

Program wieloletni:

Ulepszanie Roślin dla Zrównoważonych AgroEkoSystemów, Wysokiej Jakości Żywności i Produkcji Roślinnej na Cele Nieżywnościowe

Zadanie 2.2:

Wykorzystanie tetraploidalnych form pszenżyta i owsa (*Avena macrostachya*) w poszerzaniu zmienności genetycznej roślin zbożowych.

Zakład: **Krajowe Centrum Roślinnych Zasobów Genowych IHAR-PIB**
Pracownia: **Gromadzenia i Oceny Roślin**
Kierownik zadania: **dr Bogusław Łapiński**

CELE:

Główne:

- a) stworzenie efektywnego systemu przepływu genów pszenicy do żyta, ulepszenie żyta poprzez wprowadzanie fragmentów chromosomów pszenicznych.
- b) ulepszenie owsa ozimego poprzez wprowadzenie chromosomów lub ich fragmentów z zimotrwałego owsa dzikiego (*Avena macrostachya*).

Etapowe:

Utrzymywanie, wzbogacanie w nowe geny, charakterystyka i selekcja materiałów wykazujących zmiany fenotypowe i genetyczne. Gromadzenie w kolekcjach najwartościowszych genotypów do celów naukowych i hodowlanych.

A) Przepływ genów z chromosomów pszenicznych do żyta:

Praca była kontynuacją prób transferu genów za pośrednictwem pszen-żyta tetraploidalnego (4x), które nie miało w swym zestawie pszenicznego chromosomu 5B z genem *Ph1* ograniczającym koniugację homeologiczną i rekombinację pszeniczno-żytnią.

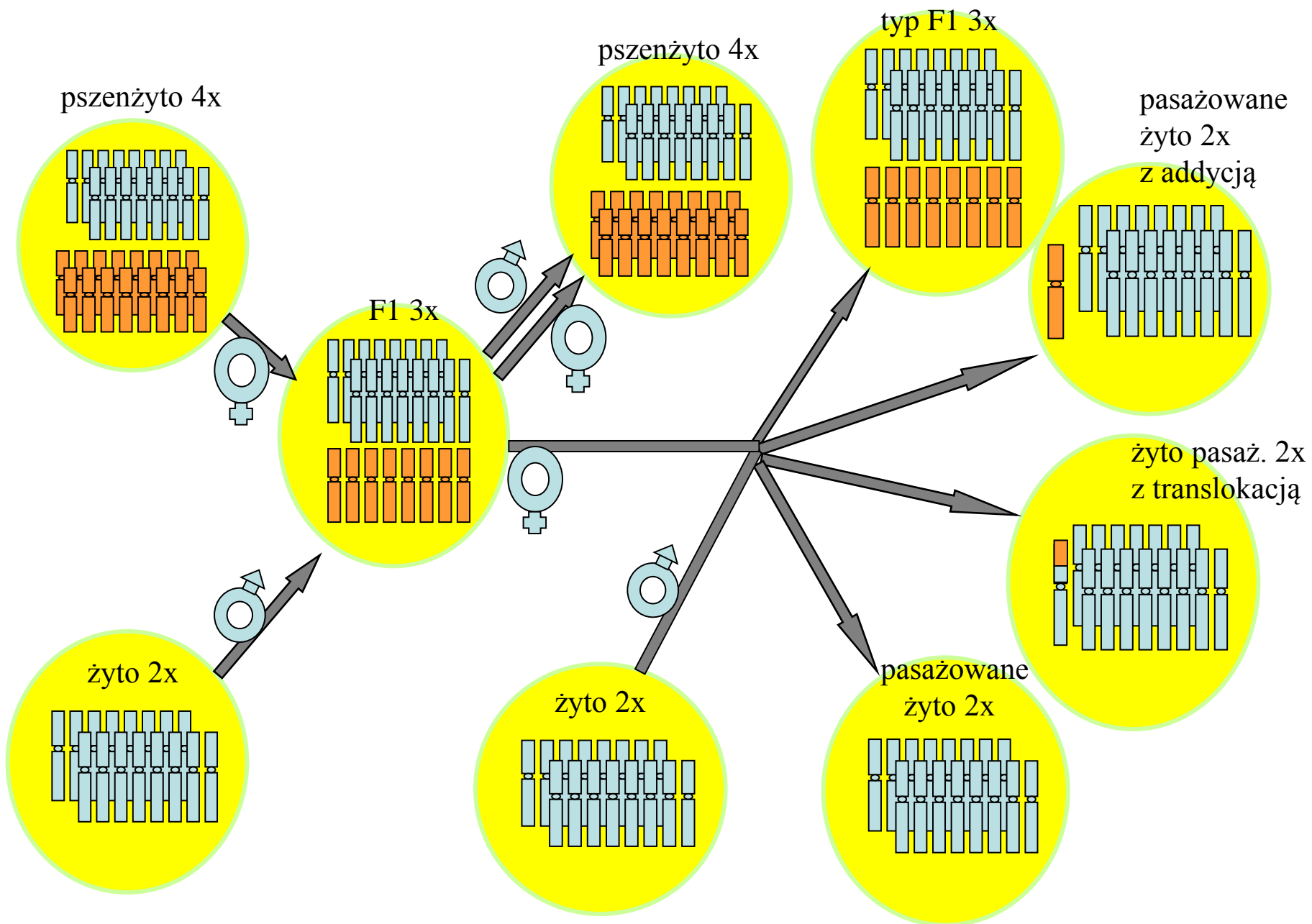
Pszenżyto 4x dość łatwo krzyżuje się z żytem (dając ok. 5 - 10 ziaren na kłos) a powstające triploidalne pokolenie F1 wykazuje podobnie wysoką płodność żeńską, a w niektórych kombinacjach także męską, wraz ze zdolnością do samozapylenia.

Próby dotyczyły zarówno żyta diploidalnego ($2x=14$) jak i tetraploidalnego ($4x = 28$). Każdy z tych dwóch obiektów wymagał poprawy innych cech warunkujących podatność na stosowane zabiegi.

