

# BADANIA PODSTAWOWE NA RZECZ POSTĘPU BIOLOGICZNEGO W PRODUKCJI ROŚLINNEJ.

*Wyniki badań uzyskane w 2012 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 oraz z 2012r. Nr 53 poz. 271)*

**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

**Zad. 1 Ocena odporności genotypów pszenicy ozimej na fuzariozę kłosów celem znalezienia form odpornych.**

**Materiały:**

- 143 genotypy pszenicy ozimej o zróżnicowanym podłożu genetycznym;
- wzorce: wysoko plonujące odmiany KWS Ozon (średnio podatna), Muszelka (podatna), Tonacja (odporna);
- 62 genotypy pszenicy ozimej wybrane z doświadczeń prowadzonych w latach 2007–2011;
- 2 linie wysoko odporne na fuzariozę kłosów;
- 66 genotypów pszenicy jarej o zróżnicowanym podłożu genetycznym.

**Metodyka:**

Obiekty wysiane zostały w trzech powtórzeniach w dwóch doświadczeniach polowych w Radzikowie (doświadczenie 1: 71 obiektów + 3 wzorce, doświadczenie 2: 72 obiekty + 3 wzorce). Materiałem infekcyjnym była mieszanina 3 izolatów *Fusarium culmorum*, wytwarzających deoksyniwalenol, niwalenol oraz zearalenon. Pszenica inokulowana była przez oprysk kłosów zawiesiną zarodników o stężeniu ok.  $5 \times 10^5$  zar./ml w okresie pełni kwitnienia. Wykonano 3 inokulacje wszystkich obiektów w odstępach 2-dniowych. Po około 3 tygodniach od inokulacji przeprowadzono ocenę nasilenia fuzariozy kłosów. Określano występowanie fuzariozy kłosów (liczba kłosów porażonych na poletku) oraz porażenie kłosa. Mierniki te posłużyły do wyliczenia indeksu fuzariozy kłosów (IFK) oznaczającego udział porażonych kłosków w ogólnej liczbie kłosków na poletku. Wykonano pomiary wysokości roślin. Po zbiorze kłosów oznaczono stopień uszkodzenia ziarniaków przez *Fusarium* (FDK).

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

Doświadczenia infekcyjne z 143 genotypami pszenicy ozimej założono dodatkowo w 5 punktach doświadczalnych na terenie Polski. W Mikulicach (woj. podkarpackie) badano zestaw 93 genotypów pszenicy ozimej. Zastosowano ten sam zestaw izolatów *F. culmorum* co w Radzikowie. Metodyka inokulacji była zbliżona. Określano procentowy indeks fuzariozy kłosów lub odporność w skali 1-9 (Mikulice).

## **Wyniki:**

### ***Doświadczenie infekcyjne w IHAR Radzików:***

Po ciepłym styczniu, w lutym 2012 w Radzikowie nastąpił gwałtowny spadek temperatury ( $<-20^{\circ}\text{C}$ ). Opady śniegu w tym okresie były bardzo niskie i pokrywa śnieżna była bardzo cienka. Warunki te spowodowały wymarzenie części genotypów pszenicy ozimej. Przezimowanie oceniono 30 marca. Całkowicie wymarło 7 genotypów, silnie uszkodzone zostały 33. Spośród tych genotypów 21 zregenerowało (przynajmniej na pojedynczych poletkach) i możliwa była ocena ich odporności na fuzariozę kłosów. Część obserwacji wykonano na pojedynczych poletkach. Korelacja pomiędzy mrozoodpornością a indeksem fuzariozy kłosów była istotna ( $r=0,425$ ).

Średnie nasilenie fuzariozy kłosów u genotypów pszenicy ozimej wynosiło 38,8%. Zakres zmienności cechy mieścił się w granicach 15,0-61,3%. Grupa najbardziej odpornych na porażenie kłosa liczyła 7 genotypów, wysoko podatnych było 9 genotypów. Termin kwitnienia i wysokość roślin nie korelowały z nasileniem fuzariozy kłosów.

Do badań w sezonie 2012/13 wybrano 16 genotypów wykazujących odporność na fuzariozę kłosów.

Średnie nasilenie fuzariozy kłosów u genotypów pszenicy ozimej z lat 2007-2011 wynosiło 26,1%. Zakres zmienności cechy mieścił się w granicach 8,0-46,3%. W porównaniu z genotypami z 2012, większość badanych obiektów była odporna lub średnio odporna na fuzariozę kłosów.

### ***Doświadczenia infekcyjne w punktach doświadczalnych***

Warunki pogodowe w Polsce w styczniu i lutym 2012 spowodowały silne wymarzenie upraw pszenicy ozimej. Szczególnie dotyczyło to centralnej Polski oraz Dolnego Śląska. Niektóre wysiane obiekty wymarły w 90-100%, inne w ok. 30%. Najlepiej pszenica przezimowała w Polanowicach (woj. małopolskie).

Średnie nasilenie fuzariozy kłosów wyniosło od 27,9% do 39,6% zależnie od miejscowości. Stwierdzono duże zróżnicowanie podatności badanych genotypów. Znalezione genotypy odporne o stabilnej reakcji we wszystkich lokalizacjach. Obserwowano również stabilną podatność niektórych genotypów. Wyniki uzyskane w punktach doświadczalnych korelowały istotnie. Współczynniki były niskie co mogło wynikać z wpływu uszkodzeń mrozowych roślin na rozwój fuzariozy kłosów.

Średnia odporność linii pszenicy w Mikulicach wynosiła 6,2. Odporność około 60% linii była niższa lub taka sama jak podatnych wzorców Muszelka i KWS Magic. Na podstawie analizy wyników można było wyróżnić linie odporne na fuzariozę kłosów.

Najwcześniejsze linie kłosiły się po 144 dniach od początku roku, najpóźniejsze o około 11 dni później. Najniższe linie miały wysokość w zakresie 70-75cm najwyższe około 110cm.

### ***Analizy komponentów (typów) odporności wybranych genotypów***

Na podstawie wyników uzyskanych w 3 środowiskach do dalszych analiz wybrano 33 genotypy wykazujące odporność na porażenie kłosa, dwie odmiany wzorcowe (Tonacja i KWS Ozon) oraz 3 genotypy o najwyższej podatności. Spośród genotypów odpornych 8 było badanych w doświadczeniach w sezonie 2010/2011. Pod uwagę brano również poziom plonowania genotypu oraz jego mrozoodporność.

Fuzarioza kłosów wybranych 38 genotypów wynosiła średnio 35,5% (bez wzorców i 3 genotypów podatnych – 32,9%). Zakres zmienności od 18,0% do 56,1% (bez wzorców i 3 genotypów podatnych – od 18,0% do 50,7%).

Uszkodzenie ziarniaków przez *Fusarium* wyniosło średnio 28,8%. Zakres zmienności tej cechy wynosił 13,7-46,9%. Największe uszkodzenie ziarniaków (niska odporność typu 3) obserwowano u 3 genotypów. Było ono wyższe niż dla genotypów o niskiej odporności typów 1+2 (porażenie kłosa). Część genotypów o wysokiej odporności typów 1+2 wykazała silne uszkodzenie ziarniaków (niska odporność typu 3). Analiza chromatograficzna trichotecen B wykazała zawartość DON w ziarnie na poziomie 9,2 mg/kg. Zawartość NIV była niska – średnio 0,429 mg/kg. Wyższa była zawartość acetylowych pochodnych DON – 3AcDON, 15AcDON, odpowiednio 1,2 i 1,0 mg/kg.

Małe ilości trichotecen akumulowało:

- 5 genotypów równocześnie charakteryzujących się wysoką odpornością na infekcję kłosa i uszkodzenie ziarniaków.
- 2 genotypy wykazujące się mniejszą odpornością na porażenie kłosa i ziarniaków.
- 2 genotypy charakteryzujące się silnym uszkodzeniem ziarniaków.

Natomiast znaczne ilości trichotecen znaleziono u kilku genotypów o małym uszkodzeniu ziarna.

Analiza testem AgraQuant ZON wykazała niską zawartość zearalenonu w ziarnie badanych genotypów. Średnio było to 198 mcg/kg. Zakres zmienności cechy wynosił od 11 do 834 mcg/kg. Dopuszczalny limit ZON w przypadku infekcji naturalnych wynosi 100 mcg/kg. Genotypy o niskiej akumulacji trichotecen akumulowały równocześnie niewielkie ilości ZON. Najwięcej ZON zawierało ziarno 2 podatnych na akumulację trichotecen genotypów oraz jednego średnio odpornego.

Nasilenie fuzariozy kłosów oraz uszkodzenie ziarniaków korelowało z zawartością wszystkich mikototoksyn. Współczynniki korelacji z zawartością ZON miały najniższe wartości. Zawartości trichotecen korelowały ze sobą wysoko istotnie. Słabsze były korelacje zawartości trichotecen z zawartością ZON.

Ze względu na złożoność odporności na fuzariozę kłosów uzyskane wyniki poddano statystycznej analizie składowych głównych. Genotypy zostały pogrupowane na podstawie odporności na porażenia kłosa, uszkodzenia ziarniaków, sumarycznej zawartości trichotecen B oraz zearalenonu.

### **Pszenica jara**

Średnie nasilenie fuzariozy kłosów u genotypów pszenicy jarej wynosiło 30,4%. Zakres zmienności cechy mieścił się w granicach 7,7-45,3%. Najwyższą odporność wykazało 9 genotypów. Zebrano kłosa z 20 najodporniejszych form. Oznaczono uszkodzenie ziarniaków oraz zawartość mikotoksyn w ziarnie. Jako wzorce posłużyły odmiany pszenicy jarej: Raweta, Torka, Bombona, Arabeska, Katoda, Hewilla, Banti. Średnie uszkodzenie ziarniaków dla 20 genotypów wynosiło 29,8% (od 8,7 do 62,2%), natomiast dla odmian 41,8% (od 24,7 do 54,5%). Odporność na uszkodzenie ziarniaków wykazało 9 genotypów i odmiana Torka. Pięć genotypów wykazało odporność zarówno na porażenie kłosa jaki i uszkodzenie ziarniaków.

## **Zad. 2. Wprowadzanie genów odporności na fuzariozę kłosów do odmian pszenicy ozimej i jarej.**

### **Materiały:**

- 76 linii pokolenia F<sub>4</sub> uzyskanych z mieszańców odmian i form odpornych pszenicy ozimej;
- 201 linii pokolenia F<sub>6</sub> uzyskanych z mieszańców odmian i form odpornych pszenicy ozimej;
- 66 linii pszenicy ozimej uzyskanych z mieszańców z odporną pszenicą jarą Sumai3 (pokolenie F<sub>8</sub>);
- 20 linii podwojonych haploidów pszenicy jarej uzyskanych z mieszańców odmian pszenicy jarej z jarymi genotypami odpornymi;
- Linie pokoleń F<sub>4</sub> (67), F<sub>5</sub> (41) oraz F<sub>8</sub> (49) uzyskane z mieszańców odmian pszenicy jarej z jarymi genotypami odpornymi.

### **Metodyka:**

Wszystkie badane linie inokulowano grzybem *F. culmorum*. Materiałem infekcyjnym była mieszanina 3 izolatów *F. culmorum*. Pszenica inokulowana była przez oprysk kłosów zawiesiną zarodników o stężeniu ok.  $5 \times 10^5$  zar./ml w okresie pełni kwitnienia. Wykonano 3 inokulacje wszystkich obiektów w zależności od terminu kwitnienia.

### **Wyniki:**

Linie F<sub>4</sub> oraz F<sub>6</sub> pszenicy ozimej przetrzymały w stopniu zadawalającym. Średnia ocena mieściła się w granicach 4-7. Nieliczne linie oceniono na 8 punktów. Linie wykazały duże zróżnicowanie odporności na fuzariozę kłosów. Do dalszych badań wybrano 33 pojedynki z 13 linii F<sub>4</sub> oraz 48 linii F<sub>6</sub> o wysokiej odporności.

Linie F<sub>8</sub> (x Sumai 3) przetrzymały średnio w stopniu 2,7. Całkowicie wymarło 5 linii, na poletkach 15 linii pozostały pojedyncze rośliny. Bardzo dobrze przetrzymało 8 linii (w stopniu 5-7). Do dalszych badań wybrano 53 linii. Większość linii (z wyjątkiem 5.) charakteryzowała się wysoką odpornością na fuzariozę kłosów.

Z powyższych linii, ziarno wybranych, najlepszych linii (6 F<sub>8</sub> oraz 3 F<sub>6</sub>) przekazano do badań w 5 różnych punktach doświadczalnych (środowiskach).

Spośród linii F<sub>4</sub> i F<sub>5</sub> pszenicy jarej wybrano około 44 linie wysoko odporne 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;
- Wyselekcjonowanie genotypów o wysokiej odporności na fuzariozę kłosów z uwzględnieniem wszystkich typów odporności;

- Zbadanie zależności pomiędzy typami odporności na fuzariozę kłosów;
- Wyselekcjonowanie linii o podwyższonej odporności na fuzariozę kłosów oraz mrozoodpornych.

**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 F<sub>1</sub>. W roku sprawozdawczym 2012 pracowano z liniami mieszańcowymi uzyskanymi w latach:

- 70 linii mieszańców F<sub>1</sub> pszenicy z 2010 r.;
- 75 linii mieszańców F<sub>1</sub> pszenicy z 2011 r.;
- 65 linii mieszańców F<sub>1</sub> pszenicy z 2012 r.

W celu otrzymania linii DH ziarniaki mieszańców F<sub>1</sub> 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. Proces wykładania pylników z materiału roślinnego został już zakończony, natomiast w dalszym ciągu trwa przekładanie kalusa, ukorzenie, jarowizacja i sadzenie otrzymanych regenerantów. Uzyskanie nasion oraz założenie doświadczenia testującego odporność linii DH na porażenie przez *S. nodorum* planowane jest na jesień 2013 roku. Wytworzono 55 linii DH.

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. 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 roślin poszczególnych linii mieścił się w przedziale od 148 do 159 dni, wysokość badanych roślin wynosiła od 72 cm do 108 cm, zakres reakcji na porażenie przez *S. nodorum* dla liści oscylował w granicach od 5 (skala 1-9) do 6,6, natomiast dla plew kłosów od 3,8 do 6.

Wyniki fenotypowej analizy odporności linii DH pszenicy ozimej:

Zakres terminów kłoszenia poszczególnych linii mieścił się w przedziale od 149 do 162 dni, wysokość badanych roślin wynosiła od 50 cm do 130 cm, zakres reakcji na porażenie linii DH pszenicy ozimej przez *S. nodorum* dla liści oscylował w granicach od 5,3 (skala 1-9) do 6,6, natomiast dla plew kłosów od 4,2 do 6,1.

**Wnioski**

A) Linie DH oraz obiekty badane w doświadczeniu wstępnym charakteryzowały się wczesnością

zamykającą się w przedziale 148–162 dni od 01.01, wysokością od 50–130 cm, odpornością liści od 5,07 do 6,6 (1 - krańcowo podatne; 9 – całkowicie odporne), oraz odpornością kłosów w zakresie od 3,8 do 6,13.

- B) W przypadku liści najodporniejszymi obiektami była linia DH z wysiewu ręcznego (566/27/3) oraz obiekt z DW II (STH 104), uzyskały one ocenę lepszą niż odmiany wzorcowe, oraz odmiany ocenione w ramach programu statutowego. Poziom najodporniejszych odmian zyskała również kolejna linia DH z wysiewu ręcznego (592/9/1) oraz obiekt DW I (4008'11).
- C) W przypadku kłosów najodporniejszym obiektem była linia DH z wysiewu ręcznego (645/44/1). Oprócz niej 6 innych linii DH uzyskało ocenę wyższą niż porównywane odmiany. Z pośród obiektów doświadczeń wstępnych jeden był odporniejszy niż wszystkie przebadane odmiany ozime (STH 104).
- D) Do obiektów o najkrótszej słomie należały linie DH z wysiewu ręcznego oraz linia DH z pierwszego roku doświadczeń.
- E) Duża liczba linii DH wprowadzona w roku ubiegłym pozwala na uzyskanie wartościowego materiału do dalszych badań.

#### Obserwacje wykonane w ramach usług badawczych:

Z uwagi na ostrą zimę i znaczny udział uszkodzeń mrozowych na poletkach doświadczalnych, ocena doświadczenia możliwa była jedynie w punkcie doświadczalnym Dębina.

Zarówno w pierwszej jak i drugiej serii wiele rodów osiągnęło wyższy stopień odporności liści niż odmiany wzorcowe. Również w przypadku odporności kłosów w pierwszej serii wiele rodów charakteryzowało się wyższą odpornością, natomiast w drugiej odporniejszy od wszystkich odmian wzorcowych okazał się tylko jeden ród.

#### **Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 5.**

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

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

W 2012 roku kontynuowano prace dotyczące piramidowania genów. W badanym materiale roślinnym przeprowadzono krzyżowanie wypierające. W zależności od kombinacji krzyżówkowej, jako rodzica wypierającego użyto odmianę pszenicy ozimej: Nadobna lub Bogatka. Uzyskano F<sub>1</sub>BC<sub>1</sub>, na którym przeprowadzono selekcję molekularną oraz fenotypową. Wyselekcjonowano obiekty do rozmnożenia populacji w celu uzyskania F<sub>2</sub>BC<sub>1</sub>. Ponadto przeprowadzono dodatkowe krzyżowanie z linią Pm37 dla populacji BIO8, ponieważ w 2011 roku, nie otrzymano linii zawierających zestaw odpornościowy (Lr41 + Pm21 + Pm37).

Prace badawcze prowadzono na następujących populacjach mieszańcowych:

- BIO2 {((Nadobna × Lr41) × (Nadobna × Pm21) × Nadobna) × Nadobna} × Lr47 × Nadobna
- BIO4\_1 {((Bogatka × Lr41) × (Bogatka × Pm21) × Bogatka) × RAH979} × Lr47 × Nadobna
- BIO4\_2 {((Bogatka × Lr41) × (Bogatka × Pm21) × Bogatka) × RAH979} × Lr47 × Bogatka
- BIO4\_3 {((Bogatka × Lr41) × (Bogatka × Pm21) × Bogatka) × RAH979} × Pm37 × Nadobna
- BIO8 {((Bogatka × Lr41) × (Bogatka × Pm21) × Lexus) × Meteor} × Pm37 × Pm37

Do selekcji materiału roślinnego wykorzystano następujące markery molekularne:

- Gen *Lr41*: Barc124, Gwm261, Gwm296, Gdm35;
- Gen *Lr47*: (PCAPSR+PS10L+PS10L2), Gwm60;
- Gen *Pm21*: NAU/Xibao;
- Gen *Pm37*: Gwm332, Wmc70, STSBE406627, STSBE406653.

W testach patogeniczności wykorzystano izolaty różnicujące, dla mączniaka prawdziwego izolat Bgt Kadett, dla rdzy brunatnej izolat 2902.

Populacja BIO2 została skrzyżowana wstecznie: Odmiana Nadobna. Otrzymano  $F_1BC_1$  w liczbie 28 roślin. Po ocenie fenotypowej i molekularnej do dalszych badań wybrano 10 roślin mających profil odpornościowy: (Lr41 + Pm21 + Lr47) × Nadobna.

Populację BIO4\_1 {{{(Bogatka × Lr41) × (Bogatka × Pm21) × Bogatka} × RAH979} × Lr47 × Nadobna poddano ocenie fenotypowej i do analizy molekularnej wybrano 13 roślin.

Populację BIO4\_2 {{{(Bogatka × Lr41) × (Bogatka × Pm21) × Bogatka} × RAH979} × Lr47 × Bogatka poddano ocenie fenotypowej i do analizy molekularnej wybrano 10 roślin.

Populację BIO4\_3 {{{(Bogatka × Lr41) × (Bogatka × Pm21) × Bogatka} × RAH979} × Pm37 × Nadobna poddano ocenie fenotypowej i molekularnej do dalszych badań wybrano 10 roślin.

Poszukiwano nowych źródeł odporności. Przeprowadzono ocenę reakcji odmian na zestaw nowych izolatów różnicujących Wysoką odpornością charakteryzowały się linie: Pm21 i Pm37. Ponadto w 2102 roku, uzyskano linię MG29896 = Pm36 (Prof. Rosanna Simeone, Uniwersytet w Bari).

W szkółce polowej w Radzikowie przeprowadzono ocenę linii homozygotycznych pod względem odporności na mączniaka i rdzę brunatną. Materiał roślinny oceniany był pod kątem cech agronomicznych. Ocena materiału roślinnego była przeprowadzana w odniesieniu do dwóch wzorców: Muszelka i Borkis. Materiał badawczy stanowiło 10 populacji mieszańcowych. Spośród 10 analizowanych populacji wyselekcjonowano linie pszenic o korzystnych cechach agronomicznych. Łącznie analizowano 330 linii, z czego, do dalszych badań, wybrano 53 linie.

#### **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**

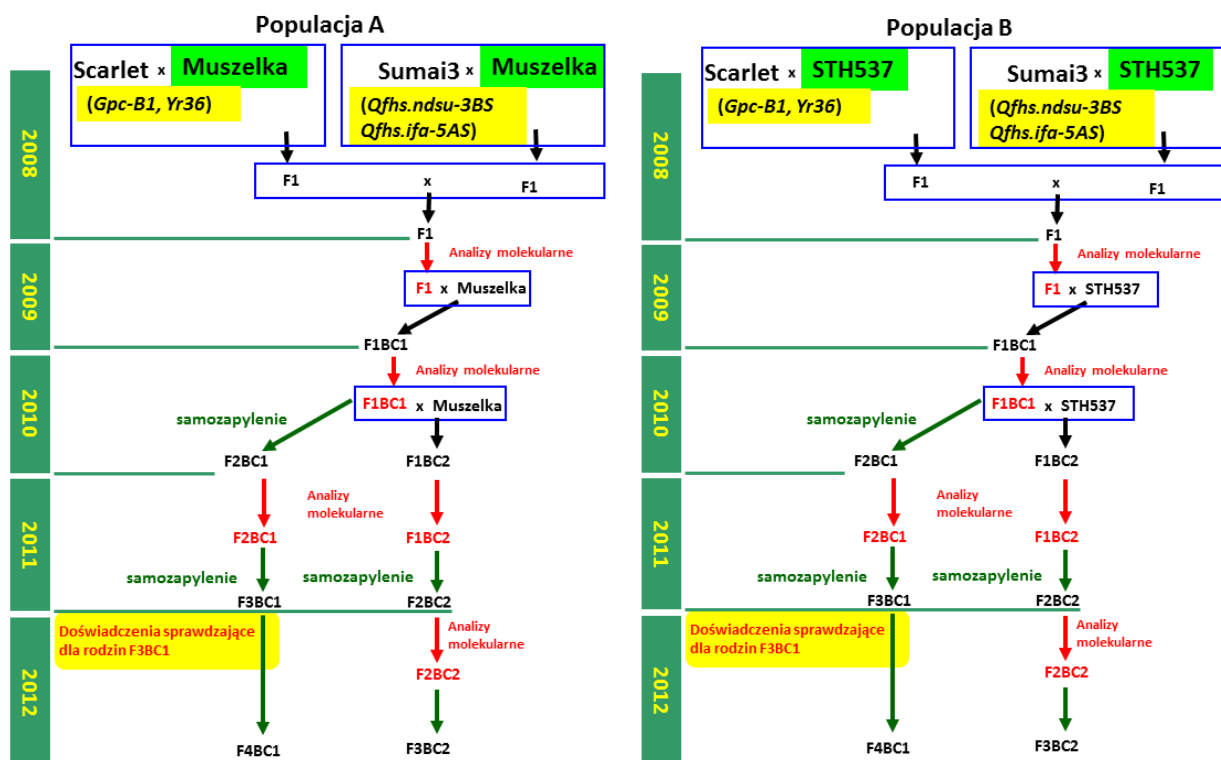
Celem projektu jest określenie przydatności strategii opartej o markery molekularne do kumulacji w jednym genotypie pszenicy ozimej trzech *loci* cech ilościowych i jednej jakościowej, które mają poprawić odporność na fuzariozę kłosa i rdzę żółtą oraz podnieść poziom białka w ziarnie.

W roku 2012 zaplanowano wykonanie następujących zadań:

- Analiza molekularna dwóch populacji pokolenia  $F_2BC_2$  i uzyskanie pokolenia  $F_3BC_2$ .
- Doświadczenie sprawdzające odporność roślin na fuzariozę kłosa (FHB) z dwóch populacji pokolenia  $F_3BC_1$ .

W roku 2012 analizowano rośliny z dwóch populacji A i B pokolenia  $F_2BC_2$  (rys.1). Po ekstrakcji DNA, próbki analizowano pod względem obecności alleli w *loci* markerów molekularnych blisko sprzężonych z wprowadzanymi genami. Na tym etapie badano niżej wymienione markery molekularne:

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



Rys. 1. Schemat otrzymania populacji i wykonanych analiz molekularnych z udziałem dwóch rodziców wypierających Muszelki (A) i STH537 (B).

W celu lepszej charakterystyki regionów chromosomów przyległych do wprowadzanych genów wykorzystano dodatkowe markery molekularne wymienione w tabeli 1.

Tabela 1. Markery molekularne wykorzystane do badania polimorfizmu DNA.

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

Przeprowadzone analizy molekularne pozwoliły na uzyskanie następujących wyników:

- Populacja A (pokolenie F<sub>2</sub>BC<sub>2</sub>)
    - analizy przeprowadzono na 744 roślinach;
    - wybrano 11 roślin o najkorzystniejszym układzie alleli (rys. 2)
  - Populacja B (pokolenie F<sub>2</sub>BC<sub>2</sub>)
    - analizy przeprowadzono na 755 roślinach
    - wybrano 4 rośliny o najkorzystniejszym układzie alleli (rys. 2)
- Wybrane rośliny posłużyły do otrzymania ziarna pokolenia F<sub>3</sub>BC<sub>2</sub>.

		5A				3B					6B				
Roslina F2BC2		gwm154	gwm293	gwm304	gwm186	Sts 1.1	barc12	gwm533	Gwm493	wmc754	Barc92	wmc494	Uhw89	gwm133	wmc398
	Muszelka	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	Scarlet	B2	B2	B2	B2	B2	B2	B2	B2	B2	B2	B	B	B	B
	Sumai 3	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B2	B2	B2	B2
46	popA	A	B	B	H	A	A	-	B	H	A	A	B	H	B
62		A	B	B	H	A	A	-	B	H	A	A	B	H	B
75		A	B	B	B	A	A	-	B	H	A	A	B	H	B
97		A	B	B	H	A	A	-	B	H	A	A	B	H	B
258		A	B	B	B	B	A	-	B	H2	A	A	B	B	B
311		A	B	B	B	H	A	-	B	H	A	A	B	H	B
380		H	B	B	A	B	A	-	B	H2	A	A	B	H	B
406		H	B	B	H	A	A	-	B	U	A	A	B	H	B
451		B	B	B	H	B	A	-	B	H	A	A	B	H	H
474		B	B	B	B	H	A	-	B	H	A	A	B	H	B
490		H	B	B	B	B	A	-	B	H	A	A	B	H	B
	STH537	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	Scarlet	B2	B2	B2	B2	B2	B2	B2	B2	B2	B	B	B	B	
F2BC2	Sumai 3	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B2	B2	B2	B2	
149	popB	A	B	B	A	H	A	-	B	B2	H	B	B	H	B
244		A	B	B	A	H	U	-	B	B2	A	B	B	H	B
483		A	B	B	A	H	A	-	B	B	A	B	B	H	B
554		B	B	B	A	H	A	-	B	B2	A	B	B	H	B

<b>A</b>	homozygota (allel w typie Muszelki lub STH537)
<b>B</b>	homozygota (allel w typie donora Scarlet dla 6B i Sumai3 dla 5A i 3B)
<b>B2</b>	homozygota (allel w typie donora Scarlet dla 3B i 5A oraz Sumai3 dla 6B)
<b>H</b>	heterozygota (układ alleli A / B lub B2)
<b>H2</b>	heterozygota (układ alleli B / B2)
<b>-</b>	brak wyników
<b>U</b>	nieznany

Rys. 2. Układ alleli dla *loci* markerów molekularnych sprzężonych z wprowadzanymi genami dla 11 roślin populacji A i 4 roślin populacji B w pokoleniu F<sub>2</sub>BC<sub>2</sub>.

