono, że badane mieszańce są silnie zróżnicowane pod względem poziomu plonowania, wczesności, reakcji na warunki środowiskowe i zdolności adaptacyjnej.

Na podstawie wykresów korelacyjnych w doświadczeniach na ziarno wyróżniono mieszańce o korzystnych korelacjach: plonu ziarna i wczesności, odporności na wyleganie i wczesności i mieszańce szybko oddające wodę w czasie dojrzewania. W doświadczeniach na kiszonkę wyróżniono mieszańce o korzystnych korelacjach: plonu ogólnego suchej masy i zawartości suchej masy w całych roślinach, plonu ogólnego suchej masy i plonu suchej masy kolb, odporności na wyleganie i wczesności.

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. Kochańska-Czembor

Celem głównym badań było poszerzenie wiedzy dotyczącej genetycznego uwarunkowania interakcji pomiędzy kukurydzą a grzybami powodującymi fuzariozę kolb (*Fusarium* spp.) w różnych warunkach środowiskowych z wykorzystaniem metod fenotypowych. Cel główny został osiągnięty poprzez cele szczegółowe: (1) badanie zmienności stopnia odporności na grzyby z rodzaju *Fusarium* spp. w kolekcji linii wsobnych (2) określenie możliwości uzyskania postępu genetycznego dla stopnia odporności na fuzariozę kolb i zgorzel podstawy łodygi metodą rodowodową

Ocena stopnia odporności elitarnych linii wsobnych na grzyby z rodzaju *Fusarium* spp. przy infekcji naturalnej oraz po inokulacji osobno kolb lub łodyg

Metodyka:

Badania prowadzono w 3 lokalizacjach – w jednej po zakażeniach sztucznych łodyg i przy infekcji naturalnej łodyg oraz w dwóch innych lokalizacjach przy infekcji naturalnej. Do badań włączono 100 elitarnych linii wsobnych na poziomie wsobności F9. Były one zróżnicowane pod względem pochodzenia i należały do następujących grup: dent, flint, IDT, Lancaster, SSS / IDT. Pochodzenie 11 linii nie było znane. W Radzikowie, doświadczenia zakładane były metodą losowanych bloków w 3 powtórzeniach, a w obrębie każdej linii oceniano 18 pojedynków po zakażeniu sztucznym łodyg i 18 przy infekcji naturalnej (6 w każdym powtórzeniu). W dwóch innych lokalizacjach doświadczenia założono w 2 powtórzeniach, a w każdym powtórzeniu oceniano 12 pojedynków. Równoległe z oceną porażenia łodyg prowadzono ocenę porażenia kolb. Łącznie oceniono 6000 pojedynków w tym: 1800 pojedynków po inokulacji łodyg w jednej lokalizacji i 4200 pojedynków – łodygi nie inokulowane (infekcja naturalna; w 3 lokalizacjach).

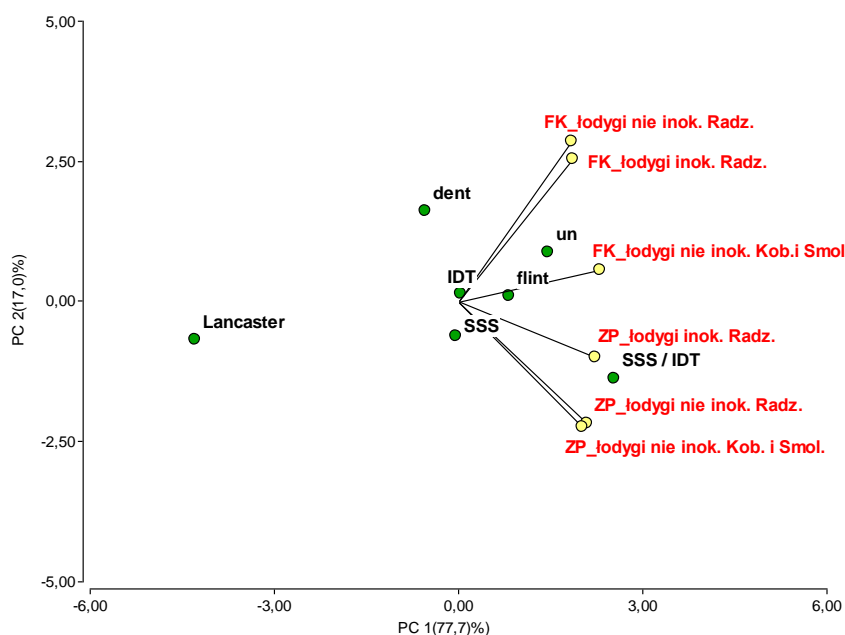
Do inokulacji łodyg wykorzystano izolaty *F. graminearum* wyosobnione z porażonych prób ziarna z lat poprzednich, reprezentatywne dla populacji tego gatunku. Inokulację łodyg prowadzono zgodnie z metodyką stosowaną przez CIMMYT – drewniane patyczki autoklawowano w kolbach stożkowych, zalewano pożywką SNA o stężeniu agaru 3%, wkładano kawałki grzybni izolatu *F. graminearum* rosnącego na pożywce PDA. Patyczki inkubowano w temp. 22-24⁰C przy świetle dziennym. Łodygi