Żyto diploidalne ($2x = 14$):

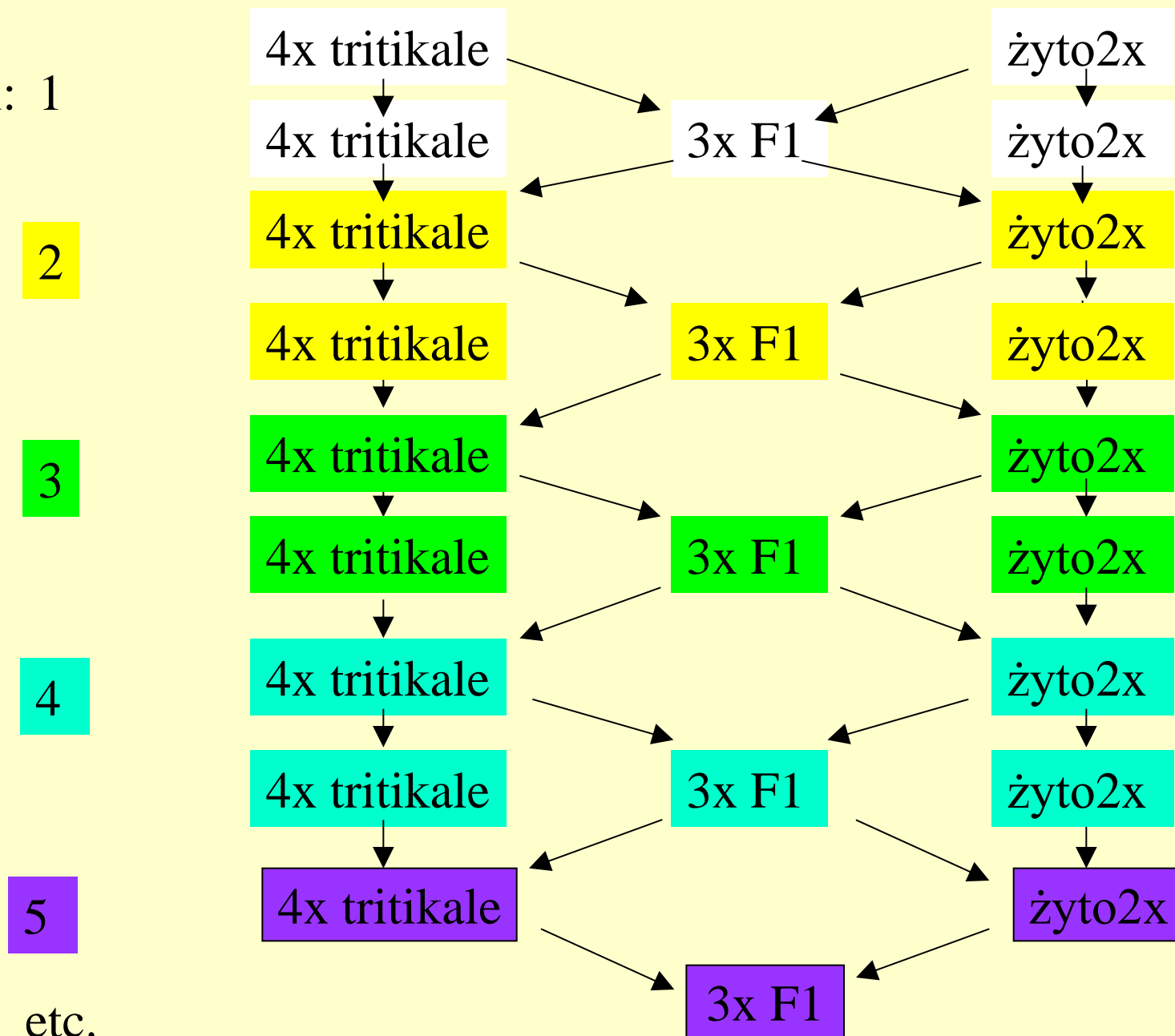
U żyta $2x$ problemem była nietolerancja obcych chromosomów bądź ich fragmentów, utrzymanie się pszenicznego chromosomu lub translokacji możliwe było tylko w stanie hemizygotycznym. Zauważono wcześniej, że poziom tolerancji obcych chromosomów zależał od genotypu. Zakładano więc, że cykliczne krzyżowania i selekcja („pasażowania”) w obrębie zamkniętej puli genowej, zawierającej zarówno pszenżyto $4x$ jak i żyto $2x$, może doprowadzić do poprawy tolerancji obcych chromosomów i do wyprowadzenia pierwszych stabilnych cytogenetycznie linii żyta $2x$ z disomicznymi substytucjami bądź translokacjami pszenicznymi.

Zmiany kariotypów w krzyżowaniach pszenżyta 4x z żytem 2x



Schemat cyklicznych krzyżowań międzyrodzajowych (pasażowań)

Cykl: 1



Wielokrotne cykliczne krzyżowania pszenżyta 4x z żytem 2x (pasażowania).

Wykonano ogółem 2 nowe pełne cykle pasażowania, z udziałem 55 kombinacji F1 pszenżyta 4x z żytem 2x, po czym najbardziej zaawansowane materiały mogły osiągnąć cykl szósty.

Nie udało się przenieść do żyta 2x odporności na rdzę brunatną ani ustabilizować cechy bezostności (z pszenżyta 4x) w liniach żyta, w których się pojawiły.

Tolerancja chromosomów pszenicy w pasażowanym życie 2x nie uległa poprawie.

W 2013 r. przerwano procedurę wielokrotnych pasażowań.

Zabezpieczono w kolekcjach żyta 2x i pszenżyta 4x pasażowane formy o najlepszych parametrach tolerancji wsobności, (samo)płodności kłosa, wypełnienia ziarna, odporności na sporysz.

Kolekcja linii żyta 2x wielokrotnie pasażowanego liczy 60 linii wsobnych a pszenżyta 4x - 71 linii.

Żyto tetraploidalne ($4x = 28$):

Większość rekombinantów z krzyżowań żyta tetraploidalnego z pszenżytem tetraploidalnym miała addycje chromosomów pszenicznych lub translokacje międzyrodzajowe, które były tolerowane nawet w stanie homozygotycznym, zarówno w roślinach typu żytniego jak i pszenżytniego.



Disomiczne translokacje (terminalna i interkalarna) w mieszańcu pszenżyta 4x z żytem 4x. Barwienie żytnią sondą genomową znakowaną FITC (żółte) oraz jodkiem propidyny (czerwone).