Poza analizami molekularnymi przeprowadzono również doświadczenie sprawdzające poziom odporności na FHB roślin pokolenia F<sub>3</sub>BC<sub>1</sub>, do których wprowadzono *loci* odporności na drodze selekcji wspomaganą markerami molekularnymi (poprzednie sprawozdania). Łącznie z dwóch populacji A i B (rys. 1) testowano 15 rodzin F<sub>3</sub>BC<sub>1</sub>, każda po 45 roślin. Rośliny F<sub>3</sub>BC<sub>1</sub>, odmiany rodzicielskie (Muszelka, STH537, Sumai3 i Scarlet) oraz wzorzec (Bockris) zakażano w fazie kwitnienia mieszaniną izolatów *Fusarium culmorum*. Przed inokulacją w każdej roślinie F<sub>3</sub>BC<sub>1</sub> izolowano jeden kłos, który stanowił kontrolę. Po okresie inkubacji wykonano dwa rodzaje oceny porażenia kłosów. W pierwszej ocenie (wykonanej przez dr Tomasza Górala, IHAR-PIB Radzików) określono wizualnie liczbę punktów infekcyjnych (kłosków) w 10 losowych kłosach. W drugiej ocenie z każdej rodziny zebrano po 5 porażonych kłosów, które fotografowano aparatem cyfrowym. Dodatkowo sfotografowano kłosa kontrolne. Uzyskany obraz kłosów analizowano przy pomocy oprogramowania komputerowego WinCam 2010a (Regent Instruments, Kanada), który pozwolił na określenie procentu porażenia kłosów. Wyniki oceny porażenia kłosów przez *F. culmorum* przedstawiono w tabeli 2.



Tabela 2. Określenie dwiema metodami stopnia porażenia kłosów roślin F<sub>3</sub>BC<sub>1</sub> po inokulacji *Fusarium culmorum*.

		Rodzaj wykonanej oceny												
		analiza obrazu (typ odporności I i II)		liczba kłosów z objawami infekcji 10 dni po inokulacji (typ odp. I)										
Inkubacja	Obiekt	Zakażane % porażenia	Kontrola % porażenia	kł. 1	kł. 2	kł. 3	kł. 4	kł. 5	kł. 6	kł. 7	kł. 8	kł. 9	kł. 10	Średnia
22 dni	Scarlet	93	61	12	14	11	16	12	13	8	14	10	6	11,6
22 dni	Sumai 3	82	63	5	9	13	10	13	10	12	9	11	4	9,6
17 dni	B II S-739	95	30	12	9	5	5	5	7	7	8	8	8	7,4
18 dni	A II S-443	89	17	10	5	10	7	5	7	8	6	8	5	7,1
18 dni	A II S-446	92	33	13	11	4	8	10	7	7	7	9	4	8,0
18 dni	B II S-256	73	16	3	4	6	6	7	4	9	9	3	4	5,5
18 dni	B II S-284	62	8	6	5	6	3	5	6	3	4	3	3	4,4
19 dni	A II S-467	53	30	3	4	4	3	5	3	3	4	3	3	3,5
19 dni	A II S-538	68	30	6	7	3	8	4	3	7	6	3	2	4,9
19 dni	A II S-587	67	43	5	3	5	2	7	7	4	3	6	2	4,4
19 dni	B II S-156	56	26	5	4	6	2	5	6	6	3	4	5	4,6
19 dni	B II S-244	68	36	7	10	10	6	7	10	10	6	7	6	7,9
19 dni	B II S-286	76	40	5	4	6	5	8	6	9	5	5	9	6,2
19 dni	B II S-323	67	18	10	9	8	8	8	6	5	4	4	7	6,9
19 dni	B II S-338	67	32	9	10	8	5	6	10	8	9	7	8	8,0
19 dni	B II S-401	62	28	7	8	3	4	6	7	4	4	3	4	5,0
19 dni	B II S-687	64	26	5	3	5	7	4	6	7	6	5	4	5,2
19 dni	STH537	72	51	8	10	11	8	10	11	6	12	10	6	9,2
19 dni	Muszelka	92	55	6	6	6	5	5	5	4	5	3	3	4,8
19 dni	Bockris	87	53	4	4	3	3	3	3	4	3	2	5	3,4

Uzyskano dość dużą zbieżność (współczynnik korelacji 0,47) obydwu metod oceny porażenia kłosów przez FHB. Odmiana Sumai3 odporna na fuzariozę kłosa wykazywała większy stopień porażenia w porównaniu do wszystkich ocenianych kłosów roślin F<sub>3</sub>BC<sub>1</sub>. Wśród nich wytypowano następujące rodziny F<sub>3</sub>BC<sub>1</sub>, które wykazywały wysoki poziom odporności w obydwu ocenach: BIIS-284, BIIS-156, AIIS-467, AIIS-538 i AIIS-587.

#### 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 *P. triticina* w stadium rośliny dorosłej spośród perspektywicznych form i różnych genotypów pszenicy ozimej.

Materiał badawczy stanowiły zaawansowane formy pszenicy ozimej z doświadczeń wstępnych – łącznie 146 obiektów wraz z wzorcami oraz wzorcem wrażliwości Michigan Amber. W badaniach wzięło udział także 275 genotypów pszenicy ozimej pochodzących z 5 różnych, geograficznych rejonów uprawy. Ponadto do badań włączono w formie kolekcji źródeł odporności 29 genotypów, które w poprzednim okresie badań charakteryzowały się wysoką odpornością. Ogółem w roku sprawozdawczym przebadano 450 genotypów pszenicy ozimej.

Jesienią 2011 roku w Grodkowicach i w Krzeczowicach wysiano wymieniony wyżej materiał badawczy w jednym powtórzeniu po 2 rządki wraz z wzorcem wrażliwości. W sezonie wegetacyjnym przeprowadzono w Grodkowicach w polu sztuczną inokulację rdzą brunatną wszystkich biorących udział w doświadczeniu genotypów pszenicy. Wybrano do badań populację patotypów *P. triticina*, które występują z dużą częstotliwością w krajowej populacji grzyba i odznaczają się znaczną wirulencją w stosunku do linii monogenicznych i odmian z genami *Lr*. W składzie populacji znalazły

się patotypy charakteryzujące się między innymi wirulencją wobec genów *Lr9* i *Lr24*, dotychczas wysoce skutecznych. Rośliny inokulowano przez oprysk zawiesiną uredospor - mieszaniną patotypów, w stadium przed kłoszeniem. Ocenę porażenia rdzą brunatną genotypów pszenicy przeprowadzono w Grodkowicach oraz w warunkach naturalnej infekcji w Krzeczowicach 3-krotnie, w równych odstępach czasu w oparciu o powszechnie stosowaną wizualną skalę 9-cio stopniową. W celu dokładniejszego określenia poziomu odporności na rdzę brunatną badanych genotypów, ocenę porażenia przekształcono w skalę określającą średni procent porażenia roślin, a poziom odporności oceniano wyliczając powierzchnię pod krzywą rozwoju choroby stosując współczynnik AUDPC. Dla zbadania zróżnicowania genotypów pod względem odporności określono współczynniki zmienności CV %.

W roku sprawozdawczym obserwowano znaczne nasilenie rdzy brunatnej w Grodkowicach, gdzie na rozwój choroby miały wpływ sprzyjające warunki pogodowe, między innymi wyższa temperatura i umiarkowane opady deszczu. Istotny wpływ na porażenie roślin w Grodkowicach miała także zastosowana sztuczna inokulacja populacją *P. triticina*. Zakres porażenia genotypów pszenicy w warunkach sztucznej inokulacji wynosił 9-2 w skali 9-cio stopniowej, zaś w Krzeczowicach w warunkach naturalnej infekcji zakres porażenia wahał się od 9-5. Spośród 146 ocenianych, jedynie 14 (9,6%) odznaczało się wysokim poziomem odporności polowej w Grodkowicach w czasie całego okresu wegetacyjnego, ocena w skali 9-cio stopniowej 9-7, średnią odporność, porażenie w skali w stopniu 6 notowano u 87 form, pozostałe - w ilości 45 (31%) charakteryzowały się wysoką wrażliwością, stopień 4 i poniżej. Obliczony współczynnik zmienności CV, ponad 30% dla Grodkowic, wskazuje na znaczne zróżnicowanie badanego materiału pod względem odporności na *P. triticina* w tej miejscowości. W Krzeczowicach, gdzie rdza wystąpiła w słabym nasileniu, wysoką odporność notowano u 71 genotypów (49%), zaś w grupie średnio odpornych znalazło się 75 form (51%). Wśród badanych form nie notowano form wrażliwych.

Analiza odporności 275 genotypów pszenicy pochodzących z 5 rejonów uprawy rosnących w Grodkowicach wskazuje na wyraźną przewagę genotypów średnio odpornych i wrażliwych na rdzę, odpowiednio 47 i 42%. Wśród badanych form zaledwie 11% charakteryzowało się wysoką odpornością. W Krzeczowicach z uwagi na słabe nasilenie choroby, podobnie jak w przypadku genotypów z doświadczeń wstępnych, nie stwierdzono zasadniczego zróżnicowania obiektów pod względem odporności na *P. triticina*.

Przeprowadzona ocena materiału badawczego w roku sprawozdawczym w obu miejscowościach pozwoliła na wyodrębnienie 11 genotypów pszenicy o wysokim poziomie odporności polowej. Wśród nich 4 charakteryzowały się znaczną odpornością również w badaniach w 2011 roku.

Na podstawie uzyskanych wyników w roku bieżącym i w poprzednim okresie badań dokonano wyboru 29 genotypów o wysokiej odporności polowej, które włączono do badań w roku bieżącym. U wszystkich potwierdzono wysoki poziom odporności polowej także w roku sprawozdawczym.

Analizując rodowody odpornych genotypów oraz dane z literatury starano się określić genetyczne podstawy odporności na rdzę brunatną u ich form rodzicielskich. Ustalono że u niektórych badanych odpornych form podstawą odporności może być kombinacja genów odporności specyficznej (*Lr10*, *Lr14a*, *Lr26*) w fazie siewek z genami kontrolującymi odporność w stadium rośliny dorosłej (*Lr13*, *Lr37*). Według literatury przedmiotu kombinacja tych genów może zabezpieczyć znaczny poziom odporności. Wyodrębnione w trakcie badań genotypy pszenicy o wysokiej odporności w stadium rośliny dorosłej mogą stanowić interesujący materiał jako źródła odporności na rdzę brunatną *P. triticina*.

Badania wymienionych wyżej odpornych genotypów będą kontynuowane. Wszystkie zostały ponownie wysiane jesienią tego roku w obu miejscowościach w formie kolekcji, celem sprawdzenia czy ich odporność będzie trwała w czasie i stabilna.

## **Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 12.**

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

**Kierownik projektu: dr inż. P. Szczówka**

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

W projekcie oceniona została wartość technologiczna ziarna pszenicy jarej i ozimej - linii, mieszańców, rodów i odmian wzorcowych charakteryzujących się wysoką stabilnością pod względem cech rolniczo-użytkowych. Przeprowadzona ocena zgodna jest z powszechnie stosowaną metodyką COBORU.

W ramach oceny wykonano oznaczenie cech określających technologię ziarna i mąki:

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

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

- wodochłonność mąki,
- czas stałości,
- liczba jakości,
- rozmiękczenie,
- energia ciasta,
- Liczba Wartości Chleba (L.W.CH) jako wskaźnik określający jakość wypieku laboratoryjnego.

Łączna ocena składała się z trzynastu cech parametrów jakościowych pszenicy.

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

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

Ilość obiektów pszenicy ozimej przeznaczonej do oceny wartości technologicznej w postaci oceny skróconej wynosiła 501, natomiast dla pszenicy jarej 80 obiektów.

Wyniki oceny badanych obiektów porównywane były do wzorców: Tonacja, Muszelka i Ozon dla pszenicy ozimej oraz Tybalt i Hewilla dla pszenicy jarej.

### Pszenica ozima:

Wśród badanych cech we wszystkich obiektach pszenicy ozimej największą średnią zmienność zaobserwowano dla cech uwzględniających właściwości reologiczne ciasta tj. czas stałości (CV=44,60%), liczba jakości (CV=37,20%), rozmiękczenie (CV=25,15%) oraz energia ciasta (CV=37,80%). Wśród cech oceny skróconej najwyższą średnią zmienność zaobserwowano dla liczby opadania (CV=29,98%) i liczby sedymentacji (CV=23,85%).

Najmniejszą średnią zmiennością charakteryzowały się: procentowa zawartość białka w suchej masie (CV=6,15%), wodochłonność (CV=4,65%), wydajność mąki (CV=3,38%) oraz objętość próbnego wypieku laboratoryjnego (CV=4,78%).

Część materiału posiadała obniżoną jakość ze względu na występujący porost, który obniżał przydatność technologiczną ziarna (niska liczba opadania). Na podstawie pełnej oceny technologicznej wytypowano 148 obiektów pszenicy ozimej charakteryzujących się cechami przydatności:

A- mąki jakościowe o bardzo dobrych cechach wypiekowych: 30.

B- mąki chlebowe o przeciętnych cechach jakościowych: 56.

C - odmiany o złych cechach jakościowych, przeznaczonych na paszę i inne cele: 62.

W bieżącym roku żaden z badanych obiektów pszenicy ozimej nie wykazał się wszystkimi cechami korzystniejszymi od wzorca Tonacja (klasa A). Warte uwagi są obiekty POB 670/08, DC 44/08-4 i POB 344/08, które pomimo niższej liczby opadania i % wymiału posiadały wszystkie badane cechy wyższe od wzorca Tonacja.

Przeprowadzona analiza korelacji badanych cech wśród obiektów pszenicy ozimej wykazała istotną, na wysokim poziomie współzależność pomiędzy procentową zawartością 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 sedymentacji 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 nieistotna.

#### Pszenica jara

Przeprowadzona analiza oceny mąki uzyskanej z obiektów pszenicy jarej wykazała, że najwyższą średnią zmiennością charakteryzowały się cechy oceny właściwości reologicznych ciasta tj. rozmiękczenie (CV=20,45%), energia ciasta (CV=27,94%), czas stałości (CV=25,10%) i liczba jakości (CV=21,19%). Najniższą średnią zmienność wśród badanych obiektów pszenicy jarej zaobserwowano w cechach: zawartość białka w suchej masie (CV=5,08%), wodochłonność mąki (CV=2,72%), objętość chleba (CV=11,17%) i wymiałość (CV=1,94%).

Przeprowadzona analiza korelacji pomiędzy badanymi cechami oceny jakościowej pszenicy jarej wykazała, że procent zawartości białka w suchej masie był istotnie skorelowany z zawartością glutenu mokrego i wodochłonnością na poziomie wysokim, oraz wymiałem, czasem stałości i liczbą jakości na poziomie niskim. Analiza korelacji liczby opadania wykazała istotną współzależność na poziomie niskim z zawartością glutenu mokrego, liczbą jakości, czasem stałości, wymiałem a także z rozmiękczeniem ciasta i wodochłonnością mąki.

Wśród właściwości reologicznych ciasta uzyskanego z mąki badanych obiektów pszenicy jarej najwyższą istotną korelację uzyskano pomiędzy rozmiękczeniem a liczbą jakości, a także czasu stałości ciasta i wymiału. Równie wysoka istotna korelacja wystąpiła pomiędzy energią ciasta, a parametrem Gluten Index, a także pomiędzy czasem stałości i liczbą jakości.

Na podstawie pełnej oceny jakościowej składającej się z 13 cech określono przydatność technologiczną mąki 38 badanych obiektów pszenicy jarej:

A- mąki jakościowe o bardzo dobrych cechach wypiekowych: 18,

B- mąki chlebowe o przeciętnych cechach jakościowych: 19,

C - odmiany o złych cechach jakościowych, przeznaczonych na paszę i inne cele: 1.

Wśród obiektów pszenicy jarej porównywanych do wzorca Hewilla szczególną uwagę zwraca KOH 7193, który charakteryzował się prawie dwukrotnie dłuższym czasem stałości ciasta i ponad dwukrotnie większą energią ciasta przy takiej samej zawartości białka w suchej masie i zbliżonymi do wzorca pozostałymi cechami oceny jakościowej.

Wyniki analiz pod względem zakresu zmienności cech nie odbiegają znacząco od wyników z lat ubiegłych. 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.

#### **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 obejmowały następujące zadania:

1. Analiza zmienności genotypowo- środowiskowej oraz genetycznego uwarunkowania ważnych cech pszenicy.

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

W 2012 roku opracowano założenia metodyczne, dokonano doboru materiału badawczego, ustalono lokalizacje doświadczeń i zakres prac badawczych z wykonawcami usług badawczych. Na podstawie tych uzgodnień wykonano rozłosoowania 128 doświadczeń z 870 obiektami pszenicy ozimej i jarej, pszenżyta ozimego i jarego, żyta ozimego, jęczmienia ozimego i jarego oraz owsa oplewionego i nagoziarnistego. Następnie 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.

Po zakończeniu prac polowych i doświadczeń laboratoryjnych na podstawie zebranych i zestawionych plonów ziarna, pomiarów, obserwacji i analiz wykonanych przez wykonawców usług badawczych przeprowadzono obliczenia statystyczne obejmujące syntezy plonów i 174 cech botanicznych, rolniczych i jakościowych.

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

Wyniki plonowania dla każdego gatunku zestawiano jako:

1. Syntezy plonu które przedstawiały:

- łączną analizę wariancji dla plonu,
- zestawienie plonów obiektów w miejscowościach i średnie (w dt/ha) uszeregowanych wg średniego plonu, średnie generalne wartości dla miejscowości i obiektów wzorcowych, współczynniki zmienności dla błędu, współczynniki zgodności plonu, ocenę poziomu istotności NIR (0,05) oraz NIRP(%),
- odchylenia plonów od średniej wartości wzorcowych odmian,
- odchylenia plonów w procentach średniej wartości wzorca.

2. Syntezy cech rolniczych obejmowały:

- wartości cechy w miejscowościach, średnie generalne i średnie obiektów wzorcowych,
- odchylenia wartości cechy od wzorca.

3. Zbiorcze plony i cechy uszeregowane malejąco wg plonu:

- wartości plonu i cech,
- opis cech.

**Omówienie uzyskanych wyników.**

Na podstawie obliczeń zestawiono średnie wartości plonów i cech dla badanych serii doświadczeń. Najwyższe średnie plony odnotowano dla mieszańców i populacji żyta ozimego (89,9 dt/ha), następnie pszenicy ozimej (87,5 dt/ha) i pszenżyta ozimego (83,9 dt/ha). Najplenniejszym obiektem okazał się ród pszenżyta ozimego DL-593/07 (plon 113,6 dt/ha), najplenniejszym spośród rodów pszenicy ozimej był ród NAD-06130(103,5 dt/ha), natomiast wśród żyta ozimego najlepiej plonował polski mieszaniec RPD-251(102,2 dt/ha). Niższe plony odnotowano dla zbóż jarych. Najplenniejszy ród owsa oplewionego DC 06011-8 osiągnął 81,2 dt/ha, przy przeciętnym plonie rodów owsa oplewionego 75,9 dt/ha, natomiast plon najplenniejszego rodu owsa nagoziarnistego STH-11-21 wyniósł 56,4 dt/ha a średni plon owsów nagoziarnistych tylko 55,5 dt/ha. Wyższe plony osiągały rody jęczmienia jarego pastewnego, średnio 75,4 dt/ha, niższe jęczmienia jarego browarnego, średnio 73,3 dt/ha. Najplenniejszy ród jęczmienia jarego pastewnego STH 91173 plonował na poziomie 83,1 dt/ha natomiast najplenniejszym rodem jęczmienia jarego browarnego okazał się POB-3415/08 - plon 77,9 dt/ha. Dużym potencjałem plonowania charakteryzowały się rody pszenicy jarej, w wypadku których średni plon wynosił 79,9 dt/ha. Najplenniejszy ród KOH-7262 osiągnął wysoki poziom plonowania wynoszący 86,8 dt/ha. Niższym poziomem plonowania charakteryzowały się rody

pszenżyta jarego, średnio 72,5 dt/ha, pomimo to najplenniejszy ród pszenżyta jarego M-33417-2 osiągnął 78,5 dt/ha.

Wykonane obserwacje, pomiary i analizy pozwoliły na obszerną charakterystykę badanych obiektów zbóż. W br ujawniła się niska mrozoodporność pszenicy ozimej (średnia ocena (w skali 1-9) 2,2 stopnia) i jęczmienia ozimego (całkowite wymarznienie). Odnotowano nasilenie chorób grzybowych: rdza brunatna: u żyta ozimego średnie porażenie w skali 1-9 wyniosło 4,1 oraz pszenicy ozimej 5,04, plamistości liści u pszenżyta ozimego 4,5. Stwierdzono wysoką podatność na wyleganie roślin owsa nagoziarnistego, średnia wartość 4,8 stopni (w skali 1-9). Wysokość łanów wahała się od niskich (78 cm u jęczmienia jarego browarnego do wysokich 140 cm u żyta ozimego). Wysoką jakością charakteryzowały się w br mieszańce i populacje żyta oraz rody pszenżyta jarego. Najplenniejszy polski mieszaniec RPD-251 charakteryzował się wysoką LO = 197s, wysokim procentem skrobi (63,8%) oraz białka (9,9%). Najplenniejszy ród pszenżyta DL-593/07 osiągnął dobry poziom LO (137,3s, tj. aż 157,7% poziomu średniego wzorca), wysoką zawartość białka (10,8%) oraz skrobi (57,7%). Szczególnie wysokimi wartościami żywieniowymi wyróżniały się rody pszenżyta jarego osiągając wysoki poziom białka, średnio 13,4% oraz skrobi - średnio 59,6%.

Przeprowadzona analiza zmienności cech wszystkich badanych gatunków ujawniła nieznacznie wyższe współczynniki zmienności plonu ziarna pszenżyta ozimego (CV=8,3%) i pszenicy ozimej (CV=8,2%), najniższą zmienność stwierdzono dla plonu ziarna owsa nagoziarnistego (CV=4,4%) i pszenicy jarej (CV=4,5%). Większą rozpiętością pod względem zmienności charakteryzowały się cechy morfologiczne i botaniczne, osiągały one wysokie wartości CV=38% dla zawartości łuski u owsa nagoziarnistego lub podatności na porastanie późniwe u pszenżyta ozimego CV=39,6% do wartości bardzo niskich CV dla terminu kłoszenia (CV od 0,8% dla rodów jęczmienia jarego browarnego do 1,5% dla rodów pszenicy ozimej i pszenżyta ozimego) oraz równie niskich wartości CV dla zawartości skrobi i masy hektolitra. Przeciętną zmiennością odznaczały się wysokość roślin, masa 1000 ziaren i masa hektolitra. Wysokim wskaźnikiem genetycznego uwarunkowania (H) odznaczały się plony badanych zbóż dla pszenżyta ozimego i jarego, żyta ozimego, jęczmienia i pszenżyta oraz pszenicy jarej, współczynniki  $H > 0,90$ ; nieznacznie niższym u owsa oplewionego,  $H=0,69$ . Wyniki te wskazują, że w kształtowaniu plonów tych gatunków istotne znaczenie miały właściwości genetyczne (uzyskane w wyniku celowo dobranych komponentów rodzicielskich, oraz selekcji potomstwa) przeważając nad kompleksem czynników środowiskowych takich jak jakość gleby, dostępność wody, poziom temperatury itp. Bardzo niskie wskaźniki (H) plonu stwierdzono dla obiektów pszenicy ozimej  $H = 0,15$ .

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

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

### Wnioski:

1. Przeprowadzona analiza zmienności ujawniła małą rozpiętość plonów u badanych zbóż z wyjątkiem pszenżyta ozimego i pszenicy ozimej. Wskazuje to na ograniczone możliwości wyboru najlepszych genotypów pod względem plonowania. W związku z tym ocena badanych obiektów powinna być kompleksowa i uwzględnić dostępne obserwacje pomiary i analizy laboratoryjne pozostałych cech.
2. Uzyskane wyniki stanowią podstawę wykonania pogłębionych analiz zmienności środowiskowo-genotypowej, zależności fenotypowo-genotypowej, oceny stabilności badanych gatunków. Wyniki będą sukcesywnie udostępnione zainteresowanym placówkom naukowym i hodowlanym oraz prezentowane na konferencjach i sympozjach naukowych w postaci referatów i plakatów oraz w formie publikacji.

Tabela średnich plonów, współczynników zmienności i wskaźników genetycznego uwarunkowania cech zbóż badanych w 2012 r.

GATUNKI	Śr. plon	max	min	CV(%)	H
Pszenica ozima	87,5	103,5	56,6	8,2	0,15
Pszenżyto ozime	83,9	113,6	21,8	8,3	0,99

Żyto ozime	89,9	102,8	81,0	5,4	0,97
Jęczmień jary pastewny	75,4	93,1	69,5	4,6	0,93
Jęczmień jary browarny	73,6	77,8	69,8	4,6	0,89
Owies jary oplewiony	75,9	81,2	65,4	5,3	0,69
Owies jary nagoziarnisty	55,5	60,0	54,5	4,5	0,92
Pszenica jara	79,9	86,8	67,8	4,5	0,96
Pszenżyto jare	72,5	78,5	67,0	5,1	0,91

**Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 18.**

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

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

**Celem badań było:**

- Poszukiwanie nowych efektywnych restorerów płodności dla CMS-Pampa, zarówno wśród genotypów żyta wyprowadzonych z populacji hodowlanych, jak i populacji miejscowych oraz określenie ich zdolności przywracania płodności u mieszańców F<sub>1</sub> w różnych warunkach środowiska.
- Poznanie genetycznego uwarunkowania cechy przywracania płodności u wybranych różnicowanych pochodzeniem restorerów.

**Materiał badawczy:**

- Linie wsobne wyprowadzone z populacji hodowlanych – odmian i rodów,
- Linie wsobne wyprowadzone z miejscowych populacji tureckich,
- Linie męskosterylne z cytoplazmą Pampa (linie P),
- Męskosterylne mieszańce pojedyncze (CMS-testery), w tym CMS-tester uznany za trudnego do przywrócenia płodności (CMS-Tt),
- Komponenty ojcowskie o różnej zdolności przywracania płodności,
- Mieszańce testowe wytworzone poprzez krzyżowanie CMS-testera z liniami wsobnymi różnego pochodzenia i z populacjami ojcowskimi,
- Potomstwa pokolenia F<sub>3</sub> mieszańców pochodzących z krzyżowania linii 343P (trudna do przywrócenia płodności) z dwoma pełnymi restorerami wyprowadzonymi z udziałem tureckich populacji.

**Metodyka prac:**

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

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

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

Stopień sterylności/płodności pojedynczych roślin mieszańców testowych oraz mieszańców pokolenia F<sub>2</sub> i F<sub>3</sub> oceniano poprzez wizualną bonitację 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 indeks restoracji według wzoru:  $IR = \% mf + 1/2 \% pmf$ .

Zastosowano test  $\chi^2$  do sprawdzenia zgodności obserwowanych segregacji roślin w pokoleniach  $F_2$  i  $F_3$  pod względem sterility/płodności z wartościami oczekiwanymi dla zakładanych modeli dziedziczenia.

#### **Omówienie wyników:**

Badano zdolność przywracania płodności różnych genotypów żyta poprzez krzyżowanie ich z męskosterylnym testerem trudnym do przywrócenia płodności (CMS-Tt) i ocenę płodności mieszańców testowych na poletkach obserwacyjnych. Badaniami objęto 355 linii wsobnych pokolenia  $S_2$  pochodzących z dwóch grup populacji hodowlanych oraz 18 komponentów ojcowskich mieszańców eksperymentalnych. W 2012 roku stwierdzono znacznie wyższą frekwencję pełnych restorerów płodności w tej grupie genotypów w porównaniu z latami poprzednimi. Spośród 355 testowanych linii wsobnych 16,2% charakteryzowało się pełną zdolnością restoracji. Takie linie stanowiły tylko 3,2% w 2011 roku i 2,1% w 2010 roku. Przeważająca większość testowanych linii wykazała częściową zdolność przywracania płodności. Wykazano, że znaczny postęp w hodowli efektywnych restorerów można uzyskać w wyniku zastosowania krzyżowania młodych linii wsobnych z CMS-testerem trudnym do przywrócenia płodności (CMS-Tt). Porównano męską płodność mieszańców eksperymentalnych uzyskanych z udziałem dwóch grup komponentów ojcowskich – utworzonych z nietestowanych linii (grupa 1) oraz linii wybranych w oparciu o indeks restoracji ich mieszańców testowych (grupa 2). Większość komponentów ojcowskich pierwszej grupy tylko w niewielkim stopniu przywróciła płodność mieszańców eksperymentalnych. Natomiast wszystkie komponenty ojcowskie drugiej grupy prawie całkowicie lub całkowicie przywróciły płodność mieszańców z CMS-Tt. Przeprowadzono ponowną ocenę wartości użytkowej linii wsobnych będących pełnymi restorerami, wyprowadzonych z udziałem populacji tureckich. Oceniano takie cechy użytkowe jak: wschody, przezimowanie, termin kłoszenia, stopień pylenia, wysokość roślin, uziarnienie kłosa, porażenie chorobami (mączniak, rdza brunatna), wyrównanie i wyleganie. Wybrano 4 pełne restorery płodności charakteryzujące się zadawalającym poziomem cech użytkowych.