zakażano w okresie kwitnienia kwiatostanów męskich poprzez nakłuwanie ich patyczkami pomiędzy drugim i trzecim międzywęźlem.

Do oceny fenotypowej stopnia porażenia łodyg przy infekcji naturalnej i po zakażeniach sztucznych używano skali 1 – 9. Łodygi były krojone na wysokości 3 węzła: 1 = brak objawów choroby, 3 = zmiany chorobowe na pierwszym lub drugim węźle, 5 = zmiany chorobowe na pierwszym lub drugim węźle oraz pierwsze objawy rozkładu tkanek dwóch dolnych międzywęźli, 7 = silny rozkład trzech międzywęźli, ale widoczna tkanka rdzenia, 9 = całkowity rozkład tkanek. Ocenę fenotypową stopnia odporności na fuzariozę kolb prowadzono w fazie dojrzałości pełnej wykorzystując skalę 1 – 7 opartą o procent ziarniaków z objawami porażenia: 1 = brak objawów; 2 = 1–3%, 3 = 4–10%; 4 = 11–25%; 5 = 26–50%; 6 = 51–75% and 7 = 76–100%

Wyniki

Stwierdzono istotne różnice pomiędzy grupami dla ich stopnia odporności na fuzariozy kolb oraz zgorzel podstawy łodygi przy infekcji naturalnej i po inokulacji *F. graminearum*. Późny zbiór (opady deszczu w drugiej dekadzie października oraz spadek temperatur) spowodował, że nawet przy infekcji naturalnej porażenie łodyg było zbliżone do porażenia przy infekcji naturalnej. Stwierdzono dużą powtarzalność wyników ocen odporności na zgorzel podstawy łodygi po zakażeniach sztucznych oraz przy infekcji naturalnej we wszystkich lokalizacjach. Brak było istotnych współzależności pomiędzy stopniem odporności na zgorzel podstawy łodygi a fuzariozą kolb. Najbardziej wartościowy materiał (kolby), w sposób istotny różnicujący kolekcję, zostanie wykorzystany do dalszych badań, celem określenia wpływu inokulacji łodyg grzybem *F. graminearum* na zawartość toksyn osobno w osadkach i ziarnie, co pozwoli na pełną interpretację wyników.



Rys. 1. Relacje pomiędzy grupami linii wsobnych w układzie dwóch pierwszych składowych głównych wyodrębnionych na bazie wyników ocen odporności na fuzariozę kolb (FK) i na zgorzel podstawy łodygi (ZG) po inokulacji łodyg *F. graminearum* w Radzikowie i przy infekcji naturalnej łodyg w Radzikowie, Smolicach i Kobierzycach.

Poszukiwanie nowych, wczesnych źródeł odporności kukurydzy na grzyby z rodzaju *Fusarium* spp. w obrębie populacji S_0 oraz linii pokoleń S_1 , S_2 i S_3 (metodą rodowodową)

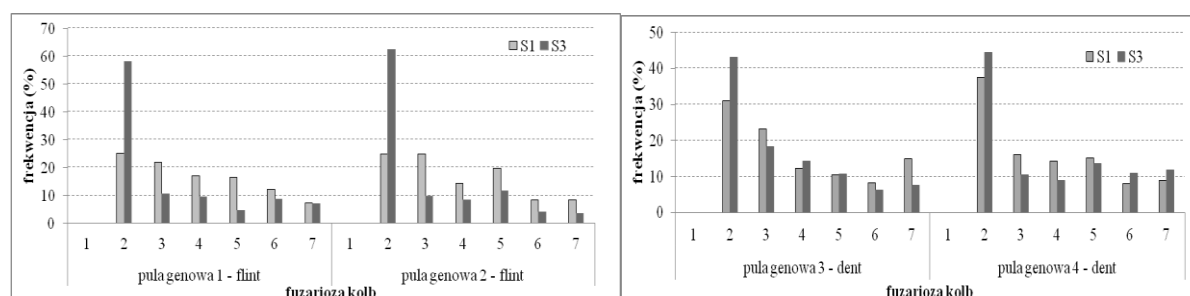
Metodyka:

Badania prowadzone są w cyklu trzyletnim. Materiał roślinny to populacje pokolenia F_2 uzyskane na bazie krzyżowań odległych genetycznie linii wsobnych, linie pokolenia S_1 to materiały wytypowane do dalszych badań na podstawie pierwszego cyklu, linie pokolenia S_2 to materiały wytypowane do dalszych badań na podstawie dwóch cykli selekcji oraz linie pokolenia S_3 czyli materiały po trzech cyklach selekcji. Odporność najwcześniej kwitnących i zapyłanych wsobnie roślin na fuzariozę kolb

oceniana jest po zakażeniu sztucznym izolatami *F. graminearum* (skala 1 – 7). Odporność na zgorzel podstawy łodygi oceniana jest przy infekcji naturalnej (skala 1 – 9).

Wyniki i wnioski

Oceniono stopień odporności 7274 pojedynków po zapyleniu wsobnym i inokulacji kolb (w tym 3390 pojedynków w obrębie pokolenia S₀, 3499 pojedynków w obrębie linii pokolenia S₁, 385 pojedynków w obrębie linii pokolenia S₂). Do dalszych badań wytypowano 3932 pojedynki jako potencjalne źródła odporności w tym: 706 w grupie populacji KOB oraz 890 w grupie populacji SH jako linie pokolenia S₁, 400 pojedynków w puli genowej KOB i 1670 pojedynków w puli genowej SH jako linie pokolenia S₂; 118 pojedynków w puli genowej KOB i 148 pojedynków w puli genowej jako linie pokolenia S₃.



Rys. 2. Udział genotypów w obrębie pokolenia S₁ (materiał roślinny wyjściowy) oraz w obrębie pokolenia S₃ (materiał roślinny po 3 cyklach selekcji) w grupach o różnym stopniu odporności na fuzariozę kolb po zakażeniach sztucznych ocenianym w skali 1-7.

Prowadząc selekcję metodą rodowodową w obrębie pokoleń S₀, S₁ i S₂ stwierdzono, że jest ona efektywna i umożliwia uzyskanie postępu genetycznego dla wczesności, stopnia odporności na fuzariozę kolb po zakażeniach sztucznych i na zgorzel podstawy łodygi przy infekcji naturalnej jednocześnie w obrębie populacji kukurydzy o typie ziarna szklistym, zębokształtnym i pośrednim.

Na podstawie ocen fenotypowych stopnia porażenia kolb po zakażeniach sztucznych *F. graminearum* stwierdzono, że w grupie form o ziarnie szklistym częstotliwość występowania form o podwyższonej odporności jest średnio o 30% wyższa niż w obrębie form wyjściowych, a w grupie o ziarnie zębokształtnym średnio do 20% wyższa w stosunku do form wyjściowych.

Materiały pokolenia S₃ kukurydzy były średnio o 10 dni wcześniejsze w stosunku do form wyjściowych.

Stwierdzono dodatnią współzależność pomiędzy wczesnością kukurydzy a jej stopniem odporności na fuzariozę kolb.

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. IHAR-PIB

W hodowli wielu gatunków roślin powszechnie wykorzystuje się nowoczesne metody biotechnologiczne. Jedną z nich jest otrzymywanie roślin haploidalnych na drodze androgenezy lub gynogenezy. Wykorzystanie kultur niezapłodnionych zalążków do produkcji linii homozygotycznych z wysoce heterozygotycznego materiału wyjściowego buraka cukrowego (*Beta vulgaris* L.) stało się nieodzownym elementem doskonalenia odmian w procesie hodowlanym. Wyprowadzenie linii haploidalnych, a następnie podwojonych haploidów (DH) na dużą skalę uzależnione jest od efektywnej metody ich uzyskania z różnych genotypów.

Celem projektu było opracowanie efektywnej metody otrzymywania haploidów i podwojonych haploidów w kulturach *in vitro* z niezapłodnionych zalążków wielonasiennych zapylaczy różnych typów użytkowych buraka cukrowego.