Żyto tetraploidalne, c.d.

Przeszkodami w uzyskaniu stabilnych linii disomicznych żyta 4x okazały się najpierw jego wysoka samoniezgodność a następnie silna depresja wsobna postępująca z każdym samozapyleniem.

Sposobem na pokonanie tych trudności mogło być wykorzystanie materiału genetycznego pasażowanego żyta 2x, które wywodziło się z hodowli heterozyjnej i było w pełni samozgodne oraz wykazywało wysoką tolerancję wsobności. Zastosowanie do krzyżowań z żytem 4x pasażowanych form pszenżyta 4x, które zawierały chromosomy z tolerancyjnego żyta 2x, stworzyło poszerzoną pulę genową zawierającą trzy główne kariotypy: żyto 2x, żyto 4x i pszenżyto 4x jako formę pomostową w wymianie genów a zarazem jako donora chromosomów pszenicznych.

Wymiana genów między żytem 2x i 4x z udziałem pszenżyta 4x:

Cechy do poprawy:

żyto 2x

Cechy do poprawy:

**odp. na mączniaka, rdzę brunatną
tolerancja chromosomów pszenicy
bezostność z chromosomu 5A**

**odp. na sporysz, rdzę żółtą
toler. wsobności, samozgodność**

pszenżyto 4x

odp. na rdzę żółtą

**toler. wsobności, samozgodność
odp. na mączniaka, rdzę brun.
odp. na sporysz, porastanie
bezostność z chromosomu 5A**

żyto 4x

Krzyżowanie żyta 4x z pasażowanym pszenżytem 4x

9 nowych kombinacji

Poprawiono samozgodność pasażowanych form żyta 4x przenosząc ją z żyta 2x za pośrednictwem pszenżyta 4x

Płodność roślin mieszańców żyta 4x z pszenżytem 4x wyrażona ciężarem nasion z kłosa. 2012 r.

Wyszczególnienie	komb.krzyż	kłosa izolowane			kłosa nieizolowane			samozgodność		
		(g) nasion/kłos			(g) nasion/kłos			n./kłos izol./nieiz.		
		max.	śr.	min.	max.	śr.	min.	max.	śr.	min.
F2, 2x pas.	6	1,68	0,80	0,00	1,85	0,78	0,00	4,75	1,03	0,18
F5, 1x pas.mix.	?	1,29	0,76	0,00	1,38	0,98	0,41	0,86	0,78	0,72
F8, 1x pas.linie.	4	1,06	0,37	0,00		0,70		3,33	0,52	0,43

Otrzymany materiał żyta 4x z terminalnymi translokacjami pszenicznymi stanowi krok naprzód w kierunku „diploidyzacji” jego mejozy, co daje szansę na poprawę jego stabilności cytogenetycznej i utrwalenia heterozji.

W kolekcji pasażowanego żyta 4x zgromadzono 90 linii, w tym 12 form krótkościstych.

B) Owies ozimy z genami *Avena macrostachya*:

Corocznie w szkółce poddawano obserwacjom i selekcji od 350 do 480 obiektów (roślin, linii, ramszów) owsa ozimego.

Opisywano w szkółce:

**zimotrwałość,
wigor roślin,
wczesność kłoszenia,
wysokość roślin,
odporność na wyleganie.**

Po zbiorach i omłotach opisywano:

**ciężar ziarna,
wielkość ziarniaka,
barwę plewki,
udział ziarn nieoplewionych,**

W kolekcji dekaploidów i w oktoploidach weryfikowano cytometrycznie poziom ploidalności.

W latach 2009-2013 założono ogółem 13 doświadczeń polowych z ponad 130 obiektami owsa ozimego.

Materiał poddano badaniom masy tysiąca ziaren, zawartości łuski, ciężaru objętościowego, składu biochemicznego ziarna.

Wykonano ogółem 40 udanych krzyżowań wzbogacających lub kumulujących zmienność w populacji mieszańców międzygatunkowych owsa ozimego, z udziałem form 6x, 8x i 10x.

Zimotrwałość:

Sprawdzianem był krytyczny sezon 2011/2012 (-14,4°C na poziomie gruntu, z wymarzaniem pszenicy i innych zbóż).