W roku sprawozdawczym skoncentrowano się na określeniu sposobu dziedziczenia się cechy przywracania męskiej płodności u dwóch pełnych restorerów (LTR 2 i LTR 28), wybranych spośród genotypów wytworzonych z udziałem populacji tureckich. W tunelach foliowych i w polu przeprowadzono wizualną bonitację pylników łącznie 9181 roślin z 359 potomstw pokolenia  $F_3$ . Analizowane potomstwa  $F_3$  uzyskano poprzez samozapylenie całkowicie płodnych roślin mieszańców  $F_2$  pochodzących z krzyżowania tych restorerów z linią męskosterylną trudną do przywrócenia płodności (343P). W większości pokoleń  $F_2$  mieszańców, uzyskanych poprzez krzyżowanie linii męskosterylnej 343P z liniami restorerami pochodzącymi z populacji tureckich, obserwowano rozszczepienie na rośliny męskopłodne i męskosterylne w proporcji 3:1. W dwóch tylko pokoleniach  $F_2$  spośród 15 wykazano statystycznie istotne odchylenie od przewidywanego dla hipotezy o monogenicznym uwarunkowaniu przywracania płodności. Wszystkie analizowane potomstwa  $F_3$  wywodzą się z potomstw  $F_2$ , w których stwierdzono zadawalającą zgodność obserwowanych stosunków rozszczepień z teoretyczną proporcją 3:1. W większości potomstw  $F_3$  obserwowano pełen zakres zmienności pod względem fenotypów męskiej płodności/sterility (potomstwa segregujące). Jednak niektóre potomstwa składały się tylko z roślin męskopłodnych. Stwierdzono, że w pokoleniu  $F_3$  mieszańców uzyskanych poprzez krzyżowanie linii 343P z LTR 28 rozszczepienie na potomstwa męskopłodne i segregujące jest zgodne z teoretycznie oczekiwanym dla monogenicznego dziedziczenia. Natomiast w większości przypadków w pokoleniu  $F_3$  mieszańców uzyskanych poprzez krzyżowanie linii 343P z LTR 2 rozszczepienie na potomstwa męskopłodne i segregujące wykazało statystycznie istotne odchylenie od wartości oczekiwanych dla hipotezy o monogenicznym uwarunkowaniu cechy. Obserwowane rozszczepienie także nie było zgodne z oczekiwanym dla hipotezy o dwugenowej kontroli cechy. Wyjaśnienie tego problemu wymaga dalszych badań.

#### **Wnioski:**

1. Stwierdzono znacznie wyższą niż w poprzednich latach frekwencję pełnych restorerów płodności wśród linii wsobnych wyprowadzonych z populacji hodowlanych, co umożliwiło identyfikację nowych efektywnych restorerów.
2. Spośród linii wyprowadzonych z udziałem populacji tureckich wybrano cztery pełne restorery płodności charakteryzujące się zadawalającym poziomem cech użytkowych.



3. Wyniki badań wskazują na prostszy sposób dziedziczenia przywracania płodności u linii wyprowadzonych z udziałem populacji tureckich niż u linii restorerów pochodzących z polskich populacji hodowlanych. Wydaje się, że zdolność przywracania płodności linii LTR 28 jest uwarunkowana monogenicznie. Natomiast dziedziczenie tej cechy u linii LTR 2 jest bardziej skomplikowane niż wskazywały wcześniejsze badania.
4. Niektóre pełne restorery pochodzące z obu grup populacji mogą być wykorzystane w badaniach genetycznych oraz jako donory genów przywracających płodność w dalszych pracach nad ulepszeniem tej cechy.

**Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 19.**

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

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

**Celem badań było:**

Poznanie ogólnej i swoistej zdolności kombinacyjnej różnych genotypów żyta dla ważnych cech użytkowych w zróżnicowanych warunkach środowiska.

**Materiał badawczy:**

- mieszańce eksperymentalne pokolenia F<sub>1</sub> pochodzące z krzyżowania w układzie czynnikowym zróżnicowanych męskosterylnych komponentów matecznych z kilkoma różnymi populacjami ojcowskimi,
- mieszańce eksperymentalne pokolenia F<sub>1</sub> uzyskane w wyniku krzyżowania zróżnicowanych komponentów ojcowskich z męskosterylnymi mieszańcami pojedynczymi jako testerami,
- komponenty mateczne: męskosterylne mieszańce pojedyncze (CMS-SC) wytworzone w wyniku krzyżowania linii męskosterylnych z cytoplazmą Pampa (linie P) z liniami dopełniającymi sterylność (linie N),
- komponenty ojcowskie: linie wsobne i populacje żyta.

**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 szklarni, tunelach foliowych oraz na polach przestrzennie izolowanych.

Przeprowadzono cztery doświadczenia polowe w trzech zróżnicowanych warunkach środowiska. Doświadczenia założono metodą bloków niekompletnych w trzech powtórzeniach, powierzchnia poletek - 5 m<sup>2</sup>, gęstość siewu - 250 lub 300 kielkujących ziaren na 1m<sup>2</sup>. Oceniono następujące cechy użytkowe: plon ziarna (dt/ha), wysokość roślin (cm), termin kłoszenia (liczba dni od 1.05), intensywność pylenia (skala 1-9<sup>o</sup>), porażenie mączniakiem prawdziwym, porażenie rdzą brunatną (skala 1-9<sup>o</sup>), wylęganie (skala 1-9<sup>o</sup>), masa 1000 ziaren (g). Przeprowadzono analizy i syntezy genetyczno-statystyczne doświadczeń obejmujące analizę zmienności, analizę zdolności kombinacyjnej, oszacowanie wartości i istotności efektów ogólnej (GCA) i swoistej zdolności kombinacyjnej (SCA) oraz określenie ich interakcji ze środowiskiem.

**Omówienie wyników:**

W sezonie 2011/2012 prowadzono badania głównie nad poznaniem ogólnej (GCA) i swoistej zdolności kombinacyjnej (SCA) specjalnie wytworzonych komponentów matecznych oraz wybranych komponentów ojcowskich. Badaniami objęto ogółem 115 mieszańców eksperymentalnych pokolenia F<sub>1</sub>, pochodzących z krzyżowania 23 komponentów matecznych (CMS-SC) z 5 populacjami ojcowskimi, w trzech doświadczeniach polowych zlokalizowanych w trzech miejscowościach. Analiza statystyczna doświadczenia D01\_12 wykazała istotną zmienność mieszańców pod względem wszystkich cech użytkowych we wszystkich miejscowościach. Mieszańce doświadczenia D02\_12 różniły się istotnie pod względem wszystkich cech z wyjątkiem plonu ziarna i wysokości roślin w Wierzenicy. W tej miejscowości stwierdzono także brak istotnej zmienności pod względem plonu

wśród mieszańców doświadczenia D03\_12. Zmienność ogólnej zdolności kombinacyjnej (GCA), zarówno wśród komponentów matecznych jak i komponentów ojcowskich była istotna dla większości cech użytkowych w większości przeprowadzonych doświadczeń. Zmienność swoistej zdolności kombinacyjnej (SCA) najczęściej była istotna wśród par rodzicielskich ocenianych w doświadczeniu D03\_12. W większości miejscowości tego doświadczenia stwierdzono istotną zmienność SCA dla wczesności kłoszenia, porażenia rdzą brunatną i masy 1000 ziaren. Zmienność SCA mieszańców dla wczesności kłoszenia okazała się także istotna w większości miejscowości doświadczeń D02\_12 i D01\_12. Zmienność SCA par rodzicielskich dla plonu ziarna, wysokości roślin była istotna tylko w jednej miejscowości jednego z doświadczeń.

Przeprowadzono analizę zdolności kombinacyjnej oraz szczegółowe oszacowanie wartości i istotności efektów ogólnej zdolności kombinacyjnej (GCA) 23 komponentów matecznych i pięciu komponentów ojcowskich oraz swoistej zdolności kombinacyjnej (SCA) 115 par rodzicielskich. W doświadczeniu D01\_12 założonym w miejscowościach: Choryń, Nagradowice i Radzików określono zdolność kombinacyjną ośmiu komponentów matecznych pochodzących z różnych puli genowych oraz pięciu populacji ojcowskich. Spośród komponentów matecznych na uwagę zasługuje WSIN 33, który charakteryzuje się dobrą zdolnością kombinacyjną plonu ziarna i odpornością na mączniaka. Warto podkreślić, że WSIN 33 wykazał istotne dodatnie, zarówno średnie efekty GCA, jak i efekty GCA w poszczególnych miejscowościach dla plonu ziarna i odporności na mączniaka. Pozostałe cechy jego półrodzeństwa były zbliżone (różnice nieistotne) do średniej ogólnej kombinacji w wykonanym układzie krzyżowania. Istotne interakcje efektów GCA matek ze środowiskiem stwierdzono głównie dla wczesności kłoszenia, ale także dla pozostałych cech z wyjątkiem masy 1000 ziaren. Zdolność kombinacyjną kolejnej grupy ośmiu komponentów matecznych poprzez krzyżowanie z pięcioma populacjami ojcowskimi, oceniano w doświadczeniu D02\_12 założonym w miejscowościach: Laski, Radzików i Wierzenica. Średnie efekty GCA wskazują, że komponenty mateczne miały zbliżoną zdolność kombinacyjną pod względem plonu, wysokości roślin, odporności na rdzę brunatną i wyleganie. Żaden komponent mateczny nie miał średniego dodatniego efektu GCA dla plonu istotnie różnego od zera. U niektórych komponentów matecznych wykazano istotne dodatnie efekty GCA tylko dla pojedynczych cech użytkowych. Jednocześnie stwierdzono istotne interakcje efektów GCA matek ze środowiskiem, szczególnie dla plonu ziarna, kłoszenia oraz odporności na rdzę brunatną i wylegania. Jednak analiza wyników doświadczeń przeprowadzonych w Laskach i w Radzikowie umożliwiła wskazanie dalszych wartościowych komponentów matecznych – LSIN 40 i WCSIN 306. Zdolność kombinacyjną siedmiu komponentów matecznych określono w doświadczeniu D03\_12 założonym w miejscowościach: Radzików, Sobiejuchy i Wierzenica. Średnie efekty GCA tej grupy komponentów matecznych były nieistotnie różne od zera dla plonu ziarna i porażenia rdzą brunatną. Jednocześnie stwierdzono istotne interakcje GCA większości komponentów matecznych ze środowiskiem, szczególnie dla plonu ziarna i porażenia rdzą brunatną. Istotnej interakcji GCA matek ze środowiskiem nie wykazano tylko dla pylenia i porażenia mączniakiem. Tylko nieliczne średnie efekty GCA tych komponentów okazały się istotnie różne od zera. Wyniki doświadczeń przeprowadzonych w Radzikowie i w Sobiejuchach umożliwiły wskazanie wartościowych komponentów matecznych. W Radzikowie wyróżniły się dwa komponenty – NSIN 0909 i SIN 41, które przekazały potomstwu wysoką zdolność plonowania. Pierwszy z nich dodatkowo wpłynął istotnie na polepszenie takich cech jak: wczesność kłoszenia, intensywność pylenia, odporność na rdzę brunatną i masa 1000 ziaren. Natomiast w Sobiejuchach dobrą zdolnością kombinacyjną plonu ziarna wyróżniły się inne dwa komponenty – SIN 42 i SIN 43. Pierwszy z nich łączył istotne korzystne efekty GCA dla wysokości roślin i odporności na wyleganie z istotnym ujemnym efektem GCA dla masy 1000 ziaren. We wszystkich trzech doświadczeniach wykazano istotną zmienność GCA komponentów ojcowskich pod względem większości cech użytkowych. Spośród komponentów ojcowskich wyróżnił się SR 13 o dobrej zdolności kombinacyjnej plonu ziarna i odporności na rdzę brunatną. Pozostałe cechy jego półrodzeństwa były zbliżone (różnice nieistotne) do średniej ogólnej kombinacji w wykonanym układzie krzyżowania. Komponent 24 R wpłynął na zwiększenie intensywności pylenia swojego półrodzeństwa we wszystkich doświadczeniach. Jednak przeprowadzone badania nie pozwoliły na jednoznaczne określenie jego zdolności kombinacyjnej pod względem plonu. Efekty GCA dla tej cechy wahały się od istotnych dodatnich (D02\_12) poprzez nieistotne (D03\_12) do istotnych ujemnych (D01\_12).

W roku sprawozdawczym prowadzono także badanie zdolności kombinacyjnej wybranych populacji ojcowskich poprzez krzyżowanie ich z 4 męskosterylnymi mieszańcami (CMS-SC) jako testerami (D04\_12). Obliczenia statystyczne wyników wykazały istotną zmienność mieszańców pod względem wszystkich cech użytkowych. Wybrane do badań CMS-SC (testery) okazały się zróżnicowane genetycznie pod względem wszystkich cech użytkowych i były przydatne do testowania wartości komponentów ojcowskich. Stwierdzono także istotną zmienność GCA komponentów ojcowskich dla wszystkich cech z wyjątkiem kłoszenia i masy 1000 ziaren. Zmienność SCA par rodzicielskich okazała się istotna tylko w doświadczeniu przeprowadzonym w Radzikowie dla następujących cech: wczesność kłoszenia, intensywność pylenia, porażenie mączniakiem i rdzą brunatną. Spośród komponentów matecznych zdolnością tworzenia wysokoplennych, odpornych na mączniaka mieszańców wyróżnił się T2. Stwierdzono także istotne zróżnicowanie komponentów ojcowskich pod względem większości cech z wyjątkiem wczesności kłoszenia i masy 1000 ziaren w Smolicach. Spośród komponentów ojcowskich na uwagę zasługuje TR 1435 o dobrej zdolności kombinacyjnej plonu i innych cech użytkowych.

#### **Wnioski:**

1. Mieszańce eksperymentalne pokolenia  $F_1$  wykazały istotne zróżnicowanie pod względem wszystkich cech użytkowych w większości przeprowadzonych doświadczeń.
2. Zmienność GCA odgrywała główną rolę w zmienności genetycznej wszystkich cech użytkowych mieszańców żyta.
3. Istotna zmienność swoistej zdolności kombinacyjnej dla wczesności kłoszenia wystąpiła w większości doświadczeń, a dla pozostałych cech tylko w pojedynczych doświadczeniach.
4. Oszacowanie efektów GCA komponentów matecznych i ojcowskich oraz ich interakcji ze środowiskiem umożliwiło poznanie ich wpływu na wartość cech użytkowych tworzonych z ich udziałem kombinacji mieszańcowych.
5. Wskazano wartościowe genotypy łączące korzystne efekty GCA kilku cech oraz ich kombinacje rodzicielskie wyróżniające się swoistą zdolnością kombinacyjną.

#### **Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 23.**

**Tytuł projektu: Badania nad optymalizacją otrzymywania podwojonych haploidów żyta.**

**Kierownik projektu: prof. dr hab. J. Zimny**

Celem prac prowadzonych w roku 2012 było zbadanie reakcji androgenicznej 18 linii żyta przygotowanych przy wykorzystaniu różnych komponentów rodzicielskich. Uzyskiwane tą metodą linie homozygotyczne mogą być wykorzystywane w procedurze hodowlanej ze względu na ich stabilność wewnątrz linii, a jednocześnie ich różnorodność.

#### **Materiały i metody:**

W wyniku przeprowadzenia ukierunkowanych krzyżowań, wyselekcjonowano 18 mieszańców żyta, które posłużyły do założenia doświadczeń nad indukcją androgenezy w kulturze pylników.

Rośliny uprawiano w kontrolowanych warunkach, w fitotronie lub na polu. Kłosa do badań pobierano w określonym stadium rozwojowym mikrospor tj. stadium późnej mikrospory. Oznaczenia fazy rozwojowej mikrospor dokonywano na podstawie cytologicznych obserwacji mikroskopowych. Zdefiniowane kłosa pobierano wraz z odcinkiem ok. 20 cm pędu. W celu zaindukowania mikrospor na rozwój androgeniczny zastosowano szok termiczny. Kłosa przebywały w chłodni w temperaturze 4°C przez okres 21 dni. Po tym okresie kłosa sterylizowano w 70% alkoholu etylowym i 10% podchlorynie sodu. Z tak przygotowanych kłosów pobierano pylniki, które układano na zestalonej pożywce indukującej. Szalki z pylnikami inkubowano w ciemności w temperaturze 26°C przez około 4 miesiące. Pojawiające się kulusy i struktury zarodkopodobne o średnicy przekraczającej 1-2 mm przenoszono na pożywkę regeneracyjną wg. Pauk i in. 1991. Zielone rośliny przenoszono do kolb Erlenmayera z pożywką ukorzeniającą (pożywka regeneracyjna wzbogacona 2 mg/l IAA), w celu wykształcenia systemu korzeniowego. Regeneranty przesadzono do płat z glebą i poddawano

aklimatyzacji w fitotronie. Po około 2 tygodniach rośliny jarowizowano w chłodni w temperaturze 4°C.

**Wyniki:**

Z poszczególnych genotypów wyłożono od 3500 do 7500 pylników. W sumie wyizolowano 83 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 14 z 18 badanych genotypów. Szczególnie intensywnie kalusowały pylniki dwóch linii.

Przebieg eksperymentu oraz uzyskane dane liczbowe pozwalają stwierdzić, że poszczególne linie wykazują silne zróżnicowanie pod względem androgenicznej reakcji w kulturach tkankowych. U dziesięciu linii udało się zregenerować rośliny. Trzy linie wykazały wysoką jak na żyto efektywność regeneracji. Na uwagę zasługuje fakt, że liczba albinosów, jak też liczba zregenerowanych zielonych roślin jest prawdopodobnie związana z tłem genetycznym. Liczba zregenerowanych zielonych roślin w przeliczeniu na kłos wahała się od 0,1 do 23,4 w zależności od kombinacji krzyżówkowej. W wyniku przeprowadzonych badań zregenerowano 807 zielonych roślin przy czym 468 z jednej najwydajniejszej linii. Zaobserwowano duże zróżnicowanie pod względem liczby roślin albinotycznych. Procent roślin zielonych wahał się od 3 do 87%. Ogólnie udział albinosów był niski i wyniósł 35 % liczby regenerantów.

Obecnie zregenerowane rośliny są uprawiane. U roślin, które przejdą okres adaptacji, zbadany zostanie poziom ploidalności. Haploidalne będą poddane zabiegowi kolchicynowania, po czym wszystkie zostaną przeniesione do wiader i umieszczone w szklarni gdzie będą rosły do dojrzałości. Przeprowadzone eksperymenty wskazują na wysoki potencjał androgeniczny niektórych genotypów. W roku sprawozdawczym prowadzono też uprawę regenerantów z roku poprzedniego. Zebrano nasiona, które zostały wysiane, a rośliny poddane będą dalszej analizie.

**Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 25.**

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

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

Zjawisko cytoplazmatycznej męskiej sterility pyłku u żyta ozimego z cytoplazmą pampa jest wykorzystywane w hodowli heterozyjnej gatunku w Polsce oraz innych krajach Europy Środkowej. Sterylizujące działanie cytoplazmy jest najprawdopodobniej wynikiem niezgodności pomiędzy cytoplazmą a genomem jądrowym. Do przywrócenia płodności pyłku konieczne są liczne geny jądrowe o różnej sile działania. Geny te zostały zlokalizowane na prawie wszystkich chromosomach żyta. Uważa się jednak, że gen występujący na chromosomie 4R jest genem najsilniejszym. Stąd też od szeregu lat prowadzone są badania, których celem jest identyfikacja markerów molekularnych, które umożliwiłyby wyodrębnienie form o pożądanym genomie.

Zakres prac realizowanych w danym roku.

- Weryfikacja użyteczności markera specyficznego opracowanego w oparciu o markery DArT i lokalizującego się na chromosomie 4R do selekcji form ojcowskich w hodowli heterozyjnej z CMS pampa.
- Weryfikacja częstości występowania markera specyficznego (4R) w obrębie form dopełniających do linii matecznych z CMS pampa.
- Identyfikacja dodatkowych markerów DArT sprzężonych z w/w markerem. Markery zostały wytypowane na bazie mapy konsensusowej żyta i przetestowane na liniach wsobnych żyta wyprowadzonych z populacji biparentalnych.
- Wytypowanie sond DArT do szybkiej selekcji form roślinnych zawierających gen przywracania płodności pyłku na chromosomie 4R w obrębie form wsobnych żyta ozimego.
- Prowadzenie linii wsobnych żyta ozimego metodą pojedynczych ziarniaków celem uzyskania linii rekombinacyjnych.

- Wykonanie krzyżowań linii wsobnych żyta ozimego prowadzonych na cytoplazmie normalnej z linią męskosterylną celem potwierdzenia obecności genów przywracania płodności pyłku w prowadzonych materiałach roślinnych.

Bazując na wynikach badań, które umożliwiły opracowanie konsensusowej mapy genetycznej żyta ozimego, identyfikowanych markerach sprzężonych oraz asocjowanych z genami przywracania płodności pyłku u żyta ozimego z cms pampa, opracowano macierz DArT do testów przesiewowych. Macierz została przetestowana na liniach F<sub>4</sub> (populacje RIL). Populacje te zostały przebadane również markerami specyficznymi ukierunkowanymi na geny na chromosomach 1R, 4R i 7R. Segregacje markerów DArT z macierzy opracowanej dla testu przesiewowego oraz markerów specyficznych były praktycznie identyczne. Obliczono prawdopodobieństwa wystąpienia płodnego fenotypu wśród linii F<sub>4</sub>. Na podstawie danych testu przesiewowego DArT oraz markerów specyficznych dla linii F<sub>4</sub> dwóch populacji RIL wytypowano formy płodne oraz sterylne. Potwierdzenie poprawności wnioskowania na bazie markerów molekularnych będzie możliwe po uzyskaniu wyników określenia pylenia tych form (w 2013r).

W ramach badań polowych kontynuowane jest wyprowadzanie populacji mapujących (RIL). W nadchodzącym roku metodą pojedynczych ziarniaków będą wyprowadzane pokolenia F<sub>5</sub> i F<sub>6</sub>.

#### **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 *P. triticina*, rdzę żółtą *P. striiformis* i mączniaka *B. graminis* spośród perspektywicznych genotypów pszenżyta ozimego.

Przedmiotem badań były rody pszenżyta ozimego o normalnej długości z doświadczeń wstępnych z wzorcami wrażliwości – 50 obiektów. W badaniach wzięło udział także 105 genotypów pochodzących z 3-ch różnych rejonów uprawy pszenżyta. Ponadto do badań włączono 13 form pszenżyta, które w poprzednim okresie badań charakteryzowały się wysoką odpornością na rdzę brunatną i mączniaka w miejscowościach, gdzie prowadzono ocenę zdrowotności. Ogółem w roku sprawozdawczym przebadano 168 genotypów pszenżyta ozimego.

Jesienią 2011 roku w Grodkowicach i w Krzeczowicach wysiano materiał badawczy w jednym powtórzeniu wraz z wzorcami po 2 rządki.

Odporność genotypów pszenżyta na obydwie gatunki rdzy i mączniaka badano w stadium siewki i w stadium rośliny dorosłej w polu w warunkach sztucznej inokulacji i w warunkach naturalnej infekcji. W szklarni siewki zakażano mieszaniną izolatów *P. triticina* i *B. graminis* pochodzących z pszenicy i pszenżyta oraz populacją *P. striiformis* z pszenżyta. Przeprowadzono w Grodkowicach w polu sztuczną inokulację rdzą brunatną i rdzą żółtą roślin poszczególnych genotypów pszenżyta. Ocenę porażenia form przeprowadzono 3-krotnie w odstępach 2-tygodniowych w oparciu o powszechnie stosowaną wizualną skalę 9-cio stopniową.

Uzyskane stopnie porażenia wg skali 9-cio stopniowej przekształcono na wartości powierzchni porażenia, następnie wyliczono poziom odporności polowej poszczególnych form, określając wielkość powierzchni pod krzywą rozwoju choroby (AUDPC). Dla określenia zróżnicowania pomiędzy genotypami obliczono współczynnik zmienności CV %.

Wyniki oceny 50 genotypów pszenżyta ozimego z doświadczeń wstępnych pod względem odporności w stadium siewki na populację izolatów *P. triticina* pochodzącą z pszenżyta wskazują na znaczną wrażliwość badanych genotypów na tego patogena. Spośród badanych form tylko 15 odznaczało się odpornością. Natomiast na populację *P. triticina* pochodzącą z pszenicy odporność notowano u prawie wszystkich form z wyjątkiem 4-ch. Odpornością na obydwie populacje patogena charakteryzowało się 14 genotypów. Podobne rezultaty uzyskano w przypadku oceny odporności na populację *B. graminis* występujące na pszenżycie i pszenicy. Na populację z pszenżyta odporność wykazało 10 form, wrażliwość notowano u 40. Odpornością na populację pochodzącą z pszenicy charakteryzowały się

32 genotypy. Z liczby 50 rodów, odporność na obydwie populacje wykazało 8 form. Odporność w fazie siewek na populację rdzy żółtej *P. striiformis* notowano u 35 genotypów.

Wyniki oceny 105 genotypów pszenżyta pochodzących z 3-ch rejonów uprawy świadczą o dużej wrażliwości badanych form w stadium siewek na populacje *P. triticina* i *B. graminis* pochodzące z pszenżyta (90 i 88 odpowiednio). Natomiast u większości spośród 105 badanych genotypów stwierdzono odporność na wymienione populacje grzybów pochodzące z pszenicy – 93 formy odporne na rdzę brunatną i 70 na mączniaka. Odporność na populację *P. striiformis* pochodzące z pszenżyta notowano u 70 form.

Sprzyjające warunki dla rozwoju grzyba, a także zastosowany zabieg inokulacji w Grodkowicach przyczyniły się do wystąpienia rdzy brunatnej w znacznym nasileniu już w połowie czerwca. Obserwowano zróżnicowaną reakcję genotypów pszenżyta na porażenie, zakres porażenia wynosił 4–9 w skali 9-stopniowej. Wartość współczynnika zmienności kształtowała się w granicach 21,2 - 25,8%. Spośród 50 rodów pszenżyta, 12 charakteryzowało się wysokim poziomem odporności: 9-7, średnią odporność na porażenie: 6-5 stopni notowano u 33 form. W Krzczowicach w warunkach naturalnej infekcji notowano słabe nasilenie choroby, pierwsze objawy rdzy brunatnej obserwowano dopiero pod koniec czerwca, zakres porażenia 6–9, przy CV równym 12,6%. Wysokim poziomem odporności odznaczało się 46 genotypów. Odmiany wzorce uległy średniemu porażeniu (porażenie w stopniu 4) z wyjątkiem wzorca wrażliwości odmiany Marko w Grodkowicach.

W roku sprawozdawczym rdza żółta na pszenżycie wystąpiła w bardzo słabym nasileniu w Grodkowicach, mimo zastosowanej sztucznej inokulacji tylko u 2-ch form notowano średnie porażenie w stopniu 5, jedynie odmiana Marko wzorzec wrażliwości uległa większemu porażeniu, w stopniu 4. W Krzczowicach nie zaobserwowano na roślinach wszystkich badanych genotypów objawów rdzy żółtej.

Mączniak w Grodkowicach wystąpił w słabym nasileniu, zakres porażenia 6–9, w grupie badanych 50 genotypów wysoką odpornością charakteryzowało się 40 form. Nieco większe porażenie przy zakresie 5–9, notowano w Krzczowicach, wartość współczynnika zmienności wynosiła 22,9%. Odporność w skali 9-7 stwierdzono u 21 genotypów. Odmiana Lamberto - wzorzec wrażliwości uległa znacznemu porażeniu, w stopniu 3 i 4.

Spośród 105 form pszenżyta ozimego z 3-ch rejonów uprawy, w Grodkowicach w warunkach sztucznej inokulacji odpornością na rdzę brunatną charakteryzowały się 33 genotypy, 9 zaliczono do wysoce wrażliwych. W Krzczowicach, w warunkach naturalnej infekcji, aż 92 formy okazały się wysoce odporne, natomiast nie zanotowano genotypów wrażliwych. W tej grupie badanych form nie stwierdzono w Grodkowicach zróżnicowanej reakcji na porażenie mączniakiem - 75 odznaczało się wysoką odpornością, nie obserwowano form wrażliwych. Natomiast w Krzczowicach, gdzie notowano większe nasilenie choroby, odporność w skali 9-7 stwierdzono u 33 genotypów, przeważająca większość charakteryzowała się średnią odpornością. Warto zaznaczyć, że wśród 105 badanych form z 3-ch rejonów uprawy, 11 odznaczało się odpornością na rdzę brunatną, 12 na mączniaka zarówno w stadium siewek jak i w warunkach polowych.