Przeprowadzone 6-cio letnie badania nad gynogenezą w kulturach *in vitro* zalążków buraków cukrowych wielonasiennych diploidalnych zapylaczy wykazały znaczne różnice pomiędzy testowanymi genotypami pod względem zdolności do regeneracji roślin. Materiałem wyjściowym do badań były wielonasienne diploidalne zapylacze buraka cukrowego – typu cukrowego (162 genotypy), cukrowo-normalnego (343 genotypy) i normalnego (397 genotypów) oraz genotypy uzyskane ze swobodnego przepylenia linii podwojonych haploidów (58 genotypów). Zalążki do kultur *in vitro* pobierano z roślin rosnących w szklarni. Wykładano je na pożywkę Murashige i Skooga (MS) zawierającą $1 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ BAP. Ogółem wyłożono na pożywkę 17330 niezapłodnionych zalążków typu cukrowego, 29425 cukrowo-normalnego i 31095 typu normalnego oraz 6465 zalążków genotypów ze swobodnego przepylenia linii DH. Najwyższy procent haploidalnych roślin otrzymano z zalążków izolowanych z roślin ze swobodnego przepylenia linii DH (5,4%) i wielonasiennych zapylaczy typu cukrowo-normalnego (średnio 5,1%). Słabiej regenerowały zalążki wielonasiennych zapylaczy typu normalnego (średnio 4,9%) i cukrowego (średnio 3,7%). Ogółem z 84315 niezapłodnionych zalążków wielonasiennych diploidalnych zapylaczy różnych typów buraka wyłożonych na pożywkę indukcyjne uzyskano 4038 (4,8%) regenerantów.

Haploidy pochodzące z zalążków różnych genotypów traktowano kolchicyną w warunkach kultury *in vitro*. Reakcja haploidów na pożywkę, w której stosowano $250 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ kolchicyny przez 3 dni zależała od genotypu. Częstotliwość występowania podwojonych haploidów wynosiła średnio 29,4% dla wielonasiennych zapylaczy typu cukrowego, 31,7% dla typu cukrowo-normalnego i 31,6% dla typu normalnego. Do doświadczeń polowych przekazano 760 linii podwojonych haploidów obejmujących około 8 000 roślin różnych typów buraka cukrowego. W szkółkach hodowlanych około 30,0% linii zawiązało nasiona. Przyczyną słabego zawiązywania nasion może być samoniezdgodność lub ekspresja genów semiletalnych w stanie homozygotycznym. Ostatecznym kryterium decydującym o przydatności podwojonych haploidów do selekcji wartościowych linii homozygotycznych buraka cukrowego jest wielkość plonu korzeni i plonu technologicznego cukru oraz procentowa zawartość cukru w korzeniach.

Systemy markerów molekularnych ISSR oraz RAPD umożliwiły charakterystykę zróżnicowania genetycznego osobników matecznych należących do trzech typów buraka cukrowego. Jednakże, zastosowanie powyższych markerów molekularnych nie pozwoliło na wytypowanie uniwersalnych produktów charakterystycznych dla genotypów różniących się potencjałem gynogenetycznym.

W wyniku przeprowadzonych badań opracowano wydajną metodę otrzymywania linii podwojonych haploidów obejmującą następujące etapy:

1. Inkubacja niezapłodnionych zalążków buraka na pożywkę indukcyjnej MS zawierającej $1 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ BAP w pokoju hodowlanym, w temperaturze 25°C w ciemności przez dwa tygodnie a następnie w 16-godzinnym oświetleniu o natężeniu ok. $40 \text{ mol}^{-3} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$.
2. Rozmnażanie regenerantów na pożywkę MS zawierającej $0,3 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ BAP i $0,1 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ NAA i po pierwszym pasażu oznaczenie stopnia ploidalności otrzymanych pędów.
3. Traktowanie roślin haploidalnych w kulturach *in vitro* kolchicyną o stężeniu $250 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ w pożywkę MS przez okres 3 dni.
4. Oznaczanie stopnia ploidalności otrzymanych roślin po trzecim pasażu po traktowaniu kolchicyną, rozmnażanie i ukorzenianie podwojonych haploidów w kulturach *in vitro*.
5. Aklimatyzacja podwojonych haploidów do warunków szklarniowych.

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 powodowane przez *Mycosphaerella pinodes* nowych genotypów grochu siewnego w doświadczeniu polowym z kontrolowaną infekcją (21) oraz w warunkach kontrolowanych (17+13). Łącznie badano 30 nowych obiektów. 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 10,2% redukcję produktywności badanych genotypów przy znacznej 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 średnie porażenie liści i łodyg było wyższe od odpowiednich wartości dla odmiany wzorcowej Radley i znacząco niższe niż dla odmiany Rubin. Nie stwierdzono istotnych różnic poziomu podatności badanych genotypów w zależności od miejsca wytworzenia.