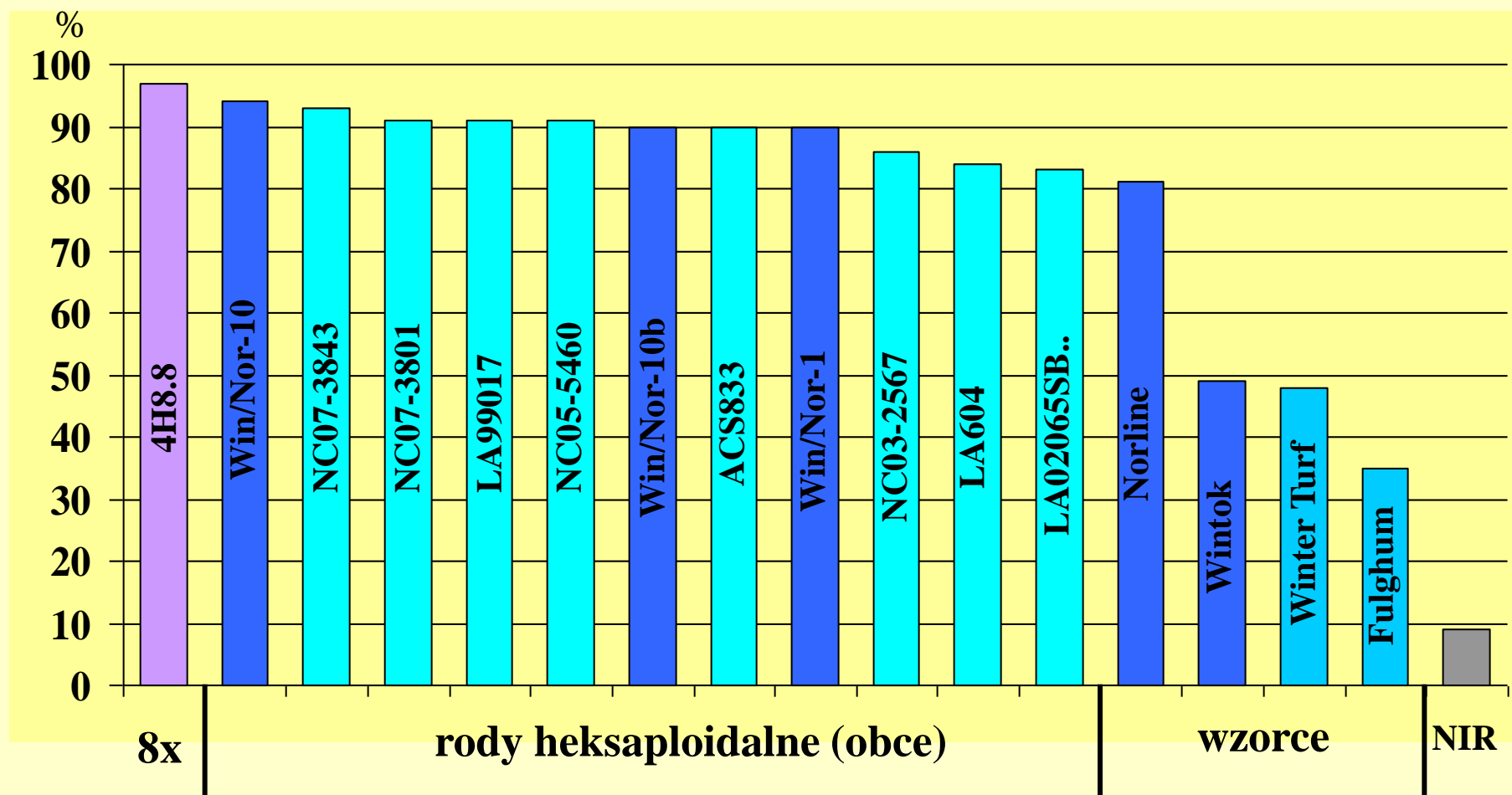
- w szkółkach przeżyło 89% obiektów, 20% zadowalająco (>40% roślin zasianych),
- w tym:
- 97% oktoploidów,
- 84% heksaploidów BC1 *A. sativa* x *A. macrostachya* x *A. sativa*,
- 90% mieszańców BC1 i BC2 oktoploidów z *A. sativa*.
- 90% kolekcji zagranicznych form zimotrwałych *A. sativa*,
- 64% owsów nagonasiennych (1 na 28 zadowalająco).

-W doświadczeniach i rozmnożeniach w gęstym siewie, na nieosłoniętej przestrzeni, owies nie przetrwał, z wyjątkiem 209 roślin, w tym 109 oktoploidów (w zasiewach formy 8x zajmowały ok. 10% powierzchni).

Wśród najlepiej ocenionych znalazły się m. in. oktoploidalna linia 4H8.8 i heksaploidalna linia 5Q5.2 przesłane do międzynarodowej szkółki oceny zimotrwałości (UOWHN).

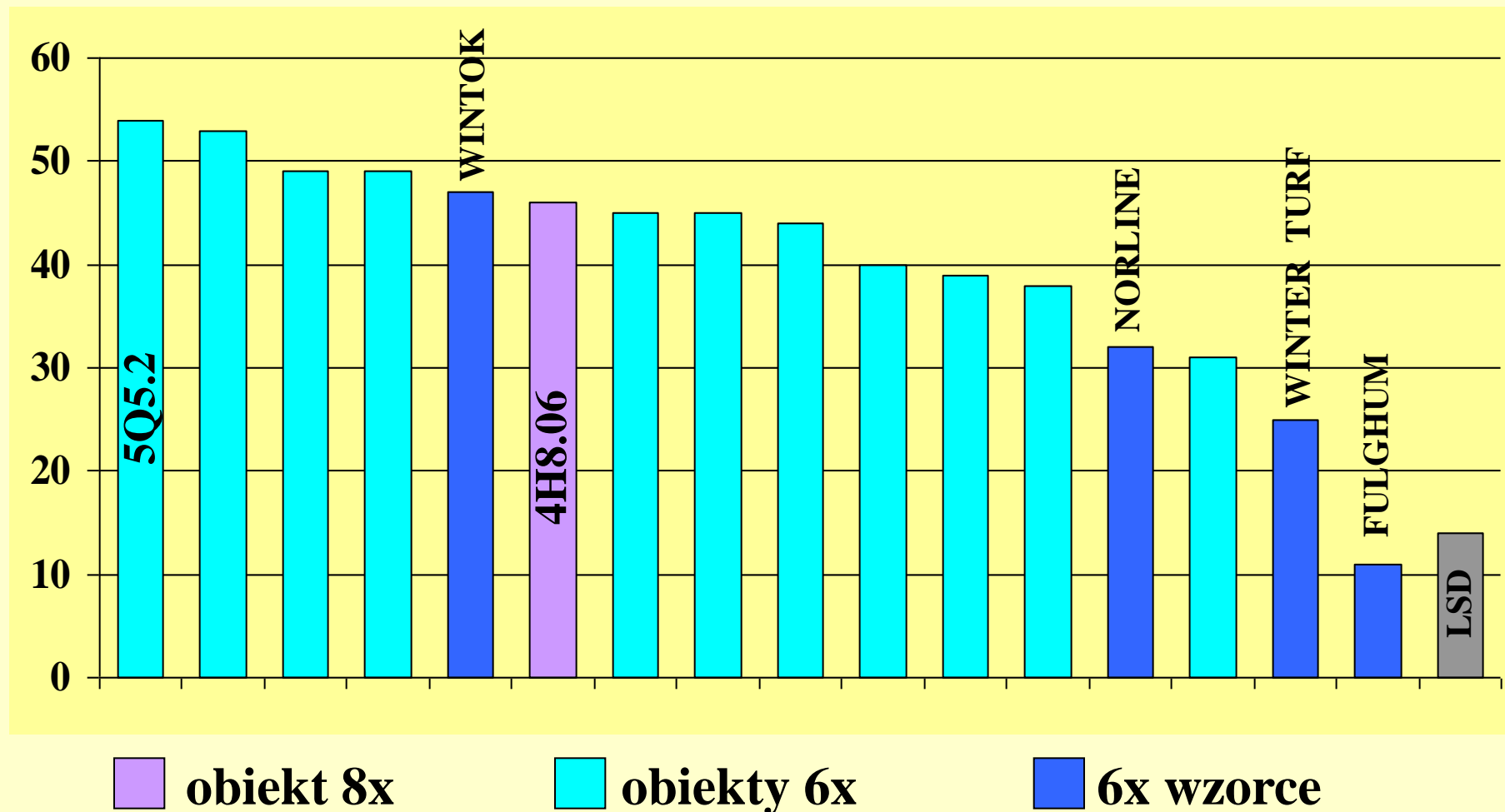
Przezimowanie owsa ozimego w szkółce UOWHN 2010 w Europie.