Badania odporności na rdzę brunatną genotypów pszenżyta z doświadczeń wstępnych pozwoliły na wyodrębnienie 25 form odpornych w stadium rośliny dorosłej, wśród nich 9 wykazało odporność również w stadium siewek, u 3-ch notowano znaczną odporność również w badaniach prowadzonych w 2011 roku. Odpornością połową na mączniaka odznaczały się 24 rody, w tym 7 łączyło odporność w obu stadiach rozwojowych, zaś 3 odznaczały się odpornością również w ubiegłym roku badań. Włączone do badań 13 genotypów pszenżyta, charakteryzujących się odpornością w 2-ch poprzednich latach, również w bieżącym roku odznaczało się wysokim poziomem odporności polowej na rdzę brunatną i mączniaka.

Przeprowadzone badania genotypów pszenżyta pod względem odporności na rdzę brunatną i mączniaka w stadium siewek i w stadium rośliny dorosłej pozwoliły na wytypowanie w roku sprawozdawczym form o wysokim poziomie odporności. Szczególne znaczenie mają genotypy łączące odporność w obu stadiach rozwojowych, jak również łączące odporność zarówno na rdzę jak i na mączniaka. Badania wymienionych wyżej form odpornych będą dalej kontynuowane. Wszystkie formy odporne zostały jesienią tego roku ponownie wysiane w obu miejscowościach w formie kolekcji, celem sprawdzenia czy ich odporność będzie trwała w czasie i stabilna.

**Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 29.**

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

**Kierownik projektu: prof. dr hab. E. Arseniuk**

Zakres zrealizowanych prac badawczych:

Prace laboratoryjne mające na celu wytworzenie linii podwojonych haploidów (DH) prowadzone były w Pracowni Hodowli Odpornościowej IHAR PIB Radzików. Materiałem wyjściowym były mieszańce F<sub>1</sub>. W roku sprawozdawczym 2012 w Pracowni pracowano z liniami mieszańcowymi przekazanymi w latach:

- 26 linii mieszańców pszenżyta z 2010 r.
- 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. Proces wykładania pylników został już zakończony, natomiast w dalszym ciągu trwa regeneracja roślin, ukorzenie, jarowizacja i sadzenie otrzymanych regeneratów.

Uzyskanie nasion DH z mieszańców otrzymanych w roku 2012 oraz założenie doświadczenia testującego odporność linii DH na porażenie przez *S. nodorum* planowane jest na jesień 2013 roku.

Doświadczenia polowe – atestacja odporności na *S. nodorum*:

- 54 rody pszenżyta do doświadczeń wstępnych,
- 69 linii DH pszenżyta pokolenia R<sub>3</sub> – kontynuacja doświadczenia polowego (3 rok doświadczeń),
- 48 linii DH pszenżyta pokolenia R<sub>2</sub> – kontynuacja doświadczenia polowego (2 rok doświadczeń),
- 25 linii DH pszenżyta pokolenia R<sub>1</sub> – kontynuacja doświadczenia polowego (1 rok doświadczeń),
- 70 linii DH pszenżyta pokolenia R<sub>0</sub> wysiewane ręcznie.

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.

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 143 do 149 dni, badane rośliny charakteryzowały się wysokością od 88 cm do 131,0 cm, zakres reakcji na porażenie linii DH pszenżyta ozimego przez *S. nodorum* dla liści oscylował w granicach od 4,4 (skala 1-9) do 6,6, natomiast dla plew kłosów od 4,5 do 6,5.

Wyniki fenotypowej analizy odporności linii DH pszenżyta:

Zakres terminów kłoszenia roślin poszczególnych linii mieścił się w przedziale od 142 do 150 dni, badane rośliny charakteryzowały się wysokością od 61 cm do 145,0 cm, zakres reakcji na porażenie

linii DH pszenżyta ozimego przez *S. nodorum* dla liści oscylował w granicach od 4,3 (skala 1-9) do 6,8, natomiast dla plew kłosów od 4,5 do 6,6.

#### Wnioski:

- 1) Wśród wyprowadzonych linii DH zidentyfikowano dużą liczbę linii posiadających odporność liści lepszą lub porównywalną z większością odmian pszenżyta ozimego. Trzy linie okazały się być minimalnie mniej odporne niż odmiana wzorcowa Borwo, natomiast jedna linia DH R0 wykazała się odpornością większą niż Borwo.
- 2) Podobnie w przypadku odporności plew wśród przebadanych linii DH znajdują się obiekty o odporności większej niż odmiany wzorcowe.
- 3) Wśród wyprowadzonych linii DH znajduje się duży zbiór obiektów o skróconym źdźble przewyższających pod tym względem obiekty doświadczenia wstępnego oraz odmiany pszenżyta.
- 4) Wprowadzenie techniki podwojonych haploidów zwiększa zmienność genetyczną, a tym samym zwiększa szanse uzyskania linii o wyższej odporności na *S. nodorum* w porównaniu z hodowlą prowadzoną tradycyjnymi metodami.

#### Obserwacje wykonane w ramach obcych usług badawczych:

Ocenę obiektów pszenżyta ozimego pod względem odporności na *S. nodorum* wykonano w 4 punktach doświadczalnych zgodnie z wyżej opisanymi procedurami. Żaden z rodów w doświadczeniach wstępnych nie charakteryzował się odporniejszymi liśćmi niż wzorzec Borwo, natomiast 3 rody charakteryzowały się większą odpornością kłosów niż odmiany wzorcowe.

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

### **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**

#### **Materialy:**

- 50 genotypów pszenżyta ozimego tradycyjnego;
- 14 genotypów pszenżyta ozimego tradycyjnego wybranych na podstawie wyników uzyskanych w roku 2011;
- wzorce: wysoko plonujące odmiany Borwo, Fredro.

#### **Metodyka:**

Obiekty wysiane zostały w trzech powtórzeniach w doświadczeniu polowym w Radzikowie. Materiałem infekcyjnym była mieszanina 3 izolatów *Fusarium culmorum*, wytwarzających deoksynivalenol, niwalenol oraz zearalenon. Pszenżyto inokulowane było przez oprysk kłosów zawiesiną zarodników o stężeniu ok.  $5 \times 10^5$  zar./ml. Wykonano 3 inokulacje wszystkich obiektów w odstępach 2-dniowych. Inokulację rozpoczęto w okresie pełni kwitnienia najwcześniejszych odmian. Po wystąpieniu objawów choroby przeprowadzono ocenę nasilenia fuzariozy kłosów. Określano występowanie fuzariozy kłosów (liczba kłosów porażonych na poletku) oraz porażenie kłosa (brane pod uwagę były tylko kłosa z objawami choroby). Mierniki te posłużyły do wyliczenia indeksu fuzariozy kłosów (IFK) określającego 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 o stężeniu ok.  $5 \times 10^5$  zar./ml. Po inokulacji roślin przez kilka dni utrzymywano wysoką wilgotność powietrza. Pierwszą obserwację przeprowadzono 10 dni po inokulacji. Oceniano liczbę punktów infekcji na kłosie (odp. typu 1). Drugą obserwację wykonano 21 dni po inokulacji.



Trzecią obserwację przeprowadzono 30 dni po inokulacji. Oceniano porażenie kłosów w skali procentowej.

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-acetyldeoksyniwalenol [3AcDON], 15-acetyldeoksyniwalenol [15AcDON], niwalenol [NIV]) były analizowane przy wykorzystaniu techniki chromatografii gazowej.

Dodatkowo oznaczono zawartość trichotecen B w całych kłosach wybranych 13 genotypów testowanych w tunelu.

Doświadczenia infekcyjne z 54 genotypami pszenżyta ozimego założono dodatkowo w punktach doświadczalnych: Dębina (woj. pomorskie), Szelejewo (woj. wielkopolskie), Borowo (woj. wielkopolskie).

#### **Wyniki:**

##### ***Doświadczenia infekcyjne w Radzikowie:***

Pszenżyto ozime przetrzymało w Radzikowie dobrym stanie. Uszkodzony został jedynie jeden genotyp.

Średnie nasilenie fuzariozy kłosów dla badanych 35 genotypów pszenżyta ozimego tradycyjnego wynosiło 23,3%. Zakres reakcji mieścił się w granicach od 13,7 do 40,0%. Do najsłabiej porażonych należało 5 genotypów, odmiana Mikado oraz 2 genotypy z roku 2011. Do grupy najsilniej porażonych zaliczono 8 genotypów oraz odmianę Fredro.

W warunkach prowokacyjnych w tunelu średnie porażenie kłosa wyniosło 58,4%. Zakres zmienności cechy 35,0–90,0%. Słabo porażone były kłosa 5 genotypów. Najsilniej porażone zostały kłosa 5 innych genotypów i odmiany Fredro.

Wysokość roślin nie korelowała z porażeniem kłosa, natomiast stwierdzono negatywną zależność pomiędzy terminem kwitnienia i nasileniem choroby ( $r = -0,370$ ). Wyniki uzyskane w doświadczeniu polowym i w tunelu w warunkach prowokacyjnych korelowały wysoko istotnie ( $r = 0,579$ ). Typ I odporności nie korelował z porażeniem kłosa w tunelu i w doświadczeniu polowym.

##### ***Doświadczenia infekcyjne w różnych punktach doświadczalnych***

Odporność 49 genotypów pszenżyta ozimego tradycyjnego badano dodatkowo w doświadczeniach polowych w punktach doświadczalnych: Borowo (woj. wielkopolskie), Dębina (woj. pomorskie), Szelejewo (woj. wielkopolskie) oraz w Cerekwicy k/Poznania w ramach części projektu prowadzonej przez prof. Halinę Wiśniewską.

W Borowie oraz w Szelejewie wymarły pojedyncze genotypy. Jeden genotyp wymarł we wszystkich miejscowościach.

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.

W Borowie, Dębnie i w Szelejewie średnie porażenie kłosa przez *F. culmorum* było zbliżone – odpowiednio 41,9%, 38,6% i 35,9%. Największy zakres zmienności obserwowano w Borowie (3,9–87,7%), niższy w Dębnie (14,2–87,7%) oraz najniższy w Szelejewie (20,0–60,0%).

Jedynie kilka genotypów charakteryzowało się stabilną odpornością w 3 punktach doświadczalnych. Wysoką, stabilną podatnością cechowały się 3 genotypy.

Średnie nasilenie fuzariozy kłosów w 3 punktach doświadczalnych nie korelowało istotnie ze średnią odpornością w Radzikowie w doświadczeniu polowym. Istotna była natomiast korelacja z nasileniem fuzariozy kłosów w tunelu w Radzikowie oraz wynikami uzyskanymi w Cerekwicy. Wyniki z Dębiny, Borowa i Szelejewa nie korelowały ze sobą, natomiast wyniki uzyskane w warunkach prowokacyjnych korelowały z wynikami z innych środowisk z wyjątkiem Dębiny.

Analiza składowych głównych pozwoliła na wyróżnienie grup genotypów odpornych i podatnych. W analizie wykorzystano wyniki 2 doświadczeń w Radzikowie oraz wyniki z 4 punktów doświadczalnych.

##### ***Analizy komponentów (typów) odporności wybranych genotypów:***

Do analiz wybrano 31 genotypów, w tym 11 z roku 2011 oraz 3 odmiany wzorcowe (Borwo, Fredro, Mikado).

Analiza chromatograficzna trichotecen B wykazała wysoką zawartość DON w ziarnie (średnio 8,644 ppm). Zawartość acetylowych pochodnych DON – 3AcDON, 15AcDON oraz NIV była niska – średnio odpowiednio: 0,714; 1,521; 0,323 ppm. Wyróżniono genotypy z największą i najmniejszą zawartością DON oraz takie, w których wystąpiło sumarycznie najwięcej trichotecen B w ziarnie.

Zawartość zearalenonu w ziarnie była niska. (średnio 194 ppb). Wyjątkiem była odmian Borwo akumulująca 1079 ppb (= 1,1 mg/kg) zearalenonu.

Analiza składowych głównych pozwoliła na uporządkowanie genotypów na podstawie stabilności reakcji na fuzariozę kłosów mierzonej nasileniem fuzariozy kłosów, stopniem uszkodzenia ziarniaków, zawartością trichotecen B oraz zearalenonu. Wyróżniała się odmiana Borwo, słabo porażana ale akumulująca znaczne ilości toksyn w ziarnie. Grupę form odpornych tworzyło 8 genotypów.

Analizowano zależności pomiędzy poszczególnymi cechami. Nasilenie fuzariozy kłosów nie korelowało z innymi cechami, również ze stopniem uszkodzenia ziarniaków. Natomiast uszkodzenie ziarniaków korelowało wysoko istotnie z zawartością DON i pochodnych ( $r = 0,611$ ) oraz zearalenonu ( $r = 0,542$ ). Jedynie dla NIV współczynnik korelacji miał niższą wartość.

#### **Najważniejsze osiągnięcia:**

- Identyfikacja genotypów pszenżyta łączących cechy odporności wszystkich typów na fuzariozę kłosów;
- Zbadanie zależności pomiędzy cechami fenotypowymi i typami odporności na fuzariozę kłosów genotypów pszenżyta;
- Stwierdzenie słabszej zależności uszkodzenia ziarniaków od objawów porażenia kłosa niż w przypadku pszenicy;
- Stwierdzenie akumulacji miktotoksyn (trichotecen B) w ziarnie (11,2 ppm) zbliżonej do obserwowanej u pszenicy (11,9 ppm) mimo niższego porażenia kłosa i ziarniaków.

#### **Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 32.**

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

**Kierownik projektu: dr R. Warzecha**

Celem badań jest identyfikacja genotypów dopełniających męską sterylność i przywracających płodność pyłku w systemie męskiej sterylności pszenżyta CMS – *T. timopheevi*.

W wyniku analizy płodności 132 mieszańców pokolenia  $F_1$  zidentyfikowano 5 genotypów pszenżyta całkowicie dopełniających męską sterylność: HT 902, HT 944, LT 337, LT 373, LT 387. Ich mieszańce  $F_1$  z linią męskosterylną składały się wyłącznie z roślin męskosterylnych (MS). Ponadto 10 genotypów: LT 348, LT 350, LT 370, LT 374, LT 388, HT 880, HT 892, HT 895, HT 896, HT 909 dopełniały częściowo męską sterylność, gdyż w potomstach  $F_1$  tych genotypów poza roślinami męskosterylnymi wystąpiły rośliny częściowo męskosterylne (PMS). Płodność pyłku przywracały 22 genotypy. Mieszańce  $F_1$  tych genotypów z linią męskosterylną składały się wyłącznie z roślin męskopłodnych (MF) Stopień przywracania płodności przez te genotypy, mierzony osadzaniem ziarniaków, był zróżnicowany. Średni indeks restoracji (liczba nasion przypadająca na 1 kłosek) mieszańców  $F_1$  z liniami ojcowskimi HT wyniósł 1,73 (od 0,59 do 2,63). Średni indeks restoracji mieszańców z liniami ojcowskimi LT wyniósł 1,20 (od 0,26 do 2,27).

Analiza płodności pyłku 30 mieszańców w pokoleniu  $BC_1$  wykazała, że 8 genotypów ojcowskich potwierdziło zdolność całkowitego lub/i częściowego dopełniania męskiej sterylności: HT 855, HT 869, HT 838, LT 287, LT 318, LT 319, LT 322, LT 326.

Analiza 58 mieszańców pokolenia  $BC_2$  umożliwiła potwierdzenie zdolności całkowitego lub/i częściowego dopełniania męskiej sterylności przez 6 genotypów pszenżyta: HT 755, HT 784, HT 802, LT 261, LT 266, LT 272.

**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. Szecówka**

Celem podjętych badań było określenie czynników w istoty sposób wpływających na odporność rodów i linii DH pszenżyta na porastanie. Zakresem badań objęto 54 rody i linie DH pszenżyta ozimego oraz dwie odmiany wzorcowe: Borwo oraz Fredro. Doświadczenia równolegle prowadzone były przez IHAR-PIB Zakład Roślin Zbożowych w Krakowie oraz na zasadzie usługi przez dwa punkty doświadczalne.

Ocena porastania wykonana była zgodnie z przyjętą metodyką:

- Metoda Wu i Carwer polegająca na zanurzeniu kłosów (pełna dojrzałość) na 5 min w wodzie, a następnie umieszczeniu ich na szalkach Petri`ego wyłożonych wilgotną bibułą filtracyjną w ilości trzech kłosów na szalce. Codziennie kłosa były zraszane wodą, ręcznym opryskiwaczem w celu podtrzymania wilgotności. Po pięciu dniach kłosa zostały wysuszone w temperaturze 60<sup>0</sup>C, pokruszone a następnie policzona została całkowita ilość ziarniaków oraz ziarniaki porośnięte. Oznaczenie wykonane zostało w trzech terminach:

- T I - po zbiorze
- T II - po upływie 2 tygodni
- T III - po upływie 4 tygodni od żniw.

Stopień porastania obliczony został na podstawie procentowego udziału ziarna porośniętego w kłosie, do całkowitej ilości ziarna w kłosie. Wyniki analizy przetransformowano do skali 9<sup>0</sup> w celu możliwości porównania między sobą wyników badań pomiędzy poszczególnymi punktami doświadczalnymi oraz metodami oceny stopnia porastania.

- Bonitacja porastania w kłosach metodą porostu widocznego, w Krakowie wykonana została w specjalnie zaprojektowanych do tego celu komorach, dzięki którym możliwe było zasymulowanie warunków intensywnych opadów, przy podwyższonej wilgotności (98-100%) w temperaturze otoczenia. Ocenę porastania wykonano dzięki zastosowaniu komputerowej analizy obrazu, oznaczając procentowy udział ziarna porośniętego do całkowitej ilości ziarna w kłosie. Wyniki analiz przetransformowane zostały do skali 9<sup>0</sup>, gdzie: 1- ziarno porośnięte całkowicie, a 9- ziarno odporne na porastanie w kłosie.
- Testy kiełkowania przeprowadzone wg standardowej procedury wykonane zostały na szalkach Petri`ego wyłożonych bibułą filtracyjną. Testy wykonane zostały na 50 ziarniakach w 2 terminach przy stałym utrzymaniu wilgotności. Nasiona kiełkujące liczono po 3, 5 i 7 dniach.
- Liczbę opadania oznaczono metodą Hagberga - Pertena (1964) przy użyciu aparatu Falling Number 1800 wg standardu ISO N 3093 i standardu ICC N 107 oraz metody AA-CC N 56-81B.

**Omówienie wyników badań przeprowadzonych w 2012 roku:**

Na podstawie analizy zgromadzonych danych dotyczących przebiegu pogody w czasie prowadzonych badań stwierdzono, że warunki klimatyczne panujące w Krakowie oraz Małyszynie były odmienne. Średnia temperatura i ilość miesięcznego opadu w obu miejscowościach odbiegały od średniej trzydziestoletniej. Doświadczenie przeprowadzone w Małyszynie w porównaniu z doświadczeniem przeprowadzonym w Krakowie, przebiegało w niekorzystnych warunkach agrometeorologicznych w okresie dojrzewania ze względu na intensywne opady deszczu co mogło być powodem różnic w ocenie badanych obiektów pod względem oceny odporności na porastanie.

Na podstawie uzyskanych wyników kompleksowej oceny porastania pszenżyta, stwierdzono znaczne zróżnicowanie badanych form pod względem analizowanych cech. Wartości ocen porastania w kłosach, przeprowadzanych w trzech terminach, wahały się w przedziale od 2 do 8 w przeliczeniu na skalę bonitacyjną. Ocena porastania metodą prowokacyjną w przeznaczonych do tego celu komorach o ustalonej wilgotności w zakresie od 98-100% wykazała, że uzyskane wyniki były średnio wyższe o jeden punkt w skali bonitacyjnej w porównaniu z testami kiełkowania kłosów na szalkach. Analiza liczby opadania była zróżnicowana dla badanych form. Większość wyników (ponad 60% badanych obiektów) 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 porastanie. Wyniki oceny porastania pszenżyta metodą prowokacyjną, pomiędzy Krakowem a Małyszynem różniły się pod względem wartości oceny, a korelacja pomiędzy nimi wynosiła 0,48 i była istotna na poziomie  $\alpha=0,05$ . Średnia ocena porastania w Krakowie była wyższa o 0,57 w skali bonitacyjnej, natomiast wyższy współczynnik zmienności wśród ocenianych form uzyskano w Małyszynie (39,78%).

Na podstawie uzyskanych wyników kompleksowej oceny odporności na porastanie przeprowadzono analizę korelacji, która wykazała, że istnieje wysoka współzależność pomiędzy oceną porastania w warunkach prowokacyjnych, a porastaniem w kłosach (metoda Wu i Carver). Współzależność pomiędzy liczbą opadania, a testem w warunkach prowokacyjnych (komory do oceny porastania) była w tegorocznych badaniach nieistotna i kształtowała się na bardzo niskim poziomie, natomiast w przypadku porastania w kłosach taka zależność wystąpiła i była istotna, choć na niskim poziomie. Przeprowadzona analiza korelacji pomiędzy testami kiełkowania, a porastaniem w kłosach wykazała istotną zależność na poziomie średnim pomiędzy badanymi cechami.

Porastanie przedźniwne jest cechą zespoloną wielu czynników wpływających na jego stopień. W znacznym stopniu na odporność na porastanie ziarna w kłosach wpływają takie cechy jak budowa morfologiczna kłosa oraz zawartość inhibitorów wzrostu w plewach. W celu przeprowadzenia złożonej analizy, która uwzględnia ochronę ziarna w oparciu o budowę morfologiczną kłosa zastosowano wskaźnik oceny porastania "Wp". Wartość wskaźnika pozwala na pogrupowanie obiektów pod względem odporności w zależności od szczegółowej oceny porastania ziarna w kłosie oraz stopnia spoczynkowego nasion. Dzięki temu uzyskujemy informację na ile budowa morfologiczna kłosa zapewnia odporność ziarna na porastanie w kłosie. Algorytm wyliczania wartości wskaźnika "Wp" przedstawia poniższe równanie:

$$Wp = B \cdot \left(1 - \frac{K}{100}\right)$$

gdzie:

B- wartość oceny porastania w kłosach w skali bonitacyjnej

K- wynik testu kiełkowania nasion (ilość skielkowanych nasion) przeprowadzony równolegle w terminie oceny porastania metodą prowokacyjną.

Na podstawie przeprowadzonej analizy z wykorzystaniem wskaźnika "Wp" uwzględniającego długość spoczynkową nasion, wytypowano jeden obiekt o odporności na porastanie wyższej od wzorca - odmiany Fredro. W porównaniu do wzorca Borwo 80% badanych obiektów wykazało się odpornością wyższą.

Spośród wszystkich badanych obiektów 27% charakteryzowało się wysoką odpornością, 29% średnią odpornością, a 44% niską odpornością na porastanie.

Wyniki prowadzonych prac pozwalają na wyodrębnienie form najlepszych pod względem badanych cech. Na podstawie tegorocznych wyników badań wytypowano jeden obiekt o odporności wyższej od wzorca Fredro. Charakteryzował się on cechami: wyższej odporności na porastanie w warunkach prowokacyjnych i dłuższym czasem spoczynkowym nasion, a także wyższą niż przeciętnie wśród badanych obiektów liczbą opadania (110s). Blisko jedna trzecia badanych form charakteryzowała się wysoką odpornością na porastanie uwzględniając budowę morfologiczną kłosa oraz czas spoczynkowy nasion.

Pamiętać jednak należy iż wszystkie badane cechy są silnie modyfikowane przez czynniki środowiskowe dlatego jednoznaczna ocena nie jest miarodajna ze względu na ekspresję badanych cech. Tym samym określenie cech warunkujących odporność na porastanie wymaga dalszych prac badawczych oraz udoskonalania metod oceny.

**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. nadzw. IHAR-PIB**

Badania molekularne cytoplazmatycznej męskiej sterility typu *Triticum timopheevii* (T.t) u pszenżyta oraz nad identyfikacją markerów DNA sprzężonych z genami utrzymania sterility roślin, pomimo zaawansowanych prac hodowlanych znajdują się w fazie początkowej. W przypadku badań hodowlanych prace koncentrują się na identyfikacji form sterilnych, form matecznych oraz form dopełniających. Wyprowadzane są również linie rekombinacyjne, które umożliwią precyzyjne lokalizowanie genów utrzymania męskiej sterility. Linie te są prowadzone metodą pojedynczych ziarniaków i znajdują się na różnych poziomach wsobności. W przypadku części materiałów wykonano krzyżowania wsteczne z formą mateczną. Umożliwi to określenie które z linii przywracają, a które utrzymują sterility pyłku u pszenżyta z cms Tt.

Krzyżowanie materiałów roślinnych w ramach programów hodowlanych, szczególnie w przypadku ich dużej liczby, wymaga nakładów czasowych, które muszą być wykonane w relatywnie krótkim czasie. Pomocą w planowaniu krzyżowań może być wykorzystanie markerów molekularnych oraz różnego rodzaju narzędzi statystycznych takich jak analiza składowych głównych czy np. analiza skupień. Takie podejście nie zawsze się jednak sprawdza i może dawać rezultaty odmienne od oczekiwanych. Przyczyną takiego stanu rzeczy może być fakt, że markery molekularne mogą w różnym stopniu pokrywać genom badanego gatunku bądź też mogą lokalizować się poza obszarem genomu, który poddawany jest presji selekcyjnej. By wyniki analiz statystycznych opartych na markerach molekularnych mogły być bardziej pomocne w pracach hodowlanych wskazany jest określenie chromosomów, bądź nawet ich wąskich obszarów, które mogą warunkować cechy użytkowe. Należy oczekiwać, że nawet nieduże różnice dystansu genetycznego obserwowane przy takim podejściu mogą być wskazaniem do krzyżowań pomiędzy formami. Gdy do zróżnicowania form wykorzystuje się niezróżnicowaną pulę markerową (ukierunkowaną na wszystkie chromosomy gatunku) to dystans genetyczny będzie raczej odzwierciedlał ogólne zróżnicowanie pomiędzy liniami. Należy jednak pamiętać, że takie zróżnicowanie nie musi określać różnic w obszarach poddawanych selekcji lub też obszary te są "zamaskowane" innymi markerami. W ramach badań taksonomicznych podjęto działania, których celem jest wyjaśnienie czy wykorzystanie markerów molekularnych ukierunkowanych na poszczególne chromosomy pszenżyta umożliwi lepsze zróżnicowanie materiałów roślinnych (zgodne z kierunkami selekcji), jaka jest minimalna liczba markerów konieczna do poprawnego zróżnicowania, i czy lokalizacja markerów na chromosomach może wpływać na takie zróżnicowanie.

Celem projektu jest:

- Analiza zróżnicowania genetycznego form pszenżyta.
- Wyprowadzenie linii rekombinacyjnych pszenżyta użytecznych do mapowania genów utrzymania jałowości pyłku w systemach z cms *T. timopheevii*.

Zakres prac realizowanych w danym roku.

- Regeneracja roślini rodów oraz form pszenżyta do badań taksonomicznych, charakteryzacja materiału roślinnego pod względem badanej oraz innych cech.
- Wyprowadzenie rekombinacyjnych linii wsobnych pszenżyta (kontynuacja wcześniejszych prac).
- Krzyżowania wsteczne linii wsobnych F4(N) z formą mateczną celem weryfikacji fenotypu (utrzymania sterility pyłku).
- Badania taksonomiczne. Do badań taksonomicznych pszenżyta zostało wyprowadzonych 190 roślin reprezentujących różne formy pszenżyta o ściśle zdefiniowanej zdolności utrzymania sterility pyłku. Formy pszenżyta zostały scharakteryzowane markerami DArT.

Podjęto działania, których celem jest wyjaśnienie czy wykorzystanie markerów molekularnych ukierunkowanych na poszczególne chromosomy pszenżyta umożliwi lepsze zróżnicowanie materiałów roślinnych (zgodne z kierunkami selekcji), jaka jest minimalna liczba markerów konieczna do poprawnego zróżnicowania, i czy lokalizacja markerów na chromosomach może wpływać na takie zróżnicowanie.

W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że wykorzystanie markerów molekularnych ukierunkowanych na poszczególne chromosomy pszenżyta wpływa istotnie na wyniki analizy skupień. Rozmieszczenie markerów na chromosomach również może warunkować sposób grupowania się form na dendrogramie. W przypadku wykorzystania markerów ukierunkowanych na cały genom, stabilizacja skupień ma miejsce na poziomie 50 markerów, a przy zastosowaniu 250-300 różnice pomiędzy grupowaniami są już niewielkie.

**Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 37.**

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

**Kierownik projektu: *prof. dr hab. J. Zimny***

Celem prowadzonych badań w roku sprawozdawczym było uzyskanie czystych linii – roślin homozygotycznych pszenżyta ozimego zawierających genetyczne źródła odporności na rdzę brunatną, mączniaka, charakteryzujących się zimotrwałością oraz tolerujących niskie pH. Druga część eksperymentów dotyczyła analizy wpływu zawartości dodatkowych jonów miedzi w pożywce indukującej i regeneracyjnej na efektywność otrzymywania zielonych regenerantów.