Testowano w warunkach polowych linie F₈ (73) z ośmiu kombinacji z krzyżowań międzyodmianowych z odmianą Radley. Testowane linie wykazywały mały zakres zmienności badanych cech wyrażony współczynnikiem zmienności. Istotność różnic pomiędzy obiektami stwierdzono tylko dla wysokości roślin, długości okresu wegetacji, plonu z poletka oraz MTN. Uzyskane wyniki obarczone są znacznym błędem, który związany jest z niekorzystnymi warunkami pogodowymi minionego sezonu wegetacyjnego charakteryzującego się nadmiernymi opadami w miesiącach kwiecień, maj i czerwiec oraz suszą i upałami w III dekadzie czerwca oraz w lipcu. Zgorzelowa plamistość wystąpiła w średnim nasileniu, jednakże w stopniu nie wykazującym istotności różnic reakcji genotypowych. Wartość średniego porażenia badanej grupy genotypów była niższa od porażenia dla odmiany Tarchalska i wyższa od porażenia dla odmiany Radley. Spośród testowanych linii, 25 porażonych było w przedziale 2,5-2,75, a 14 obiektów w tym odmiany Brutus, Brylant, Set i Tarchalska w przedziale 3,25 do 3,5 w skali Xue i in (1996).

Uzyskane wyniki wskazują na nieznaczną poprawę odporności na porażenie *M. pinodes* u szeregu wyselekcjonowanych linii, wymagają jednak potwierdzenia w dalszych badaniach w doświadczeniu polowym z kontrolowaną infekcją oraz w warunkach kontrolowanych

Kontynuowano prace nad introgresją genów odporności z *Pisum fulvum* do *Pisum sativum*. W bieżącym sezonie wegetacyjnym wysiano na polu infekcyjnym 175 potomstw pojedynków z trzech kombinacji krzyżowań oraz 117 linii z czterech kombinacji, z których 39 wybrano do oceny porażenia mączniakiem prawdziwym. Zebrano łącznie 121 potomstw o znacznym zróżnicowaniu wczesności i szeregu cech morfologicznych a z segregujących potomstw wybrano 100 pojedynków. Z wysianych 117 linii zebrano 76 linii oraz wyselekcjonowano 71 pojedynków segregujących rodzin.

W doświadczeniu polowych w warunkach prowokacyjnych z opóźnionym terminem wysiano 42 linie wyselekcjonowane z 7 kombinacji krzyżowań z donorem odporności na mączniaka prawdziwego niewykazujących oznak porażenia w poprzednim sezonie oraz 39 linii wyprowadzonych z 4 kombinacji krzyżowań pomiędzy *P. sativum* x *P. fulvum*. Obserwowano bardzo wysokie nasilenie występowania mączniaka prawdziwego na podatnej odmianie będącej źródłem infekcji dla testowanych linii oraz na badanych materiałach. Z 42 linii nie wykazujących oznak porażenia w poprzednim sezonie, jedynie na 9 nie stwierdzono objawów porażenia; pozostałe porażane były w stopniu 1 - 2 w 5-cio stopniowej skali. Testowane linie z krzyżowań oddalonych *P. sativum* x *P. fulvum* porażane były mączniakiem w stopniu 2 do 4. Próba zidentyfikowania nowego źródła odporności w tej grupie linii nie dała pozytywnych rezultatów.

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 83.

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

Kierownik projektu: dr D. Martyniak

W ramach realizacji tematu w roku 2013 dokonana została:

- ocena materiałów roślinnych (genotypów) pod względem cech morfologicznych i biologicznych w okresie wzrostu i rozwoju,
- ocena parametrów jakościowych biomasy pod względem wartości energetycznej, ciepła spalania, zawartość siarki i chloru,
- ocena plonowania biomasy zielonej (do produkcji biogazu) i suchej (do spalania) populacji i form

- hodowlanych wieloletnich traw energetycznych (trzy punkty badawcze na terenie kraju),
- wyodrębnienie form i genotypów perzu wydłużonego kępowego o najlepszej wartości gospodarczej (plonie biomasy i nasion), jak również o dobrych parametrach jakościowych (kaloryczność, popiół, chlor, siarka) itp.,
- wyodrębnienie form o wysokich parametrach lignocelulozowych, przeznaczone do spalania i produkcji pellet, brykietów oraz do ewentualnego wykorzystania w przemyśle celulozowym.