Aberystwyth, Edelhof, Kromeriz, Radzików (z raportu UOWHN 2010r.)

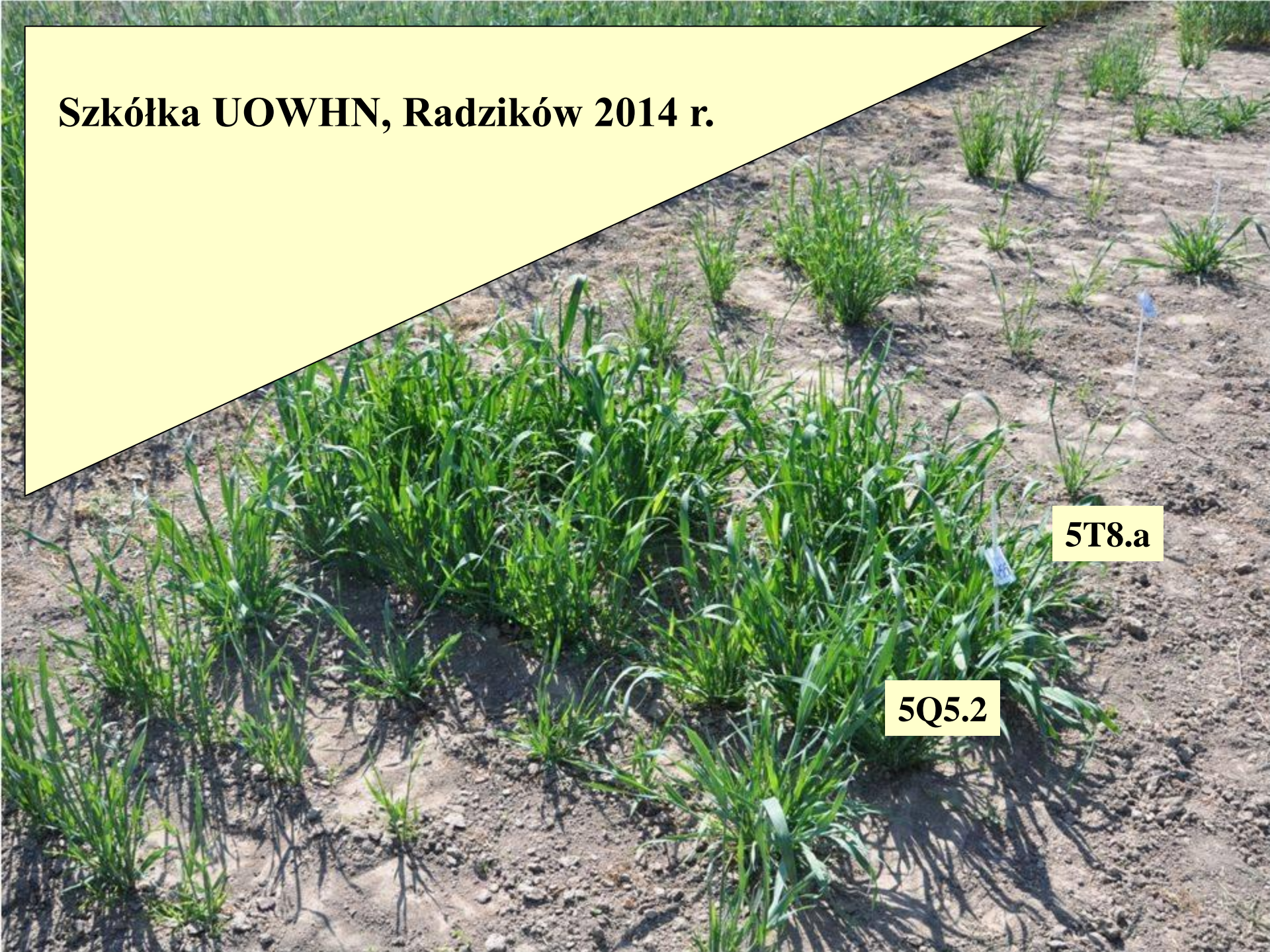


Przezimowanie owsa ozimego w szkółce UOWHN 2011 w Europie.

Edelhof, Kromeriz, Radzików (z raportu UOWHN 2011)




Szkółka UOWHN, Radzików 2014 r.