W wyniku przeprowadzenia ukierunkowanych krzyżowań, wyselekcjonowano 12 genotypów pszenżyta ozimego, które posłużyły do wyprowadzenia linii DH drogą androgenyzy w kulturze pylników.

W badaniach porównano efektywność regeneracji w kulturze pylników wyselekcjonowanych mieszańców pszenżyta ozimego. Regeneranty uzyskano dla wszystkich badanych kombinacji mieszańcowych. Wyłożono ponad 350 kłosów. Średnia liczba zregenerowanych zielonych roślin w przeliczeniu na kłos wahała się od 1,8 do 54,9 (z każdego kompetentnego kłosa) w zależności od kombinacji. Maksymalna wartość współczynnika efektywności regeneracji wyniosła 166 roślin na kłos. W wyniku przeprowadzonych badań zregenerowano 5580 zielonych roślin. Potomstwo mieszańca Bo 2421 odznaczało się najwyższą wartością wskaźnika regeneracji zielonych roślin. Częstość pojawiania się roślin albinotycznych wśród regenerantów była najwyższa dla mieszańca DL 184/11 (97%), najniższa zaś dla Mo 35183 (18%). Otrzymano ponad 6700 albinosów

Nie wykazano korelacji pomiędzy ilością uzyskanych regenerantów, a sposobem przeprogramowywania mikrospor na rozwój androgeniczny. Chłodzenie (4°C) ściętych pędów z kłosami (w wodzie) w początkowej fazie kłoszenia przez okres 3 tygodni było tak samo efektywnym sposobem prowadzącym do zmiany drogi rozwojowej mikrospor i indukcji androgenyzy, jak 5-7 dniowe przetrzymywanie w temperaturze 4°C ściętych pędów z kłosami w roztworze makro i mikroelementów pożywki N6 z dodatkiem 2,0 mg/l 2,4-D

Analizowana w kolejnym eksperymencie, efektywność regeneracji (liczba zielonych regenerantów na kłos) w odniesieniu do dwóch kolejnych kłosów pochodzących z tej samej, losowo wybranej rośliny w przypadku losowo wybranych 2 mieszańców dla badanych roślin (oprócz jednej kombinacji) miała zbliżoną wartość. Natomiast w przypadku trzeciego genotypu różnice w ilości uzyskanych regenerantów pomiędzy poszczególnymi kłosami, wywodzącymi się z tej samej rośliny donorowej były znaczne (w skrajnym przypadku wyniosły 46 zregenerowanych roślin). W obrębie tego mieszańca efektywność regeneracji dla różnych roślin donorowych wynosiła się od 26 do 98 zielonych roślin w przeliczeniu na kłos.

Efektywność indukcji androgenyzy oceniana ilością wytworzonych struktur androgenicznych (kalus, zarodki, struktury zarodkopodobne) na pożywce indukującej ze standardową zawartością jonów miedzi była taka jak w przypadku prowadzenia kultur na pożywkach indukujących z dodatkową zawartością jonów miedzi. Nie wykazano również różnicy w efektywności wytwarzania zielonych roślin (w przeliczeniu na kłos) na skutek zastosowania podwyższonej zawartości jonów miedzi w pożywce regeneracyjnej w stosunku do pożywki stosowanej tradycyjnie. Udział zielonych roślin wśród regenerantów wytworzonych w wyniku zastosowania zwiększonego stężenia  $\text{CuSO}_4$  wahał się od

2,9 do 85% (w zależności od kombinacji mieszańcowej) podczas gdy wartość ocenianego parametru w przypadku regeneracji na pożywcze standardowej wynosiła odpowiednio od 2,8 do 74%.

Uzyskane linie zostaną scharakteryzowane i poddane ocenie pod względem badanych cech. Obecnie regeneranty są aklimatyzowane do warunków *in vivo*, jarowizowane oraz poddawane kolchicynowaniu.

**Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 38.**

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

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

W szkółce polowej wykonano nowy program krzyżowań wcześniej wyselekcjonowanych linii o połączonej odporności na rdzę i mączniaka z elitarnymi odmianami jęczmienia jarego. W programie wykorzystano linie, które wcześniej, w pokoleniu F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub> i F<sub>4</sub> selekcjonowano w warunkach kontrolowanych i polowych pod względem odporności na mączniaka i rdzę karłową oraz korzystnej oceny innych ważnych cech gospodarczych. Uzyskano 51 populacji F<sub>1</sub>.

W ramach usługi badawczej przeprowadzono doświadczenie w 5 miejscowościach, z ponad 700 liniami w siewie 1-rzędkowych poletek wraz z trzema odmianami wzorcowymi: Blask, Suveren, Conchita. Badane linie oceniono pod względem porażenia przez: mączniaka, rdzę karłową, plamistość siatkowaną i rynchosporię. Nasilenie porażenia przez poszczególne choroby i w różnych miejscowościach było różne, od dużego porażenia mączniakiem i średniego rdzą w Nagradowicach do bardzo słabego w Strzelcach. Plamistość siatkowaną odnotowano ze średnim nasileniem w Nagradowicach. W pozostałych miejscowościach choroby tej nie stwierdzono. Rynchosporioza od lat nie jest chorobą ważną dla jęczmienia.

Z 308 populacji mieszańcowych F<sub>5</sub>, selekcjonowanych w pokoleniu F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub> i F<sub>4</sub> pod względem odporności na choroby i inne cechy wartości gospodarczej, do oceny w 2013 roku, w 5 miejscowościach, jako usługa badawcza, wybrano 900 linii z 80 kombinacji krzyżówkowych.

W warunkach kontrolowanych szklarni i fitotronu, oceniono reakcję 114 rodów jęczmienia jarego na zakażenie 28 izolatami *Blumeria graminis* i 9 izolatami *Puccinia hordei* o znanej patogeniczności w stosunku do genów referencyjnych dla w/w patogenów. Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że wysoce efektywną odpornością na porażenie przez *B. graminis* f.sp. *hordei* warunkowaną genem mlo charakteryzuje się 73% ocenianych rodów. Pozostałe 27% rodów jest podatne na niektóre izolaty. Podobnie oceniono badane rody pod względem reakcji na zakażenie 9 izolatami rdzy karłowej o różnej patogeniczności w stosunku do znanych genów odporności. Oceniane rody charakteryzowały się zróżnicowaną reakcją na zakażenie poszczególnymi izolatami. Na wszystkie izolaty podatnych było 12 rodów. Nie było rodów odpornych na wszystkie użyte w badaniach izolaty. Za wyjątkiem izolatu Rub wyizolowanego na południu Europy, pozostałe reprezentują patogeniczność populacji rdzy karłowej występującej w Polsce.

**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**

W szkółce polowej wykonano krzyżowania 5 linii odpornych na mączniaka z podatną odmianą Manchurian. Linie odporne zostały wcześniej wyselekcjonowane z odmian miejscowych pochodzących z Bliskiego Wschodu. Linie te przed włączeniem do programu krzyżowań zostały ocenione w badaniach fitopatologicznych z użyciem zestawu 34 izolatów *Blumeria graminis* f.sp. *hordei* o zróżnicowanej patogeniczności w stosunku do znanych genów odporności na tego patogena. Uzyskano nasiona mieszańcowe F<sub>1</sub> do dalszych badań.

Założono doświadczenia w sześciu miejscowościach: Bąków, Choryń, Nagradowice, Polanowice, Strzelce i Radzików z 200 liniami jęczmienia jarego z kolekcji Pracowni Genetyki Stosowanej IHAR-PIB, w tym: 178 linii odpornych na mączniaka i 22 odporne na rdzę karłową. 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 2012 roku nasilenie chorób na jęczmieniu we wszystkich miejscowościach było małe. Nieco większe nasilenie, zwłaszcza mączniaka wystąpiło w Nagradowicach. Na 178 linii, we wszystkich miejscowościach 124 było odpornych, 26 średnio odpornych. Linie odporne na rdzę w pięciu miejscowościach oceniono jako wysoce odporne, w Polanowicach jako odporne w stopniu 7. Plamistość siatkowana w Nagradowicach wystąpiła w słabym nasileniu, w pozostałych miejscowościach odnotowano śladowe objawy tej choroby. Rynchosporioza we wszystkich miejscowościach nie wystąpiła. Uzyskane wyniki oceny kolekcji linii odpornych na mączniaka lub rdzę karłową w warunkach naturalnej infekcji potwierdziły się w różnych środowiskach.

**Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 40.**

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

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

W warunkach kontrolowanych oceniono 5925 potomstw 237 linii wybranych w 2011 roku. Po 25 siewek każdego pojedynka oceniono fenotypowo na reakcję zakażenia izolatem 68 *B. graminis* f.sp. *hordei*. Do dalszych badań pozostawiono wyłącznie obiekty, w których wszystkie siewki wykazywały reakcję odporności 0(4), typową dla ekspresji genu *mlo*. Wybrane linie poddano jarowizacji i równolegle sprawdzono obecność genu *mlo* markerem mikrosateliternym MI03. Wyniki oceny molekularnej potwierdziły ocenę fenotypową.

Wykonano w warunkach szklarniowych program krzyżowań 6 elitarnych odmian jęczmienia ozimego i dwóch linii 2-rzędowych o odporności warunkowanej genem *mlo*, które skrzyżowano z 2-rzędową odmianą elitarną.

Populacje mieszańcowe F<sub>1</sub> rozmnożono w warunkach szklarniowych w celu uzyskania populacji mieszańcowych F<sub>2</sub> do przeprowadzenia w roku 2013 selekcji na poziomie fenotypowym na obecność genu *mlo* i jego potwierdzenia na poziomie molekularnym.

W ramach usługi badawczej, w trzech miejscowościach: Bąków, Szelejewo i Wiatrowo założono doświadczenie z 14 liniami i 3 odmianami wzorcowymi jęczmienia ozimego. Warunki pogodowe zimy 2011/2012 spowodowały tak duże uszkodzenia roślin, że uznano za celowe powtórzenie doświadczenia w sezonie 2012/13.

**Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 43.**

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

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

Celem badań jest określenie zmienności genetycznej cech jakości ziarna nowowprowadzanych odmian oraz zaawansowanych materiałów hodowlanych jarego jęczmienia browarnego i pastewnego pod kątem przydatności do różnych sposobów wykorzystania ziarna: słodowania, na paszę oraz do produkcji żywności. Harmonogram prac w bieżącym roku sprawozdawczym był realizowany w dwóch zadaniach badawczych:

- I. Monitoring różnicowania genetycznego cech determinujących przydatność ziarna jęczmienia do celów browarnianych,
- II. Monitoring różnicowania genetycznego cech jakości ziarna jęczmienia pastewnego.



W zadaniu I materiałem badawczym było ziarno trzech odmian wzorcowych oraz 25 rodów jęczmienia browarnego, pochodzące z trzech miejscowości uprawy, tj. Bąkowa, Radzikowa oraz Strzelc ze zbioru 2012 roku. Badania wartości browarnej zostały wykonane w taki sam sposób jak w latach ubiegłych i obejmowały badania 11 cech ziarna, słołu bądź brzezki. Wartości wyliczono jako średnie z 3 miejscowości upraw. Na podstawie 5-ciu cech, liczby Kolbacha, ekstraktywności, lepkości brzezki, odfermentowania i siły diastatycznej, wyliczono wskaźnik sumaryczny Q wartości browarnej w stosunku do odmiany Blask, który umożliwił ranking rodów.

Stwierdzono niedostateczną kruchość słołu ziarna jęczmienia browarnego wyprodukowanego w 2012 roku. Średnia wartość tej cechy była na poziomie 65.7%, w zakresie od 39 do 76%. Niedostateczna kruchość słołu wpłynęła niekorzystnie na ekstraktywność, której średnia wartość wyniosła 81%, w zakresie od 78.6 do 82.3%. Podobnie jak w przypadku kruchości stwierdzono wysokie współczynniki korelacji tej cechy między poszczególnymi miejscami uprawy ziarna. Miejsce uprawy miało także wpływ na ekstraktywność słołu. Dla słołu wyprodukowanego z ziarna pochodzącego z Radzikowa i Strzelc średnia wartość ekstraktywności była zbliżona (81.4 i 81.6%), podczas gdy z Bąkowa była o 1.5 jednostki procentowej niższa (79.9%). Zawartość białka słołu w materiale analizowanym w bieżącym roku była na poziomie średnio 10.3%, w zakresie od 9.4 do 11.5%, a więc odpowiednim dla jęczmienia browarnego. Słód otrzymany z ziarna uprawianego w warunkach Bąkowa i Strzelc charakteryzował się taką samą średnią zawartością białka (10.8%), podczas gdy z warunków Radzikowa o 1.4 jednostki procentowej niższą (9.4%). Z zawartością białka w słodzie wiąże się bezpośrednio liczba Kolbacha. Średnia wartość tej cechy wyniosła dla badanych rodów 47.3%, w zakresie od 42.6 do 53.9%. Najniższą liczbę Kolbacha miało ziarno jęczmienia wyprodukowane w warunkach Bąkowa (43.8%), następnie Strzelc (48.7%), podczas gdy z Radzikowa najwyższą (49.5%). Słód uzyskany z tegorocznego ziarna charakteryzował się odpowiednią siłą diastatyczną o wartości średniej 295 jdn. W-K, w zakresie od 217 do 403 jdn. W-K. Nie obserwowano dużych różnic w wartości tej cechy w zależności od miejsca uprawy ziarna, dla słołu z Radzikowa 270 jdn. W-K, Bąkowa 303 jdn. W-K oraz Strzelc 310 jdn. W-K. Stwierdzono wysokie współczynniki korelacji tej cechy między poszczególnymi miejscami uprawy ziarna, co wskazuje na jej wysokie uwarunkowanie genetyczne. Zawartość  $\beta$ -glukanu była na poziomie średnio 67 mg/l, w zakresie od 20 do 144 mg/l i była cechą o najwyższej zmienności (44%). Stwierdzono także wysokie zróżnicowanie zawartości  $\beta$ -glukanu w zależności od miejsca uprawy. Zbliżone zawartości  $\beta$ -glukanu były w słodzie z Bąkowa i Radzikowa (55 i 50 mg/l), a prawie dwukrotnie wyższe ze Strzelc (96 mg/l). Lepkość brzezki kongresowej układała się podobnie jak w odniesieniu do  $\beta$ -glukanu, chociaż zmienność tej cechy była wielokrotnie niższa (2%). W odniesieniu do klas jakości, obliczonych w stosunku do odmiany Blask, 8 rodów jęczmienia cechowało się dobrą do bardzo dobrej kategorią browarną o wartości współczynnika Q w zakresie od 6.75 do 7.85. Spośród tych rodów siedem reprezentowało hodowlę Strzelce, a jeden był wytworzony w ZDHAR Radzików. Były to rody o najwyższej przydatności do słodowania.

W zadaniu II materiałem badawczym było ziarno 74 rodów hodowlanych jęczmienia pastewnego wraz z 12 próbkami ziarna odmian wzorcowych z 6-ciu ośrodków. Kryteriami wartości pastewnej były zawartość białka, skrobi,  $\beta$ -glukanu ogółem oraz lepkość ekstraktu wodnego ziarna. Zawartość białka ogółem wyniosła 9.9% i była bardzo zróżnicowana w zależności od pochodzenia i miejsca uprawy (CV 18%). Stwierdzono ujemną korelację ( $r=-0.57$ ) między zawartością białka i skrobi. Można wyselekcjonować rody odznaczające się relatywnie wysokimi wartościami obu tych składników.

Przeprowadzone badania wykazały zróżnicowanie cech determinujących wykorzystanie ziarna jęczmienia na cele browarne i pastewne. Pozwoliły na uszeregowanie najnowszych materiałów hodowlanych pod względem przydatności do obu kierunków użytkowania ziarna. Wyniki badań przyczyniają się do jak najbardziej efektywnego wykorzystania ziarna jęczmienia jarego w Polsce. Są także pomocne w 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**

Podwojone haploidy (DH), uzyskiwane na drodze androgenezy, w znacznym stopniu skracają czas potrzebny do wyprowadzania nowych odmian roślin. Podstawowym warunkiem umożliwiającym wykorzystanie procesu androgenezy jest opracowanie efektywnej metody produkcji podwojonych haploidów. Stworzenie takiej metody zakłada zwiększenie wydajności uzyskiwania zarodków androgenicznych, z których regenerowane są rośliny, zmniejszenie powstawania roślin albinotycznych oraz podniesienie odsetka spontanicznie podwojonych haploidów spośród wszystkich zregenerowanych roślin.

Celem tegorocznych badań było zbadanie zdolności do androgenezy 40 genotypów jęczmienia jarego oraz 20 genotypów jęczmienia ozimego.

**Materiał i metody:**

W bieżącym roku przeprowadzono badania reakcji androgenicznej u 60 linii jęczmienia różnego pochodzenia.

Rośliny uprawiano w fitotronie, w warunkach kontrolowanych. Kłosa do badań pobierano gdy rozwijające się w kwiatach mikrospory osiągały fazę zwakuolizowaną. W celu przeprogramowania mikrospor na drogę sporofitową zastosowano szok termiczny. Kłosa znajdujące się w pędach umieszczano w naczyniu z wodą i chłodzono w temperaturze 4°C przez okres od 21 do 28 dni, lub/i wyizolowano pylniki, które umieszczano w 0,4 M roztworze mannitolu z 10 µM CuSO<sub>4</sub> na okres 4 dni w 4°C. Kultury pylników (KP) prowadzono na stałej pożywce indukującej. W kulturach samoistnie uwalnianych mikrospor (KSUM), wyizolowane pylniki zawieszano w płynnej pożywce indukującej. Szalki z pylnikami inkubowano w ciemności, w temperaturze 26°C przez okres do 3 miesięcy. Powstające w tym czasie kalusy i struktury zarodkopodobne o średnicy powyżej 1 mm przekładano na pożywkę regeneracyjną. Proces regeneracji odbywał się na świetle w temperaturze 26°C w pokoju hodowlanym. Regeneranty z dobrze wykształconym systemem korzeniowym przesadzano do doniczek z ziemią i umieszczano w fitotronie.

Otrzymane regeneranty z 20 wybranych genotypów przetestowano pod kątem poziomu zawartości DNA w komórkach. Poziom ploidalności określano na cytometrze przepływowym firmy PARTEC.

**Wyniki:**

Porównano efektywność procesów androgenezy i regeneracji w kulturze pylników dla 40 mieszańców jęczmienia jarego oraz 20 genotypów jęczmienia ozimego. Średnio dla jednego genotypu wyizolowano pylniki z ponad 20 kłosów. Przez okres 3 miesięcy od założenia doświadczenia przełożono ponad 140663 kalusów na pożywki regeneracyjne, z czego zregenerowało 4184 roślin zielonych i 14901 roślin albinotycznych. Indukcję kalusa uzyskano dla wszystkich badanych genotypów. Poziom kalusowania wahał się od 90 do 6955 przełożonych kalusów w zależności od genotypu, a zróżnicowanie tego parametru zależało od pochodzenia. Zielone rośliny zregenerowano również dla wszystkich testowanych mieszańców. Efektywność regeneracji w kulturze pylników wahała się od 0,1 do 30 zregenerowanych zielonych roślin na kłos. Efektywność kalusowania nie przekładała się na ilość uzyskanych roślin np.: dla genotypu, u którego uzyskano najwięcej kalusów, bo aż 6955 zregenerowano 63 rośliny zielone i 871 roślin albinotycznych. Najwięcej roślin – 804 zielonych i 107 albinotycznych uzyskano dla genotypu, u którego przełożono na pożywki regeneracyjne 4646 kalusów. Procentowy udział roślin zielonych, wśród wszystkich otrzymanych regenerantów w przeliczeniu na kłos wahał się od 1,6% do 88,3 %.

W doświadczeniu, w którym badano wpływ rodzaju zastosowanego stresu przeprogramowania mikrospor, na efektywność regeneracji stwierdzono, że dla większości genotypów traktowanie pylników roztworem mannitolu z CuSO<sub>4</sub>, zwiększyło ilość zregenerowanych zielonych roślin oraz zmniejszyło średnią ilość uzyskanych roślin albinotycznych na kłos w kulturze pylników i samoistnie uwalnianych mikrospor, w porównaniu do chłodzenia całych kłosów.

W celu znalezienia wydajnej metody uzyskiwania podwojonych haploidów w procesie androgenezy porównano ze sobą dwa rodzaje stresu przeprogramowania mikrospor oraz kulturę pylników (KP) i samoistnie uwalnianych mikrospor (KSUM). Najwięcej roślin zielonych zregenerowano dla

kombinacji (mannitol + CuSO<sub>4</sub>)/4°C/4 dni → KP w 6 spośród 10 przebadanych genotypów. Najmniej roślin zielonych uzyskano dla kombinacji 4°C/3 tygodnie → KSUM. W kulturze pylników, niezależnie od rodzaju stosowanego stresu, uzyskano najwięcej roślin albinotycznych. Analizując wyniki pod kątem procentowego udziału roślin zielonych wśród wszystkich zregenerowanych roślin można uznać, że najwięcej zielonych roślin w przeliczeniu na kłos uzyskano gdy pylniki były stresowane w mannitolu + CuSO<sub>4</sub> w kulturze samoistnie uwalnianych mikrospor. Taki wynik zaobserwowano dla wszystkich 10 przebadanych genotypów.

Porównano efektywność regeneracji między odmianami jęczmienia jarego i ozimego. Otrzymane wyniki wskazują, że ilość uzyskanych zielonych roślin oraz procentowy udział roślin zielonych spośród wszystkich uzyskanych, jest większy dla odmian ozimych niż jarych.

Analiza poziomu ploidalności wykazała, że spośród 1595 regenerantów uzyskanych z 20 różnych genotypów, 53% stanowiły podwojone haploidy, 40% haploidy, zaś 7% aneuploidy. Proces spontanicznego podwojenia chromosomów był różny dla różnych genotypów.

### **Wnioski**

- Zbadano zdolność do androgenozy 40 linii jęczmienia jarego oraz 20 linii jęczmienia ozimego, różnego pochodzenia, z czego uzyskano 4184 homozygotyczne linie jęczmienia.
- Wyselekcjonowano genotypy, z których można regenerować duże ilości zielonych roślin oraz genotypy nie posiadające zdolności do androgenozy.
- Udowodniono, iż indukowanie procesu androgenozy poprzez inkubowanie pylników w roztworze mannitolu z CuSO<sub>4</sub> podnosi efektywność uzyskiwania zielonych roślin w porównaniu z chłodzeniem kłosów.
- Wykazano, że kultura samoistnie uwalnianych mikrospor, w połączeniu ze stresem w mannitolu z CuSO<sub>4</sub> pozwala uzyskać najwięcej zielonych roślin spośród wszystkich zregenerowanych w przeliczeniu na kłos.
- Na przykładzie 20 genotypów (1516 roślin) pokazano częstość zachodzenia spontanicznego podwojenia chromosomów w czasie procesu androgenozy.

### **Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 45.**

**Tytuł projektu: Poszukiwanie form owsa o wysokich wartościach żywieniowych.**

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

Głównym celem badawczym jest poszukiwanie form owsa charakteryzującego się wysoką wartością żywieniową w obrębie nowych linii. Na cechę tę poza wysoką wartością odżywczą białka o wysokiej zawartości aminokwasów egzogennych składa się także 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. W badaniach zostało również uwzględnione poznanie interakcji genotypowo-środowiskowej zawartości tych składników ziarna. Drugim celem jest opracowanie na podstawie uzyskanych wyników badań wyróżników jakości ziarna owsa przeznaczonego na cele spożywcze.

Materiałem do badań w roku sprawozdawczym było ziarno 3 odmian i 12 linii owsa, wyprodukowanych w 3 lokalizacjach o odmiennych warunkach glebowo-klimatycznych. Surowcem do produkcji żywności jest ziarno obłuszczone bądź ziarno form nagich, stąd badania były prowadzone na takim materiale. W br. wykonano badania tych samych cech jak w latach poprzednich, a więc białka, składników mineralnych, lipidów ogółem, skrobi strawnej, nieskrobiowych polisacharydów (NSP) z podziałem na rozpuszczalne i nierozpuszczalne, w tym β-glukanu, ligniny Klasona, sumy błonnika pokarmowego. Oznaczono także lepkość ekstraktu wodnego (WEV), która to cecha jest główną miarą właściwości funkcjonalnych ziarna owsa.

W żywieniu zboża są głównym źródłem energii i znaczącym źródłem białka. W przypadku ziarna owsa przeznaczonego na paszę przydatne są odmiany o małym udziale plewki, a wysokiej zawartości skrobi i lipidów albo formy nagie. Średni udział plewki w ziarnie badanych odmian wynosił 30%,

przy czym największą jej ilość, prawie 43%, miała linia POB 2085/09, najniższą odmiana Bingo (27.5%).

W żywieniu ludzi surowcem do produkcji żywności jest ziarno form nagich bądź obłuszczone, które będąc źródłem energii i białka, zawiera znaczącą ilość błonnika pokarmowego i innych składników bioaktywnych, w szczególności  $\beta$ -glukanu. Pod względem zawartości składników odżywczych (SO), wyliczonych jako suma zawartości białka, składników mineralnych, lipidów i skrobi wyróżniały się następujące: odmiana Arden oraz linie STH 8307 i POB 2149/09 dla których suma SO wynosiła odpowiednio 82%; 80,2%; 80,1%. Najniższą zawartością SO charakteryzowały się linie STH 9110 (74,9%) i DC 1193 (75,6%). W odniesieniu do wskaźnika właściwości bioaktywnych najwyższymi jego wartościami charakteryzowała się odmiana Nagus (26,7) oraz linie STH 8307 (24,2) i STH 8030 (23,1). Najniższymi natomiast linia DC 1193 (18,4), odmiana Arden oraz linie POB 2149/09, DC 1329, dla których WWB wynosił około 19.

Stwierdzono występowanie istotnych interakcji genotypowo-środowiskowych (G×E) pomiędzy odmianą a miejscem uprawy na zawartość składników ziarna.

Wyniki badań pozwoliły na wytypowanie form owsa o wysokich wartościach żywieniowych, najbardziej polecanych do produkcji żywności. Formą, która charakteryzowała się jednocześnie najwyższą sumą SO, a także najwyższym WWB była linia STH 8307. Ponadto odmiana Arden i linie POB 2149/09 i DC 1329 odznaczały się wysoką zawartością SO, a odmiana Nagus oraz linie DC 1776 i STH 8030 charakteryzowały się najwyższymi WWB.

#### **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**

W ubiegłym sezonie rozmnożono część linii wytworzonych z udziałem *Avena macrostachya* w szkółkach, w warunkach siewu rozrzedzonego, w czterech miejscowościach i przeprowadzono wstępne badania zawartości łuski i podstawowych składników (białko, olej, włókno – metodą spektrofotometrii NIR).

Korzystając z ubiegłorocznych wyników pierwszej serii badań materiałów szkółkowych wybrano zestaw 17 linii oplewionych i czterech nagonasiennych do doświadczenia w czterech miejscowościach. Kryteriami selekcji była wysokość i stabilność plonu, ciężar 1000 nasion, zawartość łuski (u form nagonasiennych udział ziaren z łuską), zawartość białka, tłuszczu i włókna w ziarnie. Preferowano też formy wcześniejsze, bardziej odporne na mączniaka i rdzę koronową. Dołączono także dwie linie z doświadczenia jednopunktowego w Radzikowie i dwa wzorce odmianowe: ‘Bingo’ dla form oplewionych i ‘Siwek’ dla nagonasiennych.

Określono plon obiektów doświadczenia i najważniejsze jego parametry fizyczne. Mieszańce plonowały na ogół na poziomie niższym od wzorców, z wyjątkiem linii 5Q5/04.1001 (114% plonu wzorca ‘Bingo’), która cechowała się także szczególnie dużym ciężarem objętościowym (109% poziomu wzorca). Większość linii owsa oplewionego z wysoką masą ziarniaka w szkółce nie utrzymała tej cechy w siewie gęstym, z wyjątkiem mieszańca S8H8.E9 (MTZ = 47,5g, 111% poziomu wzorca). Jednak jeszcze wyższy wskaźnik - 48,3g zanotowano w jednej z linii kontrolnych (bez udziału *A. macrostachya*) oznaczonej Ax258.2000; nastąpił tu wzrost MTZ w siewie gęstym o 5,4g. Natomiast w grupie owsa nagonasiennego masa ziarniaka była relatywnie wysoka, podobnie jak w szkółce, a najlepsza pod tym względem linia 5T8.33018 osiągnęła poziom 153% wzorca odmiany ‘Siwek’. Niska zawartość łuski okazała się cechą bardziej stabilną niż MTZ i najlepsze pod tym względem linie ze szkółki były też najlepsze w doświadczeniu. Stabilną cechą okazał się także niski udział ziaren z łuską w liniach 5T8.33 owsa nagonasiennego; w Strzelcach zanotowano nawet 100% ziaren nagich.