Badaniami objęto dziewięć gatunków traw wieloletnich: perz wydłużony (*Agropyron elongatum*) - pięć populacji o nr 35, 34, 33, 32, 31; stokłosa uniolowata (*Bromus unioloides*) - nr 18, 19 i odmiana Broma; stokłosa bezostna (*Bromus inermis*) nr 1-Lin, nr 2-Br; rajgras wyniosły (*Arrhenatherum elatius*) nr 1-Viv, nr 2-Br; kostrzewa trzcinowa (*Festuca arundinacea*) nr 1-WB oraz odmiana Rahela, mozga trzcinowata (*Phalaris arundinacea*) - 2 genotypy, kupkówka pospolita (*Dactylis glomerata*) – 2 odmiany Tukan i Krysta; życica trwała tetraploidalna (*Lolium perenne*) pięć odmian, życica wielokwiatowa (*Lolium multiflorum*) dwie odmiany i dwa genotypy (nr 1 i 2). Prace koncepcyjne, techniczne oraz wszystkie dotyczące plonu biomasy, nasiennictwa, żywotności nasion prowadzono w Radzikowie, zaś na zlecenie parametry jakościowe (np. ciepło spalania) na Politechnice Wrocławskiej oraz część badań dotyczących plonu zielonej i suchej biomasy wykonano dodatkowo w trzech punktach na obszarze kraju (północ, zachód), w różnych warunkach klimatyczno-glebowych.

Podstawowym celem badań była ocena morfologiczna i jakościowa biomasy oraz wyodrębnienie nowych form w wybranych gatunkach traw energetycznych o istotnych cechach użytkowych: dużym plonie biomasy i wysokich parametrach jakościowych przydatnych do spalania i produkcji biogazu oraz o dobrej żywotności i zdolności kiełkowania nasion.

Zakres opracowania materiałów hodowlanych traw energetycznych był szeroki i dotyczył opisu cech morfologicznych i biologicznych, plonu biomasy suchej, plonu nasion, oceny jakościowej surowca (min. uzysk biogazu i metanu z kiszonki) i wartości opałowej biomasy lignocelulozowej. Ocenę zmienności perzu wydłużonego kępowego badano na pięciu populacjach w warunkach polowych i w laboratorium. Populacje perzu wydłużonego wykazały się dużą zmiennością cech morfologicznych takich jak: liczba pędów generatywnych przypadających na roślinę, wysokość roślin w fazie generatywnej, długość kłosa oraz nieco mniejszą w przypadku długości i szerokości liścia. Formy o dużej liczbie pędów generatywnych (np. nr 31, 33) charakteryzowały się przeważnie mniejszą wysokością roślin i długością kłosa, oraz bardzo dużą liczbą kwiatostanów, natomiast populacja nr 35 miała najmniej pędów, wyróżniała się roślinami wysokimi o długim kłosie. W pozostałych populacjach również odnotowano korzystne cechy użytkowe (np. masa tysiąca nasion, szerokość i długość liścia). Ponadto stwierdzono dużą zmienność materiału w zakresie żywotności nasion, tj. energii i zdolności kiełkowania nasion (od 42% do 97%). Główne cechy gospodarcze (plon biomasy i plon nasion z roślin) w badanych populacjach i grupach genotypowych perzu wydłużonego kępowego, odznaczały się dużą zmiennością w poszczególnych latach użytkowania 2012-2013. Z badanej populacji wyróżniono genotypy o najwyższym plonie biomasy suchej i plonie nasion, a także odnotowano ujemną zależność pomiędzy plonem biomasy a plonem nasion (ujemna korelacja). Określono również plon biomasy zielonej i suchej w ścisłych doświadczeniach polowych, założonych w trzech punktach na terenie kraju: Szelejewo, Bartążek oraz Antoniny-Wiatrowo. Średnie plony suchej biomasy poszczególnych gatunków były bardzo zróżnicowane. Niezależnie od lokalizacji, największe plony suchej biomasy na poziomie 30 ton z ha stwierdzono dla stokłosa uniolowatej, przede wszystkim w roku siewu 2012 (ponad 26 ton z 1ha). Znacznie niższe plonowanie badanych gatunków odnotowano w północnym regionie kraju koło Olsztyna.

Oceniano także parametry jakościowe surowców (biomasę wegetatywną - zieloną oraz suchą - lignocelulozową) pod względem przydatności do produkcji biogazu i wartości opałowej. Badania jakościowe biomasy zlecone w Instytucie Technologiczno-Przyrodniczym, oddział w Poznaniu oraz w Instytucie Techniki Ciepłej i Mechaniki Płynów Politechniki Wrocławskiej pozwoliły dokładnie ocenić przydatność biomasy poszczególnych gatunków traw wieloletnich i form do produkcji biogazu oraz do spalania bezpośredniego. Zawartość uzyskanego metanu w biogazie z kiszonki była zadowalająca i wynosiła od 485 do 612 Nl na 1 kg s.m.o. i zawartość metanu 51-54,8%. Po zastosowaniu nowej technologii obróbki surowca, tzw. mikronizacja (rozbitcie i zmiksowanie), uzyskano podwyższoną zawartość metanu do 57,5% u perzu wydłużonego. Ponadto na uwagę zasługuje fakt, że czas retencji materiału roślinnego perzu wydłużonego był krótki i fermentacja ustala