5T8.a

5Q5.2



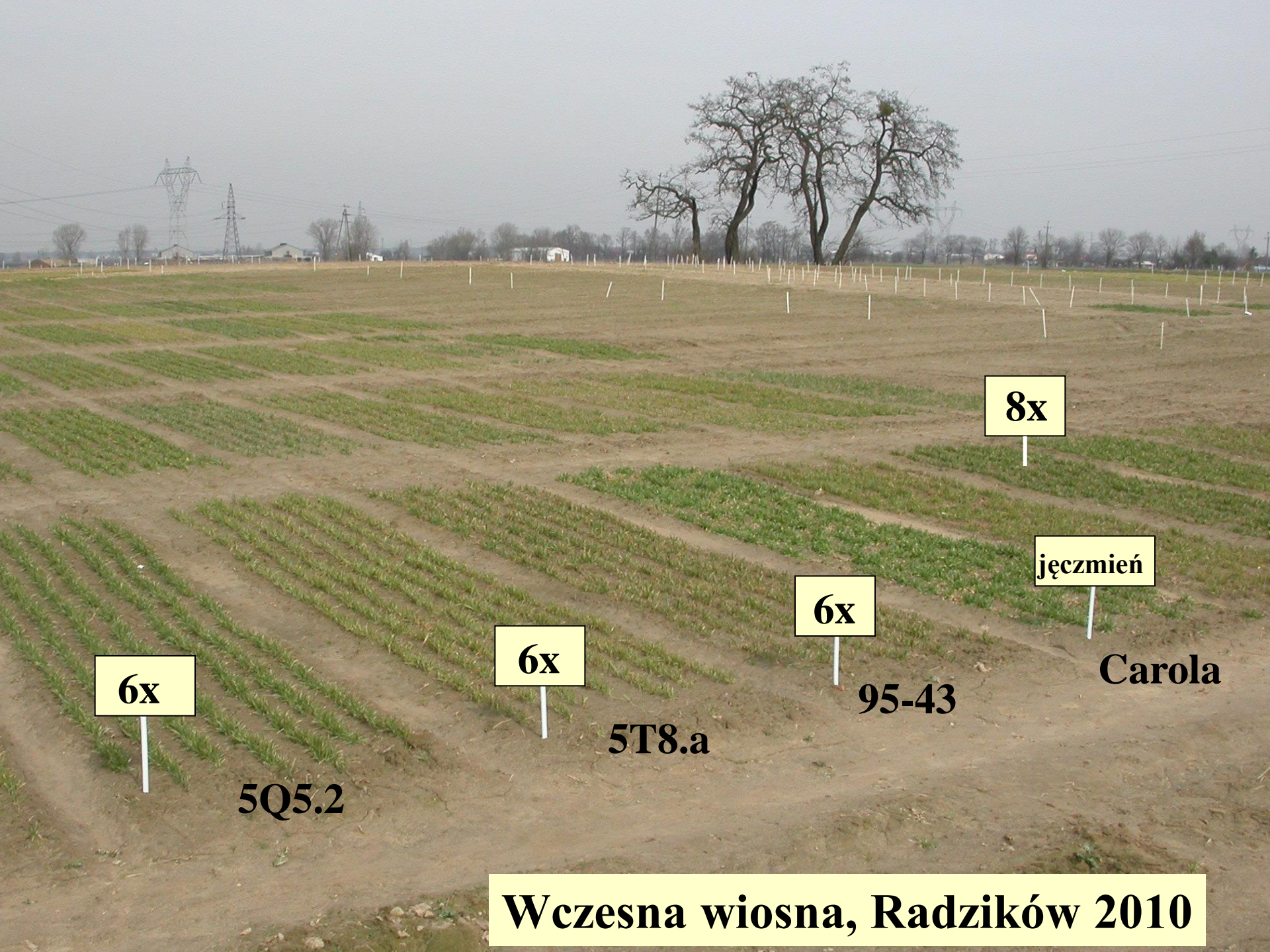
Ax346 (6x)
zimotrwały
+ wczesny

Plonowanie:

Plon owsa ozimego był badany w latach 2009 – 2013 w doświadczeniach polowych trójpowtórzeniowych zakładanych w Radzikowie i Małyszynie lub Grodkowicach, na poletkach 5 lub 10 m².

Wzorcami były jęczmień ozimy ‘Carola’ i owies jary ‘Krezus’ (wysiewany wiosną w Radzikowie na poletkach przyległych do doświadczeń z formami ozimymi).

Najlepszym miejscem do badań plonu okazały się Grodkowice (k. Bochni, teren podgórski ze stabilną pokrywą śniegową), zaś najgorszym, ze względu na zbyt silne uszkodzenia mrozowe, był Małyszyn (k. Gorzowa Wlkp.)