Określono także ważniejsze cechy agrotechniczne badanych linii owsa. Poziom odporności na wyleganie i rdzę koronową był zróżnicowany, zaś pozostałe choroby wystąpiły w niewielkim nasileniu. Nagonasienna linia 5T8.33018 okazała się wysoce odporna na rdzę. Mieszańce oplewione z udziałem owsa ozimego były na ogół znacznie późniejsze w rozwoju od wzorca 'Bingo', z wyjątkiem dwóch obiektów. Formy nagonasienne nie odbiegały pod tym względem od wzorca.

Po zbadaniu chemicznych parametrów jakościowych ziarna, które jeszcze jest w trakcie obłuszczenia, będzie możliwa lepsza ocena badanych linii.

Następna seria 50 niezbadanych dotychczas mieszańców oddalonych została wybrana ze szkółki owsa jarego prowadzonej na potrzeby tego tematu, liczącej w 2012 r 285 linii i ramszów, w tym 220 mieszańców z *A. macrostachya*. Selekcji dokonano ze szczególnym uwzględnieniem nowych kombinacji krzyżowań i linii blisko spokrewnionych z najlepszymi. Zestaw wybranych obiektów wysiano w szkółkach, na poletkach 0,5 m<sup>2</sup>, w trzech punktach doświadczalnych oraz w Radzikowie.

Linie w szkółkach zostały opisane pod względem ważniejszych cech agrotechnicznych. Zważono plony i opisano podstawowe cechy fizyczne ziarna: masę tysiąca ziaren (MTZ) i procentowy udział łuski lub udział ziaren oplewionych w owsie nagonasiennym.

Po skompletowaniu obłuszczonego (ręcznie) ziarna i uzyskaniu z niego wyników analiz spektrofotometrycznych stworzona zostanie baza do selekcji materiałów do następnej serii doświadczeń wielopunktowych.

Dla skumulowania pozytywnych cech i wzbogacenia materiałów owsa jarego w zmienność genetyczną cech jakościowych ziarna wykonano 32 krzyżowania z udziałem najlepszych linii mieszańców oddalonych.

Ponadto podejmowane są próby uzyskania sondy DNA specyficznej dla *A. macrostachya* przy wykorzystaniu techniki RDA (różnicowej analizy sekwencji genomowych). Sonda taka umożliwi udowodnienie introgresji obcego DNA a następnie wykazanie ew. związku tej introgresji ze zmianami fenotypowymi obserwowanymi w mieszańcach.

**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 *P. coronata* i mączniaka prawdziwego *B. graminis* f.sp. *avenae* spośród perspektywicznych form i materiałów owsa.

Materiał do badań w 2012 roku stanowiły perspektywiczne genotypy owsa z doświadczeń wstępnych oplewionych – 26 form, doświadczeń wstępnych nagonasiennych -9 form oraz z doświadczeń przedwstępnych oplewionych – 41 form wraz z wzorcem wrażliwości Jawor. W badaniach wzięło udział także 155 form owsa pochodzących z 3-ch rejonów uprawy. Ponadto badano 7 genotypów, które w roku ubiegłym charakteryzowały się wysoką odpornością na rdzę koronową w miejscowościach gdzie prowadzono doświadczenia. Ogółem w badaniach wzięło udział 238 genotypów owsa.

Przeprowadzono ocenę wyżej wymienionych form owsa w stadium siewek w szklarni, w kontrolowanych warunkach pod względem odporności na populację *P. coronata* i *B. graminis*.

Wiosną bieżącego roku w Grodkowicach, Kopaszewie i w Strzelcach wysiano materiał badawczy w formie szkółek wraz z wzorcami po 2 rządku z kontrolną wrażliwą odmianą Jawor. W sezonie wegetacyjnym w Grodkowicach i w Kopaszewie przeprowadzono w polu sztuczną inokulację rdzą koronową wszystkich genotypów owsa. Po inokulacji w wymienionych miejscowościach, oraz w Strzelcach w warunkach naturalnej infekcji, przeprowadzono obserwacje porażenia rdzą koronową. Materiał badawczy został także oceniony pod względem odporności na porażenie mączniakiem *B. graminis* w polu w warunkach naturalnej infekcji. Ocenę porażenia form owsa w stadium rośliny dorosłej obydwoma patogenami przeprowadzono w skali 9-cio stopniowej – gdzie 9 - wysoce odporny, 1- wysoce wrażliwy.

Wyniki oceny 76 genotypów owsa z doświadczeń wstępnych i przedwstępnych pod względem odporności w stadium siewek na populację *P. coronata* wskazują, że większość badanych form odznaczała się wrażliwością. Spośród badanych, 26 (34%) charakteryzowało się odpornością. W grupie 155 genotypów owsa pochodzących z 3-ch rejonów uprawy u 63 (ok. 41%) notowano odporność na populację rdzy koronowej.

Wszystkie biorące udział w doświadczeniu, w roku bieżącym, genotypy owsa charakteryzowały się wrażliwością w stadium siewek na populację mączniaka *B. graminis*.

W omawianym roku sprawozdawczym obserwowano znaczne nasilenie rdzy koronowej we wszystkich 3 miejscowościach w których były prowadzone badania. Wyniki oceny porażenia rdzą koronową *P. coronata* form z doświadczeń wstępnych i przedwstępnych oplewionych przy zastosowaniu sztucznej inokulacji w Grodkowicach i Kopaszewie oraz wysokie współczynniki zmienności wskazują na znaczne zróżnicowanie badanego materiału pod względem odporności. Zakres porażenia badanych genotypów w Grodkowicach wynosił 2–6 w skali 9-cio stopniowej, w Kopaszewie notowano porażenie w zakresie 1–7. W Strzelcach, w warunkach naturalnej infekcji, przy sprzyjających warunkach pogodowych zakres porażenia wynosił 1–8. Ogółem spośród 76 form z wymienionych doświadczeń ponad 50% odznaczało się wysoką wrażliwością. Odporność notowano zaledwie u 1 genotypu w Grodkowicach, 17 w Kopaszewie i 8 w Strzelcach w czasie całego okresu wegetacyjnego.

W roku bieżącym nie notowano porażenia mączniakiem *B. graminis* badanych genotypów owsa w Kopaszewie i w Grodkowicach (w tej miejscowości tylko jedna forma uległa średniemu porażeniu), zapewne nie pozwoliły na to warunki pogodowe. W niewielkim nasileniu na badanych rodach choroba wystąpiła w Strzelcach, zakres porażenia wynosił 5–9. W żadnej miejscowości, gdzie prowadzono badania nie notowano form wrażliwych. W Grodkowicach tylko 1 forma wykazała średnią odporność - porażenie w stopniu 6. Zróżnicowanie reakcji na porażenie tym patogenem obserwowano w Strzelcach gdzie 53 genotypy odznaczały się średnią odpornością - porażenie w stopniu 5 i 6, do wysoce odpornych zaliczono 23 formy.

Spośród 155 genotypów owsa z 3-ch rejonów uprawy, wysoką odpornością na rdzę koronową odznaczały się 33 genotypy w Grodkowicach oraz 37 w Kopaszewie w warunkach sztucznej inokulacji, przy czym w Kopaszewie 84 formy (54%) zaliczono do wysoce wrażliwych. W Strzelcach, w warunkach naturalnej infekcji, w tej grupie genotypów wysoką odporność notowano u 35 form, 72 formy (46,5%) charakteryzowały się wysoką wrażliwością.

Przeprowadzona ocena materiału badawczego owsa w roku sprawozdawczym w trzech miejscowościach pozwoliła na wyodrębnienie 6 genotypów owsa z doświadczeń wstępnych i przedwstępnych o średniej odporności połowej na rdzę koronową (*P. coronata*), przy czym genotypy te odznaczają się także odpornością w stadium siewki.

Podobnie jak w przypadku form z doświadczeń wstępnych w Kopaszewie i Grodkowicach (z wyjątkiem jednej) nie notowano znacznego porażenia mączniakiem. Zróżnicowanie reakcji na porażenie tym patogenem obserwowano jedynie w Strzelcach, gdzie 15 genotypów odznaczało się wysoką wrażliwością - porażenie w stopniu 4 i poniżej. Wysoką odporność - w stopniu 7-9 obserwowano u 65 form.

W roku sprawozdawczym wysiano, w polu w formie kolekcji źródeł odporności w Krakowie, 7 genotypów owsa, które odznaczały się odpornością w latach 2010 i 2011. Wszystkie charakteryzowały się wysoką odpornością połową na rdzę koronową w warunkach sztucznej inokulacji także w roku bieżącym. Warto zaznaczyć, że wśród wyżej wymienionych genotypów, większość charakteryzowała się także odpornością na mączniaka.

Badania odporności, genotypów owsa będą kontynuowane w kilku miejscowościach w roku przyszłym, umożliwi to sprawdzenie czy ich odporność jest trwała w czasie i efektywna w różnych środowiskach.

Tegoroczne i poprzednie badania potwierdzają, że rdza koronowa i mączniak występują na materiałach owsa corocznie z mniejszym lub większym nasileniem w zależności od warunków pogodowych. Równocześnie 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.

**Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 52.**

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

**Kierownik projektu: dr S. Spasibionek**

Kontynuowane są prace nad dalszymi zmianami składu kwasów tłuszczowych tj. nad uzyskaniem oleju rzepakowego typu HO (ang. high oleic) o podwyższonej zawartości kwasu oleinowego (do 80%) oraz o obniżonej zawartości kwasów linolowego i linolenowego w stosunku 1:1 (do 7%), posiadającego wysokie właściwości prozdrowotne oraz nad uzyskaniem naturalnie stabilnego oleju rzepakowego typu HOLL (ang. high oleic and low linolenic) o wysokiej zawartości kwasu oleinowego (około 75%) i obniżonej zawartości kwasu linolenowego (3-4%). Prowadzone są również badania nad dalszym obniżaniem zawartości związków antyżywnościowych - glukozyzolanów w celu zwiększenia wartości użytkowej nasion rzepaku i uzyskiwanej z nich pełnowartościowej śrutu.

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

W IHAR-PIB Oddział w Poznaniu metodą mutagenyzy chemicznej oraz hodowli rekombinacyjnej uzyskano kolekcję linii wsobnych mutantów, rekombinantów oraz linii podwojonych haploidów (DH) rzepaku ozimego o zróżnicowanej zawartości kwasów tłuszczowych w oleju nasion: typu HO o wysokiej zawartości kwasu oleinowego (około 78,4%) przy jednoczesnym obniżeniu zawartości kwasu linolowego (ok. 7,7%) i kwasu linolenowego (ok. 6,8%) oraz linii typu LL (ang. low linolenic) o niskiej zawartości kwasu linolenowego (ok. 2,8%) oraz kolekcję linii o ekstremalnie niskiej zawartości glukozyzolanów (poniżej 5  $\mu\text{M}/\text{g}^{-1}$  nasion) i wysokiej zawartości tłuszczu (ok. 49%). Uzyskane linie wsobne mutantów i rekombinantów oraz linie DH stanowią 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 są do wartościowych gospodarczo odmian oraz rodów.

W sezonie wegetacyjnym 2011/2012 przeprowadzono ocenę linii rzepaku ozimego wysianych na poletkach selekcyjnych oraz w doświadczeniach porównawczych. Wykonano ocenę najważniejszych cech gospodarczych tj. ocenę przetrwania, wczesności, wysokości roślin oraz plonu nasion.

W zebranych nasionach oznaczono zawartość tłuszczu (%) za pomocą szerokopasmowego analizatora magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR) firmy Newport Instruments Ltd. Zawartości kwasów tłuszczowych w oleju nasion oznaczano stosując chromatograf gazowy Agilent Technologies 6890N z kolumną kapilarną DB 23 30m, ID 025, grubość warstwy 0,25  $\mu\text{m}$ , wyposażony w integrator Chemstation. Analizy na zawartość i skład glukozyzolanów zostały wykonane metodą chromatografii gazowej pochodnych siliolowych desulfoglukozyzolanów. W metodzie tej do kalibracji chromatografu zastosowano wzorzec europejski CRM-366 o sumarycznej zawartości glukozyzolanów 12,1  $\mu\text{M}/\text{g}^{-1}$  nasion z tolerancją 0,8  $\mu\text{M}/\text{g}^{-1}$  nasion.

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

Nietypowy przebieg pogody z małą ilością opadów śniegu i niską temperaturą (do  $-22^{\circ}\text{C}$ ) w drugiej połowie stycznia i w pierwszej połowie lutego spowodował wymarzenie części roślin. Duża liczba opadów w miesiącu czerwcu opóźniła dojrzewanie (z powodu „młodzenia się” roślin) i zbiór. Nietypowy przebieg pogody w czasie wegetacji znacząco wpłynął na niskie plony oraz zaburzył właściwy przebieg syntezy kwasów tłuszczowych i gromadzenia się tłuszczu w nasionach.

**Badanie efektywności metod hodowli rekombinacyjnej z udziałem mutantów:**

W wyniku krzyżowania odmian polskich (Batory, Bazył, Bojan, Gara, Kana) i zagranicznych (Bristol, Cabriolet, Californium, Castille, Contact, Libomir, Lirajet, Lisek, Orkan, Viking) z liniami mutantów

o wysokiej zawartości kwasu oleinowego (do 80,0%) i niskiej zawartości kwasu linolenowego (do 1,0%) uzyskano rekombinanty pokoleń F<sub>13</sub>-F<sub>6</sub> charakteryzujące się wzrostem zawartości kwasu oleinowego w oleju nasion (od 76,5% do 79,3%) i obniżoną zawartością kwasów: linolowego i linolenowego odpowiednio (do 6,7%) i (do 6,6%). Zawartości sumy glukozydów i glukozydów alkenowych u badanych linii wahały się odpowiednio (5,3–15,7 μM g<sup>-1</sup>nasion) i (1,6–10,6 μM g<sup>-1</sup>nasion).

W celu zwiększenia wigoru roślin jak również pogłębienia i utrwalenia jeszcze większych zmian pożądanych kwasów tłuszczowych przeprowadzono jedno- (BC<sub>1</sub>) i dwukrotne (BC<sub>2</sub>) krzyżowania wsteczne z odmianami (Californium, Contact, Cabriolet, Libomir Viking). Uzyskano rekombinanty pokoleń F<sub>10</sub>-F<sub>6</sub> (BC<sub>1</sub>) i (BC<sub>2</sub>) typu HO wykazujące wzrost zawartości kwasu oleinowego w oleju nasion (do 79,1%) oraz obniżenie zawartości kwasów linolowego i linolenowego (odpowiednio do 6,2% i do 6,0%). Zawartości sumy glukozydów i glukozydów alkenowych u badanych linii wahały się odpowiednio (od 6,8 do 16,8 μM g<sup>-1</sup>nasion) i (od 3,1 do 13,5 μM g<sup>-1</sup>nasion).

#### **Metody hodowli rekombinacyjnej z udziałem genotypów o ulepszonych parametrach jakościowych:**

W celu podniesienia plenności linie o najwyższej zawartości kwasu oleinowego są systematycznie krzyżowane z wartościowymi odmianami. Z krzyżowań linii wysokooleinowych z odmianami polskimi (Lisek) i zagranicznymi (Contact, Californium i Viking) uzyskano rekombinanty liniowo-odmianowe pokolenia F<sub>11</sub> charakteryzujące się wysoką zawartością kwasu oleinowego (od 75,0 do 76,3%) oraz o ekstremalnie niskiej zawartości sumy glukozydów (od 1,2 do 4,9 μM g<sup>-1</sup>nasion) i niskiej zawartości sumy glukozydów alkenowych (od 0,5 do 1,0 μM g<sup>-1</sup>nasion).

W wyniku krzyżowań linii wysokooleinowych z liniami wysokotłuszczowymi oraz liniami o niskiej zawartości glukozydów uzyskano rekombinanty pokoleń F<sub>7</sub>-F<sub>4</sub> o wysokiej zawartości kwasu oleinowego (od 72,0 do 78,8%) i znacznie podwyższonej zawartości tłuszczu (do 54,4%) oraz o niskiej zawartości sumy glukozydów (od 1,8 do 10,3 μM g<sup>-1</sup>nasion) i bardzo niskiej zawartości sumy glukozydów alkenowych (od 0,5 do 5,8 μM g<sup>-1</sup>nasion).

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

W sezonie wegetacyjnym 2011/12 najlepsze 46 linii rekombinantów tj. 2 linie mieszańców (linie restorery, linie CMS), 16 rekombinantów uzyskanych w wyniku krzyżowań (międzyliniowych i liniowo-odmianowych) oraz 28 rekombinantów uzyskanych w wyniku krzyżowań odmian polskich i zagranicznych z liniami mutantów typu HO i z liniami mutantów typu LL oceniono w 2-ch doświadczeniach porównawczych PN1, PN2 pod względem składu kwasów tłuszczowych, zawartości glukozydów oraz cech agronomicznych. Doświadczenia założono w dwu miejscowościach.

Sporządzona synteza wyników dla 23 rekombinantów badanych w doświadczeniu PN1 wykazała, że plon nasion istotnie różnicował badane linie. Trzy linie plonowały powyżej, w tym jedna (45,2 dt ha<sup>-1</sup>) istotnie, w stosunku do odmiany wzorcowej Pamela (41,4 dt ha<sup>-1</sup>). Pod względem zawartości tłuszczu 3 linie (48,2–50,2%) istotnie przewyższały odmianę wzorcową Visby F1 (47,2%), natomiast odmianę Pamela (46,7%) - 11 linii (47,2–50,2%). Na podstawie uzyskanych wyników analiz składu kwasów tłuszczowych w oleju nasion stwierdzono, że badane linie mimo bardzo trudnych warunków pogodowych w okresie dojrzewania nasion utrzymały wysoką zawartość kwasu oleinowego (do 78,2%). Większość wybranych linii charakteryzowała się niską zawartością glukozydów.

Przeprowadzona synteza wyników dla 23 rekombinantów ocenianych w doświadczeniu porównawczym PN2 wykazała również istotne zróżnicowanie badanych obiektów pod względem plonowania. Trzy linie plonowały powyżej (plon od 39,7 do 41,6 dt ha<sup>-1</sup>) wzorcowej odmiany Chagall (plon 39,1 dt ha<sup>-1</sup>). Pod względem zawartości tłuszczu 5 linii (48,1–50,7%) istotnie przewyższało odmianę wzorcową Chagall (46,9%) natomiast odmianę Pamela (46,6%) 7 linii (47,4–50,7%). Badane linie utrzymały wysoką zawartość kwasu oleinowego w przedziale (od 71,9% do 78,6%).

Rody badane w doświadczeniach PN1 i PN2 pod względem cech: przezimowania, wczesności, długości kwitnienia i wysokości roślin były istotnie zróżnicowane.

Niekorzystny przebieg pogody z brakiem okrywy śnieżnej i wysokimi spadkami temperatur (do -21°C) w drugiej połowie stycznia i w pierwszej połowie lutego w Wielkopolsce spowodował znaczne wymarżnięcie roślin. Fakt ten odzwierciedla bardzo niską ocenę bonitacyjną przezimowania roślin. Zróżnicowane przezimowanie roślin w doświadczeniach PN1 i PN2 w Borowie umożliwiło



dotatkową selekcję linii pod względem tej cechy. Do dalszych badań wybrano 32 rekombinanty z udziałem mutantów utrzymujących wysoką zawartość kwasu oleinowego (od 75,1 do 79,9%) oraz 14 rekombinantów o ulepszonych parametrach jakościowych tj. o niskiej zawartości sumy glukozyzolanów ( $3,9-10,3\mu\text{M g}^{-1}$  nasion), niskiej zawartości sumy glukozyzolanów alkenowych ( $1,0-5,8\mu\text{M g}^{-1}$  nasion) oraz o wysokiej zawartości kwasu oleinowego (72,6–78,8%).

#### Najważniejsze osiągnięcia:

Uzyskano genotypy wysokooleinowe rzepaku ozimego o wysokim plonowaniu tj. trzy linie plonowały powyżej, w tym jedna ( $45,2\text{ dt ha}^{-1}$ ) istotnie, w stosunku do odmiany wzorcowej Pamela ( $41,4\text{ dt ha}^{-1}$ ) oraz trzy linie plonowały (plon od  $39,7$  do  $41,6\text{ dt ha}^{-1}$ ) powyżej wzorcowej odmiany Chagall (plon  $39,1\text{ dt ha}^{-1}$ ).

Poszerzono pulę genetyczną o wyselekcjonowane linie charakteryzujące się: ekstremalnie niskimi zawartościami sumy glukozyzolanów (do  $1,2\mu\text{M g}^{-1}$  nasion) i glukozyzolanów alkenowych (do  $0,5\mu\text{M g}^{-1}$  nasion); wysokimi zawartościami kwasu oleinowego (do 79,9%), obniżonymi zawartościami kwasów linolowego (do 6,2%) i linolenowego (do 5,6%) oraz znacznie podwyższonymi zawartościami tłuszczu (do 54,4%).

### **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 ulepszonych 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. Rozpoczęto badania celem szybkiego wytworzenia linii CMS *ogura* i linii restorerów o zmienionych cechach jakościowych z wykorzystaniem metod biotechnologicznych.

W sezonie wegetacyjnym 2011/2012 w warunkach szklarniowych wykonano krzyżowania pomiędzy 16 liniami CMS *ogura* pokolenia BC<sub>8</sub> (uzyskanymi w wyniku kolejnych wstecznych krzyżowań 3 linii CMS *ogura* z liniami rzepaku podwójnie ulepszonych pokolenia F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub>, F<sub>4</sub>, F<sub>5</sub>, F<sub>6</sub>, F<sub>7</sub>, o wysokiej zawartości tłuszczu w nasionach od 46,4 do 50,2% oraz kwasu oleinowego od 77 do 80,4%) i otrzymanymi z Pracowni Hodowli Jakościowej 10 wysokoplennymi liniami rzepaku pokolenia F<sub>9</sub> o zawartości glukozyzolanów w nasionach od 3,5 do 8,6  $\mu\text{mol g}^{-1}$  nasion oraz kwasu oleinowego od 77,0 do 80,2%.

Zawartość kwasu oleinowego dla nasion 28 linii męskosterylnych typu *ogura* pokolenia BC<sub>9</sub> wahała się od 79,2 do 83,5%, średnia zawartość wynosiła 82,0%, natomiast kwasu linolenowego od 4,4% do 6,7%.

Sezon wegetacyjny 2011-2012 był kolejnym sezonem z niekorzystnym układem warunków meteorologicznych, które wpłynęły na ograniczenie zbioru rzepaku. Silne mrozy występujące na przełomie stycznia i lutego, przy braku dostatecznej okrywy śnieżnej chroniącej rośliny przed nadmiernym wychłodzeniem, spowodowały 50% wymarznienia. W efekcie tego niekorzystnego zbiegu okoliczności zaizolowano i zebrano nasiona z 480 pojedynczych z liczby 900 początkowo planowanych izolacji.

Jesienią 2011 r. trzy linie CMS *ogura* pokolenia BC<sub>7</sub> o wysokiej zawartości tłuszczu w nasionach oraz kwasu oleinowego wysiano w układach z 6 restorerami o zmienionym składzie kwasów tłuszczowych, w celu wytworzenia nasion 18 mieszańców testowych pokolenia F<sub>1</sub> o nowych cechach jakościowych. Jesienią 2012 roku z 15 mieszańcami testowymi pokolenia F<sub>1</sub> oraz ich komponentami rodzicielskimi założono doświadczenie polowe w dwóch miejscowościach w celu określenia zjawiska efektu

heterozji cech ilościowych i jakościowych u form o zmienionym składzie kwasów tłuszczowych i podwyższonej zawartości tłuszczu w nasionach.

W ramach poszerzania puli linii restorerów o podwyższonej zawartości kwasu oleinowego i obniżonej zawartości kwasu linolowego badano populację roślin pokolenia F<sub>5</sub>, będącą rozmnożeniem 13 rekombinantów pokolenia F<sub>4</sub>, uzyskanego w wyniku krzyżowania 4 plennych linii restorujących z linią mutanta o zmienionym składzie kwasów tłuszczowych. Dla 15 rekombinantów z allelami genu restorera pokolenia F<sub>5</sub> stwierdzono wzrost zawartości kwasu oleinowego w oleju powyżej wartości średniej dla całej populacji, która wynosiła 77,2%. Natomiast obniżeniu uległa zawartość kwasu linolenowego w zakresie od 6,2 do 9,8% przy średniej zawartości 7,7%. Zawartość glukozyolanów w analizowanych nasionach wahała się od 4,4 do 13,7  $\mu\text{mol g}^{-1}$  nasion, średnia zawartość glukozyolanów wyniosła 8,2  $\mu\text{mol g}^{-1}$  nasion.

W 2009 roku, w wyniku wykonanego krzyżowania pomiędzy 9 restorerami o zawartości kwasu oleinowego powyżej 80% i wysokiej zawartości tłuszczu w nasionach, wyselekcjonowanymi w pokoleniu F<sub>3</sub> i 5 liniami DH<sub>2</sub> o zawartości kwasu oleinowego od 80,4% do 81,3% i wysokiej zawartości tłuszczu w nasionach, uzyskano nową pulę 39 rekombinantów z allelami genu restorera pokolenia F<sub>1</sub>. W sezonie sprawozdawczym 2011/2012 na poletkach rozmnożeniowych ponownie wysiano 14 rekombinantów pokolenia F<sub>2</sub>, które wymarły w poprzednim sezonie 2010/11. Również w sezonie wegetacyjnym 2011/2012 prowadzono obserwację i selekcję wśród 65 rekombinantów pokolenia F<sub>3</sub>. Analizy chemiczne wykonano dla nasion uzyskanych z 208 izolowanych pojedynków. Dla 109 rekombinantów F<sub>3</sub> stwierdzono wzrost zawartości kwasu oleinowego w oleju powyżej wartości średniej dla całej populacji, która wynosiła 75,5%. Natomiast obniżeniu uległa zawartość kwasu linolenowego w zakresie od 5 do 11,0% przy średniej zawartości 8,3%. Zawartość glukozyolanów w analizowanych nasionach wahała się od 1,1 do 17,7  $\mu\text{mol g}^{-1}$  nasion, średnia zawartość glukozyolanów wyniosła 8,8  $\mu\text{mol g}^{-1}$  nasion.

W roku 2010 w szklarni wykonano cykl krzyżowań 10 rekombinantów z allelami genu restorera pokolenia F<sub>1</sub> z 4 mieszańcami F<sub>1</sub> (♀ DH<sub>2</sub> x ♂ odmiany) o zmienionym składzie kwasów tłuszczowych, otrzymanymi z Pracowni Hodowli Jakościowej. Uzyskana populacja 23 rekombinantów pokolenia F<sub>2</sub> była przedmiotem badań i selekcji w roku 2012. W tym celu zaizolowano 120 roślin produkujących pyłek, z tego do analiz chemicznych zebrano nasiona z 86 pojedynków. Nasiona rekombinantów pokolenia F<sub>2</sub> charakteryzowały się zawartością kwasu oleinowego w zakresie od 70,3 do 78,9%, kwasu linolenowego od 6,2 do 10,7% i glukozyolanów od 2,6 do 13  $\mu\text{mol g}^{-1}$  nasion.

W roku 2011 w szklarni wykonano nowy cykl krzyżowań 6 rekombinantów z allelami genu restorera pokolenia F<sub>3</sub> o podwyższonej zawartości kwasu oleinowego z 8 podwojonymi haploidami o zmienionym składzie kwasów tłuszczowych oraz niską zawartością glukozyolanów, otrzymanymi z Pracowni Hodowli Jakościowej. Uzyskana populacja 12 rekombinantów pokolenia F<sub>1</sub> była przedmiotem badań i selekcji w roku 2012. Nasiona 96 nowych rekombinantów pokolenia F<sub>1</sub> charakteryzowały się zawartością kwasu oleinowego w zakresie od 71,1 do 77,8%, kwasu linolenowego od 6,8 do 10,3% i glukozyolanów od 5 do 12,8  $\mu\text{mol g}^{-1}$  nasion.

Uzyskane w sezonie wegetacyjnym 2011/2012 wyniki, umożliwiły opracowanie charakterystyki cech jakościowych dla 40 rekombinantów z allelami genu restorera pokolenia F<sub>5</sub>. Stwierdzono wyraźną stabilizację składu kwasów tłuszczowych dla linii restorerów z podwyższoną zawartością kwasu oleinowego (od 72,2 do 81%) i obniżoną zawartością kwasów: linolowego (od 5,9 do 12,2%) i linolenowego (od 6,2 do 9,8%). Wyselekcjonowane restorery cechują się niską zawartością glukozyolanów (od 4,4 do 13,4  $\mu\text{mol g}^{-1}$  nasion).

Natomiast 28 męskosterylnych linii typu *ogura* o zmienionym profilu kwasów tłuszczowych, uzyskanych w efekcie dziewięciokrotnego krzyżowania wstecznego, może być już w pełni wykorzystane, jako komponenty mateczne, do tworzenia zrestorowanych mieszańców testowych.