w trzecim tygodniu procesu, a 90% objętości biometanu jest wytwarzane w ciągu dwóch tygodni procesu. Ponadto przebadano surowiec roślinny w postaci słomy, brykietu oraz pelet pod względem ciepła spalania (kaloryczności) i wartości opałowej w bezpośrednim spalaniu. Większość badanych form miała wartość opałową porównywalną z węglem brunatnym około 17,7 MJ na kg s.m., a niektóre formy np. stoklosy uniolowatej i perzu wydłużonego przekraczały wartość 18,5 MJ•kg s.m.-1. Jednocześnie w materiale roślinnym stwierdzono wielokrotnie niższą zawartość popiołu i siarki niż w węglu brunatnym. Odnotowano także pewną zależność ciepła spalania od wilgotności biomasy, im wyższa wilgotność tym gorsza wartość opałowa. Ponadto dodatkowo określono wskaźnik paliwowy, który kształtował się na poziomie $0,23 \div 0,28$, świadczy to o tym, że paliwa te charakteryzują się niską zawartością stałej części palnej ($16 \div 19\%$) oraz dużą zawartością części lotnych (60-80 %).

Uwzględniając powyższe parametry należy stwierdzić, że paliwa takie nadają się głównie do procesów przetwarzania na paliwa wtórne (np. w procesach zgazowania/pirolizy).

W efekcie prowadzonych prac wstępnie po 3 latach badań wytypowano 12 form perzu wydłużonego kępowego o wysokich parametrach lignocelulozowych – przeznaczonych do spalania i produkcji pelet oraz brykietów i o wysokim plonie biomasy i nasion. Większość wybranych do badań podstawowych gatunków traw i form okazała się przydatna na cele energetyczne z uwagi na korzystne cechy morfologiczne i biologiczne oraz parametry technologiczne do spalania i produkcji biogazu. Analiza jakościowa badanych biomas wykazała bardzo niską zawartość siarki (poniżej 0,1%) i azotu (poniżej 1,0%) - co w przypadku ich energetycznego wykorzystania będzie powodować niską emisję gazów cieplarnianych w postaci NO_x , SO_2 . Zawartość chloru w badanych biomasach była stosunkowo niska, na poziomie 0,1-0,4%, podwyższona zawartość jest też nie pożądana w procesie spalania ze względu na korozję pieców. Ciepło spalania biomas było zróżnicowane i wahało się na poziomie od 16,7 MJ do 18,7 MJ•kg-1, przy stosunkowo małej zawartości popiołu (4,9-11,3 %), zwłaszcza w porównaniu z węglem brunatnym (ok. 31%). Z badanych populacji perzu wydłużonego kępowego wyodrębniono 12 genotypów o najwyższej wartości gospodarczej i wysokich parametrach spalania. Korzystne cechy oraz tania, prosta reprodukcja nasion badanych gatunków ułatwi wprowadzenie ich do uprawy i stworzy możliwości zagospodarowywania gleb o słabej wartości rolniczej (ubogie, suche, piaszczyste).

Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 104.

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

Kierownik projektu: dr L. Boros

Ocenie poddano 29 nowych obiektów fasoli karłowej szparagowej i na suche nasiona otrzymanych z trzech ośrodków hodowli. Materiały te wysiano w dwóch doświadczeniach, w trzech powtórzeniach, na poletkach 1-rzędkowych, długości 1,5 m, przy rozstawie międzyrzędzi 50 cm, a w rzędzie 5 cm wysiewając co każde 2 rzędkie testowanych form jeden rządkiem odmiany podatnej jako źródło naturalnej infekcji w zależności od typu doświadczenia. Kolejnym doświadczeniem założonym w układzie bloków losowanych w trzech powtórzeniach było doświadczenie z 15 obiektami w tym 11 odmianami testowymi i 4 genotypami fasoli z kolekcji roboczej. Kombinacje kontrolne w w/w doświadczeniach chroniono Miedzianem. Kontynuowano prace nad wytworzeniem materiałów wyjściowych fasoli karłowej na suche nasiona z odpornością na rasę gamma *Colletotrichum lindemuthianum*. Wysiano dwa doświadczenia polowe na bazie własnych materiałów. W pierwszym doświadczeniu oceniano 17 obiektów a w drugim 96 linii z różnych kombinacji krzyżowań. Ponadto do oceny porażenia zgnilizną twardzikową (*Sclerotinia sclerotiorum*) na innym polu założono doświadczenie z 34 obiektami (29 nowych genotypów fasoli szparagowej i 5 genotypów na suche nasiona).