8x

jęczmień

Carola

6x

95-43

6x

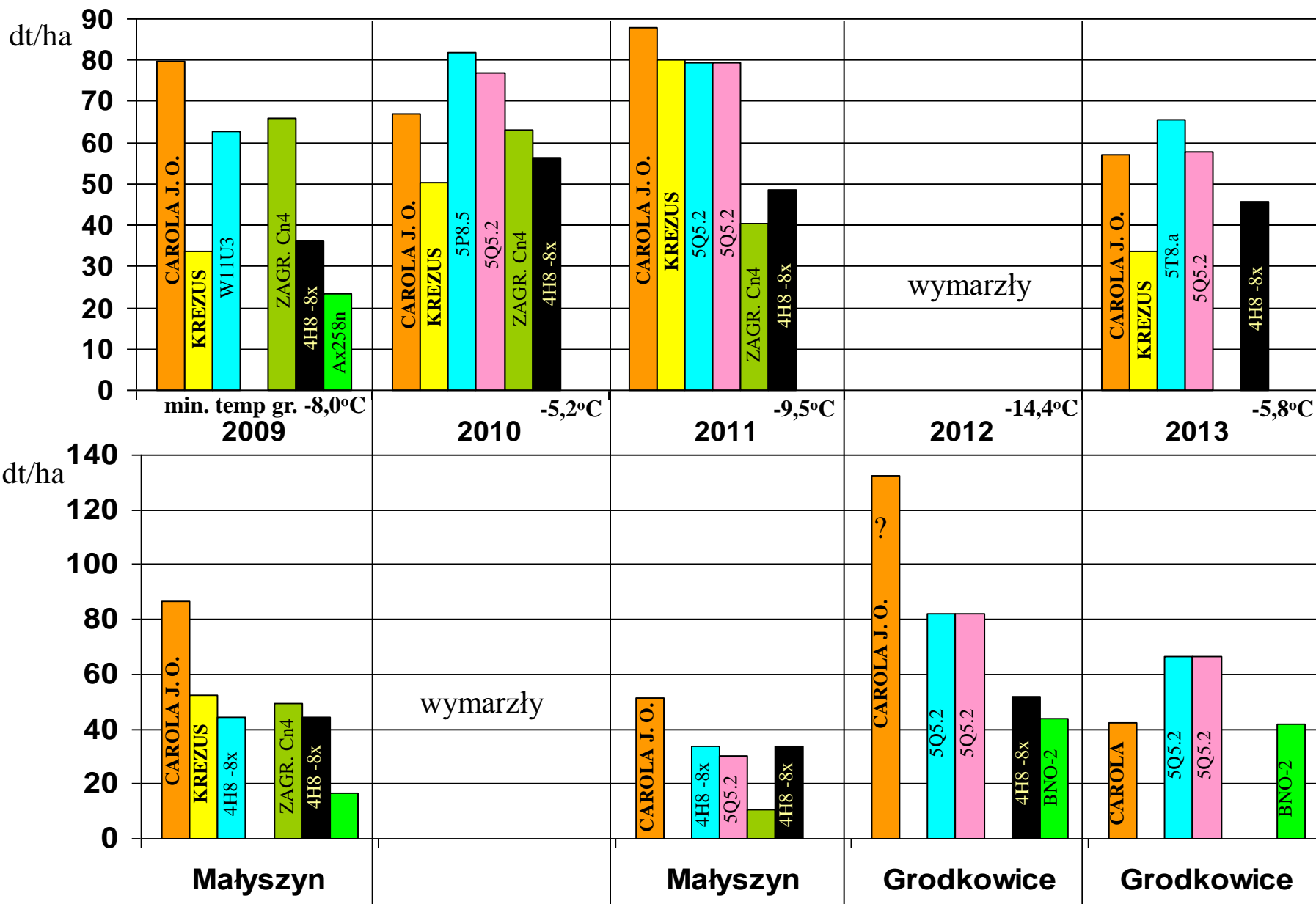
5T8.a

6x

5Q5.2

Wczesna wiosna, Radzików 2010

Plony owsa ozimego i wzorców: jęczmienia ozimego 'CAROLA' i owsa jarego 'KREZUS'



Plonowanie:

W ciągu 5 lat badań średnia przewaga plonu owsa ozimego nad jarym wyniosła w Radzikowie 16,4 dt/ha (z uwzględnieniem zerowego wyniku po wymarznieniu w roku 2014).

Przy założeniach że:

- koszty uprawy gleby wiosną w razie wymarznienia = 150 zł/ha**
- koszty zasiewu zboża jarego w razie wymarznienia = 260 zł/ha**
- cena skupu ziarna owsa = 550 zł/t.**

uprawa owsa ozimego jest konkurencyjna w stosunku do jarego już przy przewadze w plonie 7,6 dt/ha

W Radzikowie uprawa owsa ozimego zamiast jarego byłaby opłacalna nawet wtedy, gdyby trzeba było likwidować wymarzniete plantacje co drugi rok.

Przy założeniach (ostrożnych), że:

- średnia przewaga plonu formy ozimej nad jara** **= 30%**
- średni plon owsa jarego** **= 2,5 t/ha**
- cena skupu ziarna owsa** **= 550 zł/t**
- areal uprawy owsa jarego w Polsce** **= 543 tys. ha**

zastąpienie w Polsce owsa jarego ozimym na 50% powierzchni jego Zasiewów (w Wlk. Brytanii jest 70%) dałoby średni roczny wzrost produkcji o ok. 0,2 mln ton, o wartości ok. 112 mln zł.

Mniej wymierne choć niewątpliwe są inne korzyści z uprawy owsa ozimego mające związek z ochroną gleb górskich przed wiosenną erozją wodną oraz z poprawą wczesności i jakości plonu, zwłaszcza w sezonach zakończonych suszą lub silnym atakiem chorób.

Owies oktoploidalny (8x):

Interesującym obiektem prac badawczo-hodowlanych był nowy oktoploidalny gatunek owsa, z dodanymi 7-ma parami chromosomów z dzikiego zimotrwałego gatunku *Avena macrostachya*, otrzymany w Radzikowie w 2004 r.

Gatunek ten, już jako pierwotna forma syntetyczna, wykazał dobrą ekspresję zimotrwałości i wypełnienia ziarna (inaczej było w przypadku pszenżyta). Ponadto ziarno okazało się bogatsze w białko i ok. dwukrotnie większe od ziarna uprawnego heksaploidalnego owsa zwyczajnego (*Avena sativa*). Poprawy wymagają plenność (ok. 60-70% plonu wzorców 6x) i opóźnione, nierównomierne dojrzewanie.

W roku 2014 udało się uzyskać nagonasienny ozimy owies oktoploidalny, którego podstawową zaletą jest większe ziarno (jakkolwiek nie tak duże jak u form oplewionych). Jest to cecha ważna w hodowli owsa nagiego, którego znaczna część plonu bywa wywiewana z kombajnów ze względu na zbyt drobne ziarno.

KREZUS (6x) MTZ 25,7 g



4H8.a (8x) MTZ 55,2 g

Ziarno obłuszczone



Krezus (plewy 26,2 %)



4H8.a (plewy 25,0 %)

Plon owsa ozimego i jego parametry jakościowe w kilku liniach mieszańców z doświadczenia 2011 w Radzikowie

Obiekt		plon kg	MTZ g	% łuski	białko%	olej %	β glukan
heksaploidy	Krezus (spring oat)	8,02	37,4	21,8	14,56	5,17	4,00
	5Q5.2	7,93	36,5	23,6	16,25	7,03	3,61
	5T8.a	7,58	53,3	26,3	17,11	5,11	4,13
	5P8.31	6,7	51,5	24,4	17,08	6,81	
	5P8.5	6,33	47,8	24,7	16,3	4,9	
	5P8.9a	6,25	51,7	27,5	16,5	6,91	
	BH8 (bulk)	5,03	61	24,9	18,64	6,28	
	4H8.8	4,85	61,5	25	19,77	5,9	2,74
	4H8.06	4,25	58,5	25,6	16,92	5,23	3,11

SIWEK

owies nagi 6x (jary)

MTZ = 20,1 g



BNOK5.0

owies nagi 8x (ozimy)

MTZ = 49,0 g (ze szkółki)



Najważniejsze rezultaty realizacji zadań:

- 1. Wytworzenie populacji żyta tetraploidalnego o poprawionej samopłodności, wzbogaconej fragmentami genomów pszenicy, stwarzającej warunki do diploidyzacji mejozy, poprawienia płodności i utrwalenia efektów heterozji.**
- 2. Wytworzenie materiału wyjściowego do hodowli owsa ozimego w Polsce. Rozpoczęcie hodowli zachowawczej rodu 5Q5.2 w celu zgłoszenia do badań odmianowych.**
- 3. Zainicjowanie populacji hodowlanych nowego syntetycznego gatunku owsa oktoploidalnego o podwyższonej zimotrwałości, zwiększonej zawartości białka i podwojonej wielkości ziarna, w wersjach z ziarnem oplewionym i z nagim.**

Udział w konferencjach, referaty i publikacje:

Referaty i publikacje

Łapiński B., Kała M., Boczkowska M. 2012. Creation of Polish forms of winter oat based on crosses with *Avena macrostachya*. The 9th International Oat Conference, 20-23 June 2012, Beijing, China. (Publication in *Scientica Agricultura Sinica*)

Łapiński B., Kała M., Nakielna Z., Jellen R., Livingston D.P. 2012. The perennial wild species *Avena macrostachya* as a genetic source for improvement of winterhardiness in winter oat for cultivation in Poland. In: R. Bell and E. Arseniuk (Eds.) Proc. of International Conference - Biotechnology and Plant Breeding – Perspectives. Poland, Radzików, September 10th-12th, 2012: 51-62

Referaty:

Octoploids from the *Avena sativa* x *A. macrostachya* cross as an alternative option for winter oat improvement (Bogusław Łapiński and Jacek Matusiak). 5th European Oat Conference, 1-3 September 2010, Ystad, Sweden.