## **Zadanie 2:**

Indukcja androgenezy genotypów rzepaku ozimego charakteryzujących się niską frekwencją indukowanej androgenezy.

W roku 2012 metodą kultury izolowanych mikrospor, opracowaną w Pracowni Kultur Tkankowych, uzyskano łącznie 659 androgenicznych roślin z 20 dawców mikrospor rzepaku ozimego.

Obecnie około 919 zarodków mikrosporowych z 10 dawców znajduje się w trakcie regeneracji roślin androgenicznych w kulturze *in vitro*.

Ponadto zebrano nasiona ze 134 linii DH otrzymanych z trzech dawców rzepaku ozimego.

W prowadzonych badaniach z różnych dawców mikrospor rzepaku ozimego uzyskano zróżnicowane liczby roślin androgenicznych. Potwierdza to fakt, że wydajność androgenezę wiąże się ze zdolnościami genetycznymi do stymulacji mikrospor do podziałów lub indukcji konwersji zarodków w rośliny.

#### **Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 54.**

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

**Kierownik projektu: dr K. Michalski**

Zad. 1. Prace nad oznaczaniem tłuszczu w nasionach maku za pomocą spektrofotometru NIRS 6500:

Podjęto prace nad wdrożeniem oznaczania zawartości tłuszczu w małych próbkach nasion maku. Zeskanowano 75 próbek nasion, do których wykonana została analiza referencyjna. Otrzymany plik kalibracyjny posłużył do wykonania obliczeń kalibracyjnych. Otrzymana w wyniku tego dokładność pozwala na badanie zawartości tłuszczu w nasionach maku. Zaletą metody jest niewielka ilość próbki i nieniszczący system analizy.

Zad. 2. Wykonywanie analiz chemicznych niezbędnych do realizacji tematów badawczych oraz ulepszanie metod analitycznych:

Analizy rzepaku, gorczycy i maku dla potrzeb prac badawczych, razem wykonano:

- 14 tys. analiz zawartości tłuszczu (NMR),
- 2000 pomiarów za pomocą NIR (białko, tłuszcz, woda, glukozyolany, włókno),
- 6158 analiz składu kwasów tłuszczowych (w tym dla gorczycy 742) - analiza metodą chromatografii gazowej,
- 4875 analiz zawartości glukozyolanów - analiza metodą chromatografii gazowej,
- 943 analiz zawartości morfiny w makowinach (3 dla policji) - analiza spektrofotometryczna,
- 300 analiz zawartości alkaloidów w makowinach metodą chromatografii gazowej,
- 226 oznaczeń białka metodą Kjeldahla,
- 80 oznaczeń włókna NDF i ADF metodą van Soesta.

Najważniejsze osiągnięcie:

- wdrożenie metody analizy tłuszczu w niewielkich próbkach lnu metodą NIR.

#### **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**

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

Celem podjętych badań jest ocena zróżnicowania genetycznego w obrębie kolekcji linii, rodów i odmian *B. napus* dla utworzenia odrębnych pul genetycznych, które będą mogły być wykorzystywane w hodowli zarówno odmian populacyjnych jak i odmian mieszańcowych rzepaku ozimego.

Materiałem do badań były 42 linie rzepaku ozimego otrzymane w 2012 roku. Linie rzepaku oceniono na obecność genu restorera stosując marker RAPD OPC 02. Badanie zmienności genetycznej wykonano za pomocą 10 kombinacji starterów AFLP znakowanych fluorescencyjnie zgodnie z metodyką opracowaną przez Vos'a i in. (1995). Uzyskano 436 polimorficznych produktów amplifikacji, na podstawie, których obliczono wartość dystansu genetycznego. Dendrogram utworzony na podstawie markerów AFLP podzielił analizowane genotypy na dwie zasadnicze grupy. Wykonano obliczenie podobieństwa genetycznego łącznie dla zbadanych za pomocą tych samych starterów AFLP 191 linii w poprzednim roku i 42 linii rzepaku w roku sprawozdawczym.

### **Zad. 2. Badanie za pomocą markerów molekularnych frekwencji występowania genu restorera w populacjach rzepaku o zróżnicowanych cechach jakościowych:**

Materiał roślinny stanowiły linie restorery z genem *Rfo* oraz posiadające męsko-sterylną cytoplazmę typu *ogura*. Łącznie przeanalizowano 98 genotypów. Do każdej serii analiz włączano rośliny kontrolne: (1) linie hodowlane podwójnie ulepszone - nieposiadające genu *Rfo*, ani męsko-sterylnej cytoplazmy typu *ogura* (CMS *ogura*), (2) linie zrestorowanego mieszańca F<sub>1</sub>, posiadające cytoplazmę CMS *ogura* i gen *Rfo*.

Męsko-sterylną cytoplazmę typu *ogura* oraz gen restorer *Rfo* identyfikowano przy użyciu analizy 'multiplex PCR' (PCR wielokrotny), wykorzystując w jednej amplifikacji PCR trzy pary starterów specyficznych dla markerów SCAR, odpowiednio – dla genu restorera *Rfo*, CMS *ogura*, z włączeniem kontroli wewnętrznej - dla zachowawczej sekwencji kodującej genu konstytutywnego aktywny7 *B. napus*.

### **Zad. 3. Opracowanie warunków reakcji dla markera specyficznego dla genu warunkującego zawartość kwasu oleinowego w nasionach rzepaku:**

W Oddziale Poznańskim IHAR-PIB wytworzono dwa mutanty rzepaku ozimego o wysokiej zawartości kwasu oleinowego w nasionach (M10453 – HOR3 i M10464 – HOR4). Zespół badawczy z INRA w Le Rheu we Francji określił sekwencje genu *fad2* mutantów i form dzikich. Wyniki tych prac objęte są europejskim patentem. W bieżącym roku analizowano DNA 24 linii rzepaku przy użyciu nowego markera CAPS (marker kodominujący H3H4CoDom). Badano zarówno wyjściowe formy ze zmutowanym genem *fad2*, jak również wysokooleinowe linie uzyskane z krzyżowań pomiędzy tymi mutantami, a formami o fenotypie typu dzikiego. Jako kontrole negatywne, bez badanych mutacji genu *fad2*, zastosowano rekombinanty z krzyżowań odmiany Contact (inne źródło cechy wysokiej zawartości kwasu oleinowego) oraz odmianę Monolit. Wyizolowane DNA rzepaku poddano reakcji PCR w celu amplifikacji odcinka DNA o długości 732pz, stanowiącego fragment badanego genu *fad2*. Produkt reakcji PCR był następnie oczyszczany przy użyciu zestawu GeneJET™ PCR Purification Kit (Fermentas). Oczyszczony fragment DNA poddawano reakcji trawienia przy użyciu enzymu restrykcyjnego FspBI (Fermentas). Zaproponowany marker pozwala na jednoczesne wykrywanie obu wymienionych mutacji genu *fad2* oraz na odróżnienie alleli mutantów od alleli typu dzikiego, jak również umożliwia odróżnienie form homozygotycznych od form heterozygotycznych. Zgodnie z teoretycznymi założeniami w przeprowadzonych analizach możliwe jest uzyskanie 6-ciu podstawowych wzorów prążków: 732pz – homozygota typu dzikiego dla HOR3 i HOR4, 410pz + 322pz – homozygota typu zmutowanego dla HOR3 oraz homozygota typu dzikiego dla HOR4, 732pz + 410pz + 322pz – heterozygota dla HOR3 oraz homozygota typu dzikiego dla HOR4, 488pz + 244pz – homozygota typu dzikiego dla HOR3 oraz homozygota typu zmutowanego dla HOR4, 732pz + 488pz + 244pz – homozygota typu dzikiego dla HOR3 oraz heterozygota dla HOR4, 488pz + 410pz + 322pz + 244pz – heterozygota dla HOR3 i HOR4, gdy mutacje HOR3 i HOR4 znajdują się względem siebie w fazie odpychania. W badanych materiałach stwierdzono występowanie jedynie form homozygotycznych pod względem genu *fad2*. W sumie wykryto 6 homozygotycznych linii HOR3+ oraz 6 homozygotycznych linii HOR4+. Dla 3 linii nie uzyskano żadnego produktu reakcji PCR. Pozostałe 9 linii to homozygoty typu dzikiego pod względem obu mutacji.

**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 Pracowni Metod Hodowli Odpornościowej IHAR PIB w Poznaniu od wielu lat wykonywane są prace związane z mieszańcami międzygatunkowymi w obrębie plemienia *Brassicaceae*. W badaniach wykorzystywane są następujące komponenty do krzyżowań: *B. oleracea* – odmiany botaniczne, *B. napus*, *B. campestris*, *B. taurica*, *B. cretica*, *B. carinata*, a także *B. juncea*.

Zakres prac realizowanych w danym roku obejmował:

- Wytwarzanie mieszańców alloplazmatycznych techniką *in vitro*: przygotowanie roślin rodzicielskich w warunkach fitotronowych, krzyżowanie międzygatunkowe, izolowanie zarodków mieszańcowych, klonowanie *in vitro* pokolenia F<sub>1</sub> mieszańców międzygatunkowych.
- Badania polowe odporności rzepaku na suchą zgniliznę kapustnych w celu wyboru komponentów rodzicielskich do krzyżowań międzygatunkowych. Odszukanie genotypów z plemienia *Brassicaceae* odpornych na porażenie powodowane przez kiłę kapuścianą - *Plasmodiophora brassicae*.
- Izolowanie oraz sprawdzenie patogeniczności nowych patotypów *Leptosphaeria* spp. niezbędnych do przeprowadzenia testów odpornościowych.

Otrzymywano mieszańce międzygatunkowe techniką *in vitro* poprzez krzyżowanie spokrewnionych gatunków z plemienia *Brassicaceae*. Wykonano łącznie ponad 80 krzyżowań z których wypreparowano 90 żywych zarodków. W obrębie nowych przekrzyżowań międzygatunkowych otrzymano rośliny z następujących najważniejszych kombinacji: [(Kapusta biała x Brukselka) x *B. oleracea* (SŁ)] x [*B.o.* (jar.) x *B.taurica*] – 35 zarodków, {(Roki x 42) x [(40 x 21ż) x Lisek]} x *B. campestris* – 3 zarodki, (33ż x 4ż) x *B. campestris* - 12 zarodków, [*B.o.* (jar.) x *B.taurica*] x [CMSogu 1398/09 x *B. juncea*] - 14 zarodków, [(*B.o.* (jar.) x *B. taurica*) x (*B.o.* x 111 SŁ/10)] x [Brukselka x *B. cretica*] – 10 zarodków. 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* spp. W większości przypadków izolowane zarodki były w stadium torpedalnym, obecnie namnażane są przy użyciu klonowania w kulturach *in vitro*. Po testach odpornościowych na patogeny grzybowe z rodzaju *Leptosphaeria* (w 2012 roku), do dalszych krzyżowań międzygatunkowych wyselekcjonowano kolejne odporne gatunki z plemienia *Brassicaceae*: *B. oleracea*, *B. nigra*, *B. juncea*, *B. cretica*, *B. taurica*. Dołączono także nowe komponenty krzyżówkowe w obrębie *B. oleracea* (łącznie 45 roślin): *B. oleracea* jarmuż x *B. taurica* - 15 roślin; *B. oleracea* jarmuż x *B. taurica* – 9 roślin; *B. oleracea* kapusta brukselska x *B. napus* - 6 roślin; *B. oleracea* kapusta biała x *B. oleracea* kapusta brukselska - 1 roślina; *B. taurica* x *B. napus* - 3 rośliny.

Prowadzono badania w warunkach polowych 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, Małyszynie, a także wybrane odmiany z okolic 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 0,05). Równocześnie odnotowano brak istotnych różnic wyników plonu nasion w doświadczeniu PN-5. W warunkach polowych, łącznie w 3 miejscowościach, oceniono 15 tys. roślin na odporność rodów hodowlanych rzepaku ozimego (w doświadczeniach DW1, DW2 oraz PN-5). Najodporniejsze i najwyżej plonujące z rodów zostaną użyte jako komponenty ojcowskie w programie badań nad mieszańcami międzygatunkowymi. Po selekcji pojedynczych roślin z cytoplazmą kapust na zdrowotność, obniżoną zawartość związków antyżywnościowych, założono powtórnie doświadczenie polowe z nowymi komponentami w Małyszynie w celu sprawdzenia ich plonu i odporności na porażenie powodowane przez patogeniczne grzyby z rodzaju *Leptosphaeria* spp.

Izolowano nowe patotypy *Leptosphaeria* spp. niezbędne do przeprowadzenia testów odpornościowych i porównano sekwencję DNA ITS2 badanego gatunku do obiektu wzorcowego *L. maculans* (informacja o przynależności gatunkowej, NCBI / BLAST). Każdorazowo wyizolowane nowe

patotypy *Leptosphaeria* spp. poddawane są sekwencjonowaniu w celu stwierdzenia ich czystości gatunkowej, następnie stosowane są do sprawdzania odporności rzepaku. Izolaty określonych gatunków grzybów *Leptosphaeria* spp. (*L. maculans* i *L. biglobosa*) po rozpoznaniu ich patogeniczności, zostały włączone do zestawu testowego złożonego z mieszaniny wybranych patotypów.

Poszukiwano genotypów z płemienia *Brassicaceae* odpornych na porażenie powodowane przez kiłę kapuścianą - *Plasmiodiophora brassicae*. Przeprowadzono atestację odporności mieszańców międzygatunkowych z rodzaju *Brassicae* na porażenie powodowane przez *P. brassicae* Woronin przy użyciu kultur hydroponicznych. Do badań użyto 8 genotypów wybranych mieszańców międzygatunkowych z rodzaju *Brassicae* oraz 4 odmiany rzepaku ozimego. Rośliny z kombinacji krzyżówkowych otrzymano w oparciu technikę izolowanych zarodków *in vitro*. Atestację odporności na *P. brassicae* przeprowadzono w kulturach hydroponicznych dla następujące obiektów:

- *B.oleracea acephala* x *B. taurica*,
- *B. napus* Yellow seed x *Eruca sativa*,
- 303/05 *B. taurica* x *B. cretica*,
- *B. taurica* x *B. napus*,
- *B. napus* (CMS ogu) x *B. campestris*,
- (8033 *B. napus* x *B. juncea*) x *B. rapa*,
- *B. napus* x *B. campestris*,
- *B. oleracea acephala* x *B. napus*,
- *B. napus* Tosca,
- *B. napus* Mendel I,
- *B. napus* Mendel II,
- *B. napus* Alister.

W badaniach wykorzystano dwie rasy patogena IGR PAN, 33 oraz 110 zróżnicowanych na podstawie analiz DNA. Najodporniejsze po testach hydroponicznych okazały się mieszańce międzygatunkowe: *B. oleracea acephala* x *B. taurica* i *B. napus* Yellow seed x *Eruca sativa* oraz jedna odmiana rzepaku ozimego *B. napus* Tosca. Najsilniejsze porażane odnotowano dla 303/05 *B. taurica* x *B. cretica* oraz *B. napus* Mendel I. Powyższa metoda jest stosunkowo prosta i może zostać wykorzystana w hodowli odpornościowej rzepaku i kapusty jako pierwszy test wskazujący ich odporność na porażenie powodowane przez *P. brassicae* Woronin.

#### **Najważniejsze osiągnięcia:**

- Wykonano łącznie ponad 80 krzyżowań międzygatunkowych, z których wypreparowano do warunków *in vitro* 90 żywych zarodków.
- Uzyskano po raz pierwszy nowe mieszańce międzygatunkowe po testach odpornościowych na patogeny grzybowe z rodzaju *Leptosphaeria* spp. Do dalszych krzyżowań międzygatunkowych wyselekcjonowano kolejne odporne gatunki z płemienia *Brassicaceae*: *B. oleracea*, *B. nigra*, *B. juncea*, *B. cretica*, *B. taurica*.
- Testowano odporność w doświadczeniach: z formami alloplazmatycznymi oraz DW1 i DW2. Oceniono ponad 12 tys. roślin na porażenie przez *Leptosphaeria* spp. i na podstawie otrzymanych wyników wybrano najodporniejsze.
- W badaniach nad kiłą kapusty po raz pierwszy badano w hydroponikach rośliny mieszańców międzygatunkowych oraz wybranych odmian rzepaku. Potwierdzono przydatność testu hydroponicznego do badań nad odpornością roślin z płemienia *Brassicaceae* oraz wskazano najodporniejsze genotypy.

#### **Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 57.**

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

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

Rzepak resyntetyzowany (RS) otrzymano w wyniku krzyżowania kapusty chińskiej i jarmużu (*Brassica rapa* ssp. *chinensis* var. *chinensis* i *Brassica oleracea* ssp. *acephala* var. *sabellica*).

W Pracowni Heterozji wykorzystano je jako zapylacze do krzyżowań z liniami DH z genem restorerem. Z trzech mieszańców  $F_1$ : 1202/3 x RS 2=12r, 1215/4 x RS 2=17r, 1229.2xRS 3=29r uzyskano podwójne haploidy (DH), metodą izolowanych mikrospor w kulturze *in vitro*. Przy pomocy markera genu restorera *Rfo* wyselekcjonowano rośliny androgeniczne z genem restorerem rzepaku RS. Haploidom podwajano liczbę chromosomów przy pomocy kolchicyny. Uzyskane rośliny po jaryzacji rozwijały się w szklarni. W zebranych nasionach z kilkunastu linii DH semi-RS wykonano analizy składu kwasów tłuszczowych oraz glukozydów. Nasiona pozostałych linii DH semi-RS wysiano w celu rozmnożenia.

Otrzymane linie DH rzepaku semi-RS charakteryzowały się bardzo zróżnicowanym składem kwasów tłuszczowych i sumą glukozydów. Jednak możliwe było wyselekcjonowanie dwóch linii DH rzepaku semi-RS z genem *Rfo* o jakości rzepaku podwójnie ulepszanego, zeroerukowe o niskiej zawartości glukozydów

Na podstawie 15 markerów molekularnych RAPD wykonano dendrogram podobieństwa linii DH rzepaku semi-RS z genem *Rfo* - S1 i S2, mieszańca (RS2/4 x DHR), z którego uzyskano linie androgeniczne oraz linii rodzicielskich tego mieszańca RS2/4 oraz DHR oraz innych linii rzepaku podwójnie ulepszanego. Linie DH semi-RS z genem *Rfo* S1 i S2, o jakości rzepaku dwuzerowego, wykazują odrębność genetyczną w stosunku do siebie jak i innych linii rzepaku podwójnie ulepszanego. Linie S1 i S2 zostały wysiane w doświadczeniu polowym w celu oszacowania ich fenotypu.

#### **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**

W ramach poszukiwania genotypów o zwiększonych zdolnościach adaptacyjnych badaniami objęto pięć serii doświadczeń polowych założonych w trzech powtórzeniach w sześciu miejscowościach w różnych warunkach agroklimatycznych. W doświadczeniach polowych I, III i IV brały udział 23 wybrane linie rzepaku ozimego pochodzące z różnych stacji hodowlanych oraz dwa wzorce - Chagall i Pamela, w doświadczeniu II - 24 zrestorowane mieszańce  $F_1$  i odmiana Artoga jako wzorzec, w doświadczeniu V - 23 zrestorowane mieszańce  $F_1$  oraz dwie odmiany wzorcowe - Artoga i Visby. Opracowano charakterystyki linii biorących udział w doświadczeniach I–IV w trzech miejscowościach, doświadczenie V - w dwóch miejscowościach. W tabelach zebrano informacje na temat plonowania badanych linii, bonitacyjnej oceny stanu roślin jesienią i wiosną, wczesności kwitnienia (na podstawie liczby dni od początku roku do początku kwitnienia), końca i długości kwitnienia oraz wysokości roślin. 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. Dla każdego doświadczenia, miejscowości i każdej badanej cechy podano:

- średnie wartości uzyskane dla każdej cechy,
- osiągnięte w doświadczeniu maksimum i minimum,
- obliczony współczynnik zmienności wyrażony w %,

Na podstawie wykonanej analizy wariancji testowano  $F_{obl}$  na poziomie  $\alpha = 0,05$  i  $0,01$ , na podstawie ogólnej analizy wariancji testowano interakcję genotypów ze środowiskiem  $F_{obl}$  na poziomie  $\alpha = 0,05$  i  $0,01$ . W celu porównania uzyskanych wyników wartości badanych cech wyrażono także w % wzorców biorących 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 liniami zależą

od środowiska, w którym to porównanie ma miejsce. Szczegółowa analiza testowania linii rzepaku ozimego i mieszańców  $F_1$  i ich interakcji ze środowiskami objętymi doświadczeniami dostarcza pełniejszych informacji o genotypach.

Przedstawiono wyniki poszczególnych genotypów w kolejnych doświadczeniach:

- średni uzyskany plon,
- ocenę efektu głównego, tzn. odchylenie od średniej ogólnej,
- wartość statystyki F dla efektu głównego,
- wielkość interakcji genotypowo-środowiskowej mierzoną statystyką F,
- współczynnik regresji interakcji względem środowiska,
- wartość statystyki F dla tej regresji.

Na podstawie istotności współczynników regresji wskazano genotypy, które uzyskując wysokie przeciętne plony są równocześnie dobrze plonującymi we wszystkich środowiskach - są genotypami stabilnymi, ich plonowanie w małym stopniu zależy od zmiany warunków środowiska.

Przeprowadzono również analizy statystyczne wyników oceny odporności rzepaku ozimego na porażenie przez *Sclerotinia sclerotiorum*. Do badań wykorzystano wyniki oceny odporności przeprowadzone na doświadczeniach I i II w dwóch miejscowościach przez dr. hab. Michała Starzyckiego. Przedstawiono indeks porażenia w każdej miejscowości i średni z dwóch miejscowości, a także ocenę efektu głównego, wartość statystyki F dla efektu głównego oraz statystykę F dla interakcji. Wyniki pokazały, że choć w każdej miejscowości stwierdzono istotną różnicę między badanymi liniami to po wykonaniu zbiorczej analizy wariancji doświadczeń z obu środowisk nie stwierdzono różnic między genotypami. W obu przypadkach wystąpiła natomiast istotna różnica między środowiskami.

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. W pracy przedstawiono pięć dendrogramów linii i mieszańców  $F_1$  rzepaku ozimego.

**Badanie efektywności selekcji na podstawie doświadczeń polowych z rzepakiem ozimym** o różnej liczbie powtórzeń wykonano na podstawie dwóch serii doświadczeń prowadzonych w czterech powtórzeniach w latach 2008/2009 i 2009/2010 w sześciu miejscowościach. Do oceny badanych rodów posłużyło syntetyczne opracowanie wyników plonowania w oparciu o ogólną analizę wariancji, na podstawie której oceniono błąd doświadczenia, określono zmienność genotypów, zmienność środowisk oraz interakcję genotypów ze środowiskiem. Średni kwadrat dla błędu doświadczalnego mieścił się w zakresie od 3,20 do 6,12 .

Następnie ten sam zestaw danych poddano ponownie ogólnej analizie wariancji usuwając jedno powtórzenie (otrzymano w ten sposób cztery warianty doświadczeń 3-powtórzeniowych) oraz dwa powtórzenia (analizowano trzy warianty doświadczeń 2-powtórzeniowych). Otrzymano w ten sposób wyniki doświadczeń takie, jakie uzyskano by na podstawie tylko trzech lub dwóch powtórzeń.

Porównywano średni kwadrat dla błędu doświadczalnego, indywidualne testowanie badanych genotypów. Dla zbadania zgodności wyników średnich plonów uzyskanych na podstawie doświadczeń 4-, 3- i 2-powtórzeniowych policzono współczynniki korelacji pomiędzy wariantami doświadczeń.

W pracy sprawdzano również, czy w przypadku selekcji dokonanej na podstawie trzech lub dwóch powtórzeń uzyska się te same rody, co dla doświadczeń 4-powtórzeniowych. Uzyskano dużą zgodność w przypadku doświadczeń 3-powtórzeniowych. Wyniki w postaci publikacji są przygotowane do druku w czasopiśmie *Rośliny Oleiste – Oilseed Crops*, tom XXXIII.

W roku sprawozdawczym podjęto **badania nad występowaniem konkurencji roślin między poletkami doświadczalnymi u rzepaku**. Uzyskiwanie linii i rodów rzepaku ozimego o pożądanych właściwościach, szczególnie o zwiększonym plonowaniu, związane jest z długotrwałymi i czasochłonnymi pracami badawczymi i hodowlanymi. Wymaga też między innymi precyzyjnego wyznaczenia plonu nasion w doświadczeniach polowych. Należy zatem eliminować zmienność blokową w każdym doświadczeniu, a także zmienność spowodowaną różnymi warunkami siedliskowymi i klimatycznymi w miejscowościach, w których prowadzone są doświadczenia. Konieczne jest także uwzględnianie zjawiska konkurencji między roślinami rosnącymi na



sąsiadujących poletkach. Występowanie konkurencji u rzepaku jest znaczące, co potwierdziły obliczenia oparte na zastosowaniu metody regresji dwóch zmiennych. Jedną z nich stanowiły skorygowane (z uwagi na zmienność glebową i zmienność środowiskową – miejscowości) wielkości plonu z kolejnych poletek; natomiast drugą zmienną tworzyły średnie i wartości plonu z poletek sąsiadujących. Obliczenia wykonano dla czterech doświadczeń założonych w kilku miejscowościach. Otrzymane wysoce istotne współczynniki regresji potwierdzają duży wpływ zjawiska konkurencji na wysokość plonu nasion rzepaku ozimego uzyskiwanego z poletek doświadczalnych. Wyniki zostaną opublikowane w czasopiśmie *Rośliny Oleiste – Oilseed Crops*, t. XXXIII.

#### **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**

#### **Zakres realizowanych prac:**

- Prowadzono rozmnożenia 567 klonów w warunkach polowych.
- W doświadczeniu polowym oceniano cechy użytkowe 45 klonów porównując je do 3 odmian wzorcowych.
- Przeprowadzono ocenę odporności na wirus M dla 22 klonów; w przypadku wirusa Y stosowano identyfikację form odpornych stosując marker molekularny.
- Prowadzono w polu 700 siewek, których odporność na zarazę ziemniaka pochodzi z różnych źródeł.
- Dla badania zdolności kombinacyjnej odmian/klonów jadalnych przydatnych do upraw ekologicznych i niskonakładowych względem wybranych cech jakościowych i odpornościowych w sezonie wegetacyjnym przeprowadzono doświadczenia polowe w celu oceny tych cech. Jednostki wykonujące zadanie zlokalizowane są w różnych środowiskach glebowo-klimatycznych.

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

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

Zad.1. Analiza związków pomiędzy cechami jakości, a odporności na patogeny w puli genetycznej ziemniaka uprawnego

#### ***Charakterystyka materiału roślinnego***

W puli materiałów ziemniaka tetraploidalnego analizowane są związki genetyczne pomiędzy cechami odporności (odporność na zarazę ziemniaka), a wybranymi cechami użytkowymi (długość wegetacji, wczesny plon i morfologia bulw). Prace te są kontynuacją doświadczeń z lat poprzednich i związki te są oceniane dla 4 potomstw. Podobnie jak w roku ubiegłym prowadzono w polu 253 klony, które porównywano do odmian wzorcowych Miłek, Satina, Tajfun.

W sezonie wegetacyjnym przeprowadzono standardowy opis roślin (zdrowotność i morfologia roślin) oraz test listkowy dla oceny ich odporności na zarazę ziemniaka. Na podstawie testu listkowego stwierdzono:

- występowanie form, które uległy porażeniu (w testach 2010 i 2011 reagowały jak formy odporne). Średnia wartość dla potomstw PS-1761 × 04-IX-21 i Batja × 04-IX-4 była niższa niż w 2011 r.;

- występowanie form odpornych, które reagowały jak podatne w testach 2010 i 2011 – tylko w potomstwie Russian Suvienir × 04-IX-21 (średnia wartość wyższa niż w roku ubiegłym).

Korelacja pomiędzy ocenami z 2011 i 2012 nie była bardzo silna, gdyż współczynnik korelacji wyniósł  $r=0,70$  ( $P<0,01$ ).

W przypadku potomstwa R9 × PS-1763, w którym segreguje gen odporności R9 korelacja ocen pomiędzy obydwojema latami badań była niska ( $r=0,27$ ,  $P<0,05$ ), a średnia ocena w teście listkowym nieco wyższa niż poprzednio. Rozkład ocen odporności wskazywał na występowanie form odpornych, które w poprzednich testach reagowały jak podatne.

Po zbiorze oceniono plon, zawartość skrobi oraz morfologię bulw. Klony z czterech badanych kombinacji plonowały niżej (średni plon 1,3 kg/krzak), miały niższy udział plonu handlowego (82%) oraz wyższą zawartość skrobi (17,3%) niż odmiany wzorcowe (odpowiednio 1,72 kg/krzak, 97% i 14,5%). Niższa była również średnia ocena wielkości bulw (5,3), natomiast regularność zarysu i głębokość oczek oceniono wyżej (6,1 i 6,2) niż dla odmian wzorcowych (odpowiednie wartości to 6,3, 6,0 i 5,7).