Potwierdzeniem diagnozy opartej na symptomatologii było badanie pod mikroskopem preparatów wykonanych z porażonych tkanek zawierających organy zarodnikowania grzyba. Z kultur pierwotnych przygotowywano kultury jednozarodnikowe, które następnie 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 wykonano 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 fasoli na kwas szczawiowy.

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 4 genotypach, o nasileniu w przedziale od 8,7 do 7,0 w 9 stopniowej skali, w tym tylko dla ZP-4 nasilenie porażenia antraknozą jak i procent roślin z objawami porażenia były duże. Z odmian testowych wysoki stopień porażenia stwierdzono na odmianie Michigan DRK i Perry Marrow. Trzy kolejne Michelitte, Widusa oraz Pi 207262 charakteryzowały się niskim nasileniem porażenia i niskim procentowym udziałem roślin z objawami porażenia. Nasilenie porażenia antraknozą podatnych linii fasoli karłowej na suche nasiona mieściło się w przedziale od 1 do 9. Nie stwierdzono objawów porażenia antraknozą na roślinach 46 linii.

W warunkach kontrolowanych przeprowadzono badania podatności na porażenie rasą gamma *C. lindemuthianum* na 29 genotypach otrzymanych ze „Spójni” Nochowo, „Polan” Kraków i PlantiCo Zielonki. Spośród testowanych genotypów 28 było odpornych na porażenie rasą gamma.

W celu oceny zmienności populacji posiadanych izolatów z określeniem potencjalnie występujących ras, przeprowadzono ocenę patogeniczności kolejnych 10 izolatów z kolekcji izolatów grzyba *C. lindemuthianum* na zestawie genotypów różnicujących. Uzyskane wyniki wskazują, że izolaty te tworzą dwie rasy.

Bakteriozy fasoli były chorobami notowanymi powszechnie z podwyższonym nasileniem. Średnie (z trzech doświadczeń) porażenie 29 genotypów fasoli szparagowej wyniosło 8,9 przy zróżnicowaniu genotypowym w przedziale 8,0 do 9, a 15 rodów na suche nasiona 6,8 z zakresem od 5,5 do 7,8. Spośród 96 własnych linii fasoli na suche nasiona 18 obiektów nie wykazywało objawów chorobowych. Dla pozostałych obiektów średnie porażenie wynosiło 7,7 przy zróżnicowaniu 4-9. Przeprowadzono identyfikację sprawców bakteriozy fasoli na 22 genotypach. Identyfikacja sprawców bakteriozy fasoli z wykorzystaniem testów immunodetekcji wykazała obecność bakterii *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* na wszystkich 22 badanych genotypach z objawami bakteriozy a w przypadku *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* stwierdzono jej obecność na 9 z 22 badanych genotypów. Nie stwierdzono występowania *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*.

Stwierdzono, dość liczne ale w małym nasileniu porażenie testowanych obiektów fasoli przez *S. sclerotiorum*. Średnie porażenie badanych nowych genotypów fasoli szparagowej i na suche nasiona w doświadczeniu zlokalizowanym na polu infekcyjnym wyniosło 8,8 przy rozpiętości pomiędzy genotypami od 8 do 9. Łącznie w doświadczeniu tym porażonych było 11 genotypów. Uwzględniając wyniki z trzech doświadczeń stwierdzono porażenie na 27 genotypach, w tym sześć było porażone we wszystkich doświadczeniach; dziewięć genotypów było porażonych w dwóch na trzy doświadczenia; 12 w jednym na trzy. Tylko NOE -9 i NOE-11 nie były porażane w żadnym z doświadczeń.

W okresie sprawozdawczym przeprowadzono ocenę podatności na zgniliznę twardzikową 32 genotypów fasoli w warunkach kontrolowanych testem pośrednim, wykorzystującym reakcję siewek na kwas szczawiowy. Wśród badanych genotypów 29 to nowe formy, a kolejne trzy to odmiany amerykańskie o znanym poziomie podatności stosowane jako wzorce. Średnia wartość podatności badanych genotypów wyniosła 2,98 a zróżnicowanie genotypowe od 2,8 do 3,65, przy ocenach podatności odmiany Isles (3,65), Newport (3,2) i Raven (2,95).