Materiały wyjściowe do rozwinięcia polskiej hodowli owsa ozimego (Bogusław Łapiński, Jacek Matusiak) na krajowej konferencji „Nauka dla Hodowli i Nasiennictwa Roślin Uprawnych” w Zakopanem (7-11 luty 2011 r.)

Owies ozimy dla polskiego rolnictwa (B. Łapiński, M. Kała)
na Piątej Ogólnopolskiej Konferencji Naukowej “Owies i Ekologia” w dniach 8 i 9 listopada 2012 r. w Krakowie.

Rola partnerów w realizacji zadań

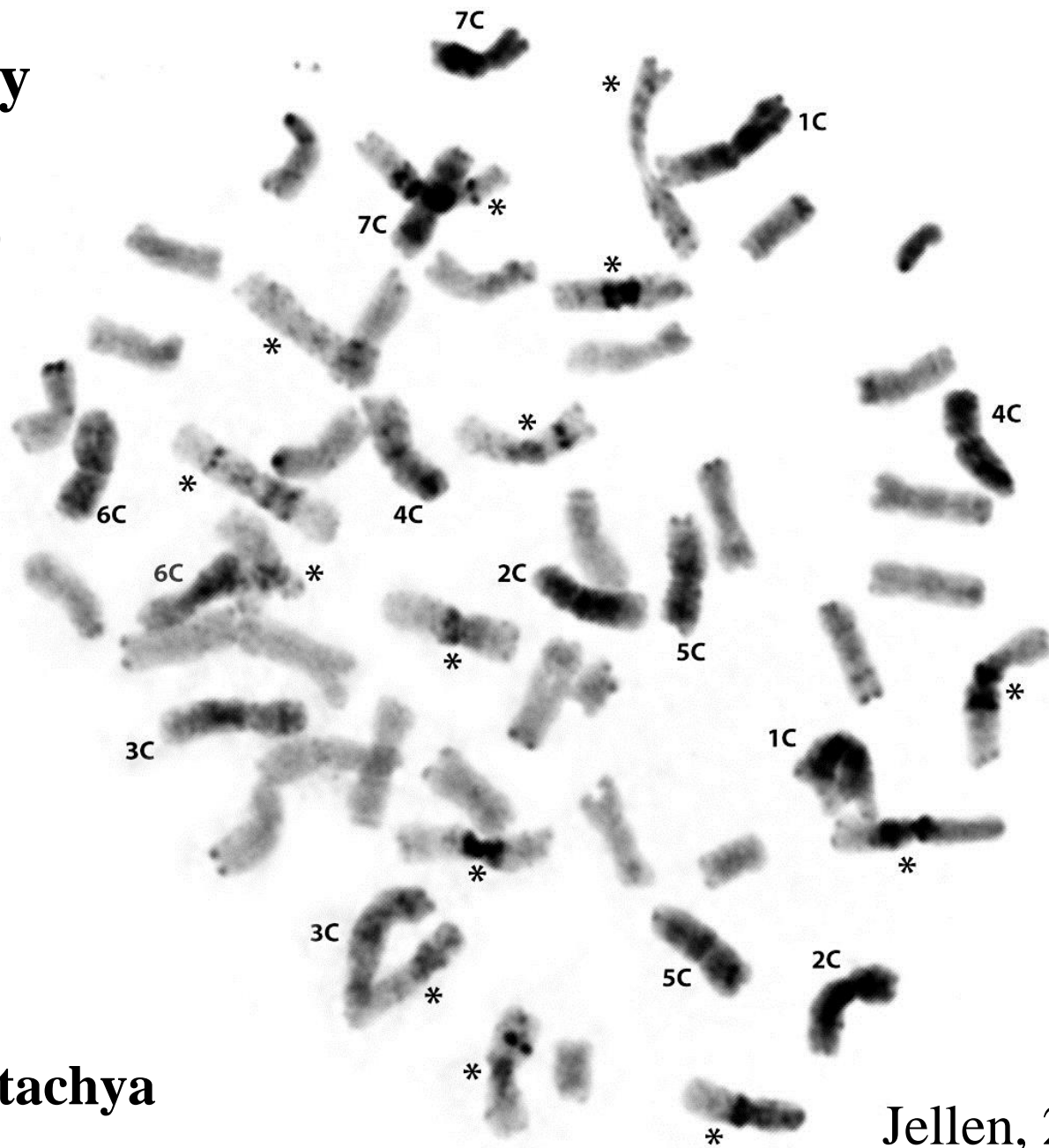
Zestaw rodów z doswiadczenia 10 m² wysiewany był w Małyszynie (HR Strzelce Sp. z o.o.) i/lub w Zakładzie Doswiadczalnym IHAR w Grodkowicach.

Badania składu biochemicznego ziarna wykonano w Małyszynie.

Zimotrwałość linii 4H8 (oktoploidy), 5Q5.2 (heksaploid) oraz obecność markerów zimotrwałości były badane w systemie międzynarodowej szkółki zimotrwałości owsa (UOWHN) koordynowanej przez Uniwersytet Karoliny Północnej (USA).


Linia oktoploidalna 4H8.8 została zbadana przez prof. R. Jellena z USA, który zidentyfikował w niej obecność 14 chromosomów dodanych z dzikiego tetraploida *Avena macrostachya*.

Chromosomy owsa 8x (linia 4H8.8)



*) – *A. macrostachya*

Jellen, 2012



Dziękuję za uwagę