Dla cech określających przydatność kulinarną bulw dane pochodzą z doświadczenia polowego 2011 r. Stwierdzono, że oceny smakowitości i ciemnienia bulw gotowanych dla odmian wzorcowych były zaskakująco niskie (średnia ocena smaku to 5,1, a ciemnienia bulw gotowanych 6,0). Średnie dla poszczególnych potomstw również wskazują na słaby poziom obu cech, choć wśród klonów można znaleźć formy przewyższające poziom odmian wzorcowych.

#### **Analiza związków między cechami**

Dla oceny związku pomiędzy cechami wyliczono współczynniki korelacji dla średnich wartości z trzech lat badań. W przypadku potomstw z segregującym genem *Rpi-phu1* związki te są słabe i statystycznie nieistotne. Wyjątek stanowi korelacja zawartości skrobi z wynikami testu listkowego, która jest dość słaba ( $r=0,23$ ), ale istotna statystycznie.

W przypadku potomstwa R9 × PS-1763 (z genem R9) współczynniki korelacji były wyższe, ale również nieistotne statystycznie, za wyjątkiem korelacji pomiędzy oceną odporności na zarazę a ogólnym plonem bulw ( $r=0,34$ ,  $P<0,05$ ) i zawartością skrobi ( $r=0,33$ ,  $P<0,05$ ). W potomstwie tym można spodziewać się, że formy odporniejsze na zarazę ziemniaka będą miały wyższy plon.

Można też stwierdzić, że formy z odpornością na zarazę ziemniaka pochodzącą z obydwu źródeł powinny mieć tendencję do wyższej zawartości skrobi.

#### **Zad. 2. Poszukiwanie form łączących cechy ziemniaka jadalnego z wysokim poziomem odporności na patogeny (wirusy, bakterie, grzyby).**

W 2012 roku w doświadczeniu polowym oceniano 45 klonów pochodzących z krzyżowań odmian jadalnych z formami własnymi charakteryzujących się dobrym poziomem cech jakościowych i odpornością na patogeny (wirusy lub zaraza ziemniaka).

Przeprowadzono ocenę odporności klonów na wirus Y (PVY) i/lub M ziemniaka (PVM). Do testów wybrano tylko te klony, które pochodziły od odpornych form rodzicielskich. Ocenę przeprowadzono stosując marker molekularny genu *Rysto* dla wyróżnienia form odpornych na PVY lub mechaniczne zakażenie oraz szczepienie infekcyjnymi zrazami pomidora w przypadku PVM. W 5 tygodniu po zakażeniu opisano objawy porażenia i przeprowadzono test ELISA dla identyfikacji wirusa. Wśród 45 klonów badanych markerem zidentyfikowano 23 klony z genem (odporne na PVY). Wśród 22 klonów badanych pod kątem odporności na PVM zidentyfikowano 12 form odpornych. Jedynie 3 klony łączyły odporność na PVY i PVM.

W doświadczeniu polowym porównywano 45 klonów do odmian: Satina, Tajfun i Zeus. Średni plon klonów był wyższy niż odmian wzorcowych. Badane klony nieco przewyższały odmiany pod względem udziału plonu handlowego w plonie ogólnym (93% dla klonów i 92% dla odmian wzorcowych). Oceny morfologii bulw były również bardzo zbliżone w obydwu grupach (klony charakteryzowały się większą bulwą niż odmiany wzorcowe).

Na podstawie wyników dwuletnich doświadczeń polowych i/lub cech odpornościowych wybrano klony wyróżniające się. Klony te są plenniejsze od odmian wzorcowych, można wśród nich wyróżnić formy o dobrym poziomie cech użytkowych i kulinarnych (smakowitość i nieciemniejący miąższ bulw) połączonych z odpornością na PVY (8 klonów) i PVM (3 klony). Jeden z klonów charakteryzuje się odpornością na zarazę ziemniaka roślin i bulw (średnia odporność listków i wysoka plastrów), a jeden ma dość odporne bulwy (odporność w teście plastrowym 6,1).

W 2012 r. prowadzono także materiały młodsze, mianowicie: (a) 154 linie ramszowe pochodzące z krzyżowań interploidalnych, (b) 119 linii siewkowych (powtórne rozmnożenie), wśród których było 78 linii pochodzących z krzyżowań interploidalnych. Linie interploidalne pochodziły z krzyżowań z użyciem form diploidalnych wnoszących odporności na patogeny w połączeniu z dobrymi właściwościami kulinarnym. Linie tetraploidalne pochodziły z krzyżowań form będących źródłami odporności na zarazę ziemniaka.

Z obydwu grup do dalszych prac wybrano 50 linii z odpornością na wirusy oraz 42 linie z odpornością na zarazę ziemniaka. Linie te plonowały niżej od wzorcowej odm. Tajfun i ustępowały nieco tej odmianie pod względem morfologii bulw, zwłaszcza klonów interploidalnych. W okresie wegetacji linie charakteryzowały się bujnym wzrostem roślin.

Z linii tetraploidalnych wybrano 16 form odpornych i średnio odpornych na zarazę ziemniaka, które plonowały na poziomie odmiany Tajfun, ale ustępowały jej pod względem morfologii bulw.

W 2012 r. wysiano nasiona z 4 kombinacji krzyżówkowych, w których łączono odporność na wirusy z odpornością na zarazę ziemniaka oraz odporność na zarazę ziemniaka z różnych źródeł. W polu prowadzono 700 siewek. Podczas kopania „na odkryto” wyselekcjonowano wstępnie 183 pojedynki. Opis plonu zostanie przeprowadzony w sezonie zimowym.

### Zad. 3. Ocena zdolności kombinacyjnej odmian jadalnych przydatnych do upraw ekologicznych i niskonakładowych.

Zadanie dotyczy badania zdolności kombinacyjnej odmian/klonów jadalnych przydatnych do upraw ekologicznych i niskonakładowych względem wybranych cech jakościowych. Zakłada się prowadzenie trzech niezależnych doświadczeń w różnych warunkach glebowo-klimatycznych.

Zgodnie z kartą tematu wykonanie tego zadanie zostało zlecone wyspecjalizowanym jednostkom. Materiał roślinny jest prowadzony w trzech lokalizacjach ze względu na zmienne warunki glebowo-klimatyczne.

W roku 2012 zadaniem jednostek realizujących było przeprowadzenie doświadczeń polowych w układzie bloków losowanych dla oceny plonu, porażenia zarazą naci i bulw po zbiorze klonów pochodzących z krzyżowań prowadzonych w układzie czynnikowym. W tabelach przedstawiono wartości średnie cech mierzonych indywidualnie (tj. dla każdego klonu) w poszczególnych lokalizacjach na podstawie otrzymanych danych.

Dane te posłużą do przeprowadzenia obliczeń zdolności kombinacyjnej pod względem wybranych cech odmian/klonów, które były formami rodzicielskimi form badanych w doświadczeniu. Zabezpieczony został materiał potrzebny do kontynuowania doświadczeń w roku 2013.

### **Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 63.**

**Tytuł projektu: Opracowanie metod wyróżniania form ziemniaka łączących różne sposoby użytkowania z odpornością na ważne gospodarczo patogeny ziemniaka.**  
**Kierownik projektu: prof. dr hab. E. Zimnoch-Guzowska**

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

(realizowane przez zespół pracowni PSH, ZGiMWZ w IHAR-PIB O/Młochów)

Namnożono materiał bulwowy z odmian sprowadzonych w roku 2011 do kolekcji odmian mątwikoodpornych. Odmiany te posiadają w pochodzeniu klon *Solanum tuberosum* ssp. *andigena* CPC 2802, w którym zidentyfikowano QTL *GpaIV<sub>sadg</sub>* nadający odporność na patotypy Pa2 i Pa3 mątwika agresywnego. Wyizolowano DNA do sprawdzenia obecności markerów związanych z genem *GpaIV<sub>sadg</sub>*.

Wykonano krzyżowanie wybranych czterech klonów o wysokiej, złożonej odporności na mątwika agresywnego i ziemniaczanego z odmianą Tetyda o potwierdzonej wysokiej zdolności kombinacyjnej. Uzyskano w sumie 208 jagód.

### **Zadanie 2. Charakterystyka tworzonej puli form odpornych na mątwiki.**

(realizowane przez zespół pracowni PSH, ZGiMWZ w IHAR-PIB O/Młochów)

W doświadczeniu polowym 2012 oceniano cechy użytkowe klonów pochodzących z krzyżowań 2009. Średni plon bulw dla tej grupy materiałów wyniósł 567,3 q/ha przy zakresie od 304,7 do 906,2 q/ha. Średni procentowy udział plonu handlowego w plonie ogólnym wyniósł 92,3 %. Średnia zawartość skrobi wynosiła 18,4 % (przy zakresie od 14,8 do 23,5 %). Ponadto badane klony charakteryzowały się bulwami okrągłoidalnymi, średniej wielkości (4,9) o dość regularnym zarysie (5,9) i dość płytkich oczkach (5,5).

Porównanie klonów odpornych na mątwiki z klonami podatnymi i odmianami wskazuje, że materiały te nie różnią się istotnie pod względem plonu. Procent plonu handlowego również był porównywalny zarówno dla odmian jak i dla form podatnych i odpornych na mątwiki. Klony podatne na mątwiki wykazały istotnie wyższą zawartość skrobi w bulwach od wartości uzyskanych dla odmian. Wartości zawartości skrobi uzyskane dla klonów odpornych były porównywalne zarówno do wartości uzyskanych dla klonów podatnych jak i dla odmian. Wszystkie badane grupy materiałów nie różniły się w wartościach uzyskanych dla plonu skrobi. W ocenach morfologicznych odnotowano istotne różnice w wielkości bulw. Największe bulwy odnotowano dla klonów odpornych na mątwiki, a najmniejsze dla odmian. Wszystkie badane grupy materiałów miały porównywalną regularność zarysu na poziomie 5,8, średniogłębokie oczka (5,5) oraz charakteryzowały się bulwami okrągłoidalnymi.

Ponadto, 34 klony trzeciego rozmnożenia bulwowego (pochodzące z krzyżowań 2009) zostały przetestowane testem fenotypowym pod kątem odporności na patotypy Ro2, Ro3 i Ro5 mątwika ziemniaczanego. 29 spośród 34 badanych klonów było odpornych na patotyp Ro2, 30 klonów było odpornych na patotyp Ro3, a 24 klony wykazały się odpornością na patotyp Ro5. Klony te zostały również przetestowane pod kątem posiadania markera 57R, związanego z genem *HI*, nadającym odporność na patotypy Ro1 i Ro4 mątwika ziemniaczanego. 27 spośród 34 badanych klonów posiada ten marker.

W doświadczeniu polowym 2012 oceniano również cechy użytkowe 62 klonów pochodzących z krzyżowań 2008. Średni plon bulw dla tej grupy materiałów wyniósł 496,3 q/ha przy zakresie od 80,2 do 867,7 q/ha, istotnie mniejszy od wzorców. Średni procentowy udział plonu handlowego (88,8%) w plonie ogólnym nie odbiegał od wzorców, poza dwoma klonami pochodzącymi ze skrzyżowania odmian Proton i Palladia. Średnia zawartość skrobi wynosiła 18,8 % (przy zakresie od 12,0 do 24,0%) i była istotnie wyższa od wartości dla wzorców. Ponadto, badane klony charakteryzowały się bulwami okrągłymi do okrągłoidalnych, średniej wielkości (4,9), istotnie mniejszej od wzorców, o dość regularnym zarysie (5,5) i dość płytkich oczkach (5,5), również nie różniących się od wzorców.

41 wybranych klonów, posiadających marker TG689 związany z genem *HI*, pochodzących z krzyżowań 2008 zostało ocenionych pod kątem odporności na patotypy Ro1, Ro2, Ro3 i Ro5 mątwika ziemniaczanego oraz Pa1, Pa2 i Pa3 mątwika agresywnego. Wszystkie badane klony wykazały się wysoką do bardzo wysokiej odpornością na wszystkie 5 patotypów mątwika ziemniaczanego (*G. rostochiensis*). Wśród nich zidentyfikowano 27 form o wysokiej do bardzo wysokiej odporności na wszystkie 3 patotypy mątwika agresywnego (*G. pallida*).

Ponadto, powtórnej ocenie odporności na patotypy mątwika ziemniaczanego i agresywnego zostały poddane cztery klony pochodzące z wcześniejszych krzyżowań. Uzyskane wyniki wskazują na wysoką odporność na większość patotypów, jednak niektóre wyniki cząstkowe wykazują zbyt dużą zmienność, która może wynikać z siły testu.

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

(realizowane przez zespół pracowni PW i PG, ZGiMWZ w IHAR-PIB O/Młochów).

#### **Odporność na PVM klonów 2x**

Kontynuowano ocenę diploidalnych klonów pod względem odporności na PVM, warunkowanej genem *Gm*. Rośliny 25 klonów były zakażane PVM przez szczepienie. Z tej grupy rośliny 18 klonów nie wykazały porażenia pierwotnego (w odrostach podszczepiennych). Rośliny siedmiu klonów diploidalnych wykazały porażenie pierwotne. Klony, których rośliny nie uległy porażeniu należą do grup klonów: wysokoskrobiowych, odpornych na zarazę ziemniaka oraz przydatnych na chipsy. W badaniu zastosowano wzorce, wysokoodporny na PVM diploidalny klon DW 84-1457 oraz podatną odmianę Tajfun.

Klony odporne na PVM były rozmnażane w polu na poletkach 7-krzakowych. Plony bulw zebrano jesienią. Opisy cech agronomicznych są w toku.

Nie stwierdzono wyraźnych różnic między poziomem analizowanych cech agronomicznych w grupach klonów odpornych i podatnych na PVM. Odporność na inne patogeny, np. na zarzę ziemniaka, raka ziemniaka, mokrą zgniliznę bulw, mątwika ziemniaczanego i wirusy ziemniaka stwierdzono w klonach zarówno odpornych, jak i podatnych na PVM.

#### ***Odporność na PVS klonów 2x***

W polu na poletkach 7-krzakowych bez powtórzeń rozmnażano, z dwóch populacji, łącznie 106 klonów diploidalnych odpornych na PVS (z genem *Ns*) oraz ich formy rodzicielskie. Po jesiennym zbiorze określono plon i cechy morfologiczne bulw, zawartość skrobi oraz porażenie bulw parchem zwykłym. Przeciętny plon bulw tych klonów i ich form rodzicielskich był na dobrym poziomie, typowym dla ziemniaka diploidalnego. Zawartość skrobi była stosunkowo wysoka. Większość klonów posiadało małe bulwy o słabym poziomie morfologii. Często obserwowano wzrost wtórny bulw. Około 50% klonów z populacji 10-33 i ponad 70% form z populacji 10-34 posiadało bulwy z co najmniej 10% wzrostem wtórnym. Bulwy klonów z obu populacji były w małym stopniu porażone parchem. Klony z obu populacji rozmnażane były również w szklarni, po dwie rośliny. Zebrano bulwy z 80 form.

Przeprowadzono program krzyżowań testowych między 20 klonami (po 10 klonów z każdej populacji) ze stwierdzonym markerem sprzężonym z genem *Ns* oraz trzema klonami podatnymi na PVS (DG 90-1, DG 91-28, DG 94-1149). Po pięć roślin form matecznych było prowadzonych w siatkowcu, natomiast po 10 roślin zapylaczy w szklarni. Co najmniej po 10 nasion otrzymano z 18 formami matecznymi, z jedną poniżej 100 nasion oraz z jedną nasion nie otrzymano.

#### ***Wyróżnianie form odpornych na PVM z genem *Gm* lub *Rm* w puli tetraploidalnej***

Reakcja odmian na PVM:

W 2012 roku oceniono reakcję 8 odmian ziemniaka na inokulację silnym szczepem PVM (Uran). Wyróżniono odmiany reagujące słabo, średnio i silnie. Trzy odmiany: Etola, Gustaw i Legenda nie uległy porażeniu, co wskazuje na obecność genu *Rm*. Wyróżniono również odmianę Bursztyn, w obrębie której znaleziono dwie rośliny z bardzo silnymi objawami porażenia PVM, z zamieraniem wierzchołka. Jest prawdopodobne, że reakcja ta spowodowana jest nadwrażliwością na PVM. Wyżej wymienione 4 odmiany zaszczepiono pędami pomidora z PVM. Etola reagowała silnymi objawami na odrostach, a obecność wirusa potwierdzono testem ELISA, natomiast Bursztyn, Gustaw i Legenda reagowały nekrozami. U tych trzech odmian zaobserwowano również nekrotyczną reakcję na bulwach zebranych po szczepieniu.

Zakażono mechanicznie szczepem PVM-Uran 13 genotypów ziemniaka z pracowni PSH. Po inokulacji, rośliny wysadzono w polu, a następnie zebrano bulwy. Próba oczkowa jest w toku.

Reakcja rodów tetraploidalnych na PVM

Wiosną 2012 r. oceniono w teście szczepieniowym podatność na zakażenie PVM 6 rodów ziemniaka, które w 2011 r. nie uległy porażeniu PVM po inokulacji sokiem. Doświadczenie wykonano w dwóch powtórzeniach, z zastosowaniem izolatów PVM 55a i Uran. Każdym z izolatów inokulowano 10 roślin każdego rodu. Porażone PVM zrazy pobierano z roślin pomidora odmiany Najwcześniejszy. Rośliny ziemniaka testowano na obecność wirusa przy użyciu testu ELISA 3,5 tyg. po szczepieniu. Obiektami kontrolnymi w doświadczeniu były rośliny odm. Jasia, Kuba i Ametyst.

Silną reakcję nadwrażliwości na porażenie PVM (nekrotyzacja i zamieranie pędów), wskazującą na obecność genu *Rm*, wykazały wszystkie oceniane rody. PVM wykryto testem ELISA tylko w roślinach rodu 08-IX-73. Ród ten nie uległ porażeniu PVM po inokulacji mechanicznej. Gdzie możliwe, zebrano bulwy do próby oczkowej.

Pobrano materiał roślinny do izolacji DNA oraz molekularnej identyfikacji genu *Rm* za pomocą markerów GP250 i GP283

#### ***Poszukiwanie form odpornych na PVS w odmianach i rodach z hodowli materiałów wyjściowych***

W 2012 roku testowano próby pobrane z materiałów sadzeniakowych 67 odmian (51 polskich i 16 zagranicznych) pod kątem obecności w nich wirusa S ziemniaka. Wolnych od PVS było 55 odmian. Siedem odmian było porażonych PVS w 100%: Ametyst, Etiuda, Gwiazda, Hubal, Jubilat, Michalina i Stasia. Wytypowano 9 odmian, które były wolne od PVS we wcześniejszych testach i po 10 roślin inokulowano mechanicznie w warunkach szklarniowych szczepem PVS-Leona. PVS

wykryto w roślinach odmian Etiuda, Gwiazda, Hubal, Jubilat, Gawin i Promyk. Nie uległy porażeniu trzy odmiany oraz odmiana wzorcowa Tajfun:

Etola	(Agria	x	I.73.341/20)
Jutrzenka	(PW 394	x	Bila)
Zenia	(Maryna	x	Gusto)
Tajfun	(PS 646	x	88.312-2)

Odmiany te będą oceniane w teście szczepieniowym pod kątem występowania reakcji nadwrażliwości, związanej np. z genem *Ns*.

Wśród genotypów pochodzących z materiałów wyjściowych wyróżniono 3 rody wolne od PVS pochodzącego z bulw. Rośliny tych rodów inokulowano mechanicznie PVS. Dwa nie uległy zakażeniu, natomiast ród 10-VIII-1190 zareagował silnymi nekrozami lokalnymi i systemicznymi, co może sugerować reakcję nadwrażliwości.

#### **Charakterystyka nowych izolatów PVM**

Wiosną 2012 r. pobrano na terenie Młochowa próby z 475 roślin dziko rosnących w pobliżu upraw ziemniaków i 520 prób z roślin ziemniaka (odm. Irga). Pozytywne wyniki testu ELISA wskazujące na obecność wirusa M w badanych próbach wykryto w starcu zwyczajnym (*Senecio vulgaris* L) oraz w kilku próbach pobranych z roślin ziemniaka.

Do dalszych badań wybrano 10 izolatów PVM, pochodzących z roślin ziemniaka odm. Irga. W nazwach izolatów zastosowano skrót I od nazwy odm. Irga np (I 14) i 1 izolat pochodzący ze starca zwyczajnego, który nazwano Sv.

W celu identyfikacji nowych izolatów PVM przeprowadzono następujące doświadczenia:

#### **Test biologiczny**

W prowadzonych doświadczeniach szklarniowych i fitotronowych wykorzystano następujący zestaw roślin testowych podatnych na zakażenie wirusem M ziemniaka:

- *Chenopodium quinoa*
- *Gomphrena globosa*
- *Datura metel*
- *Solanum lycopersicum* odmiana Najwcześniejszy
- *Lycopersicon chilense*
- *Solanum rostratum*
- *Nicotiana glutinosa*
- *Nicotiana debney*
- *Solanum nigrum*

Rośliny inokulowano mechanicznie: po 5 każdego gatunku dla każdego izolatu. Kontrolę pozytywną stanowiły izolaty PVM 55a i Uran. Inokulowane rośliny oceniano wizualnie pod kątem występowania objawów porażenia PVM.

Najsilniejsze objawy porażenia: silne zwijanie i deformacja liści, duże nekrozy na nerwach i ogonkach liściowych oraz na łodygach, deformacja i skarlenie roślin, przebarwienia, chlorotyczne plamki obejmujące 75% blaszki liściowej, odnotowano w przypadku 3 izolatów (I 64, I 185 i Sv). Najsilniejszą reakcją nekrotyczną liści inokulowanych, prowadzącą do przedwczesnej śmierci *D. metel* i *N. glutinosa* odnotowano, w przypadku porażenia przez te 3 izolaty już po 2 dniach od inokulacji.

Objawy średnie takie jak: pomarszczenie liści, mniejsze nekrozy na nerwach i ogonkach liściowych oraz mniejsza mozaika odnotowano w przypadku porażenia roślin testowych przez izolaty: I 28, I 41, I 45, I 141, I 147, I 14. Tylko w przypadku izolatów I 20 i I 38 można mówić o mniejszej infekcyjności.

#### **Test serologiczny**

Po 2-3 tygodniach od inokulacji rośliny testowano na obecność PVM. W przypadku wszystkich 11 izolatów odnotowano pozytywne wyniki testu ELISA wskazujące na obecność wirusa M w badanych próbach.

#### **Analiza molekularna**

Dla dalszego potwierdzenia obecności wirusa M w próbkach roślin, zastosowano diagnostykę molekularną z wykorzystaniem techniki RT-PCR. Oczekiwany wynikiem testu był produkt amplifikacji o wielkości 520 pz. Sygnał w reakcji RT-PCR izolatu Sv z rośliny starca zwyczajnego był słabszy niż izolatów z ziemniaka.

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

(realizowane przez zespół pracowni POK, ZF IHAR-PIB Radzików)

Wstępnej selekcji na patotyp 1(D1) *S. endobioticum* poddano 1151 genotypów ziemniaka. Zgodnie z oczekiwaniami największą form podatnych wykryto na pierwszym etapie selekcji, w próbach 2-bulwowych. Na ostatnim etapie oceny (próby 10-bulwowe dla klonów 2x i 4x oraz 30 bulwowe dla rodów 4x) udział genotypów odpornych wynosił od 98 do 100%. Wyniki te świadczą o wysokiej skuteczności metody Glynne-Lemmerzahla, jaką zastosowano do oceny fenotypowej odporności na raka ziemniaka. Materiały odporne stanowią podstawę poszukiwania źródeł odporności na wirulentne patotypy *S. endobioticum*.

W roku sprawozdawczym 2012 oceniono ostatecznie (3 odmiany) i wstępnie (13 odmian) 16 polskich odmian ziemniaka pod względem odporności na wirulentne patotypy *S. endobioticum*. Odmiany: Kuba, Zagłoba i Gandawa wykazywały wysoki poziom odporności na patotyp 39(P1). Odmiany ziemniaka, które wykazują odporność na patotyp 39(P1) są bardzo cenne ze względu na możliwość ich uprawy w strefach bezpieczeństwa występowania tego patotypu, który jest notowany w Polsce. Wstępnej ocenie (10 - 15 bulw/patotyp) zostało poddane 13 nowo zarejestrowanych polskich odmian ziemniaka. Większość z nich wykazywała słabą lub krańcową podatność na wszystkie testowane patotypy *S. endobioticum*, jednak odm. Igor wykazywała krańcową odporność na wszystkie patotypy. Wyniki wymagają potwierdzenia na większej liczbie bulw tej odmiany, jednak wstępna ocena wskazuje na fakt, że jest to jedyna polska odmiana, która wykazuje krańcową odporność na 7 wirulentnych patotypów *S. endobioticum*. Taki wysoki poziom odporności na 7 różnych patotypów *S. endobioticum* jest widoczny jedynie w diploidalnych klonach. Klony te pod względem odporności na raka ziemniak mogą stanowić cenne źródło tej cechy dla materiałów tetraploidalnych a następnie odmian ziemniaka.

Przeprowadzono wstępną ocenę odporności na 7 patotypów *S. endobioticum* m. in tetraploidalne potomstwo (10-33, 10-34, 10-38, 10-45, 10-48, 10-49 i 10-50) krańcowo odpornych klonów 2x. Ocena tych klonów, choć tylko wstępna, wskazuje na zachowanie krańcowej odporności na poziomie tetraploidalnym. W przypadku pozostałych klonów 4x ich wstępna ocena wskazywała na zróżnicowaną odporność na poszczególne patotypy *S. endobioticum*; od krańcowo odpornych do krańcowo podatnych, które jednocześnie stanowiły większość ocenianych klonów.

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

(realizowane przez zespół pracowni POK, ZF IHAR-PIB Radzików)

W roku sprawozdawczym 2012 przeprowadzono badania oceny odporności łącznie 25977 linii di- i tetraploidalnych ziemniaka na patotyp Ro1 mątwika ziemniaczanego (*Globodera rostochiensis*) w oparciu o obowiązującą procedurę EPPO (OEPP/EPPO, 1992). Od marca do końca października prowadzono doświadczenia nad odpornością 29 odmian ziemniaka wpisanych do Krajowego Rejestru Odmian w celu określenia ich reakcji na patotypy Ro1-Ro5 oraz Pa1-Pa3. Uzyskane wyniki posłużą do opracowania zestawu genotypów ziemniaka do różnicowania patotypów mątwika ziemniaczanego i agresywnego.

Do zakażeń rodów hodowlanych i odmian ziemniaka wykorzystano namnożone w 2012 roku cysty pięciu patotypów mątwika ziemniaczanego oraz trzech patotypów mątwika agresywnego zgromadzone w kolekcji Pracowni Organizmów Kwarantannowych. Przed rozpoczęciem testów świeżo namnożone inokulum nicieniowe przechowywano w -4°C przez okres 4 miesięcy. W roku sprawozdawczym przygotowano 8 „kompostów” patotypu Ro1, 8 patotypu Ro2, po 2 „komposty” patotypów Ro3, Ro4, Ro5 i Pa2 oraz odpowiednio 3 i 4 patotypów Pa2 i Pa3.

Bulwy rodów hodowlanych oraz odmian ziemniaka wysadzano w doniczki o pojemności podłoża 1 l i porażano inokulum mątwika o gęstości 10 jaj na 1 ml gleby każdym z ośmiu patotypów mątwika. Uprawę roślin prowadzono przez okres 3-4 miesięcy w szklarni regularnie nawożąc glebę oraz wykonując opryski z wykorzystaniem fungicydów Pyranica, Biospin, Mospilan oraz Tanos. Po okresie hodowli z zewnętrznej powierzchni bryły ziemi wyjętej z doniczki zliczano nowopowstałe cysty mątwika. Ocenę odporności rodów hodowlanych ziemniaka na patotyp Ro1 mątwika ziemniaczanego przeprowadzono łącznie na 1128 bulwach w I roku badań, 805 bulwach z II roku badań oraz na 740 bulwach w badaniach zaawansowanych. W pierwszym roku badań zaobserwowano 262 rody podatne

w stopniu od 1 do 4, w próbach drugorocznych 11 rodów wykazało podatność na patotyp Ro1 mątwika ziemniaczanego w stopniu od 1 do 4, natomiast w badaniach zaawansowanych 2 rody zostały zdyskwalifikowane.

Weryfikacja stopnia odporności odmian ziemniaka pochodzących z KRO przebadanych pod kątem odporności na różne patotypy nicieni prowadzona była łącznie na 29 odmianach. Trzy z nich – Irys, Głada i Śleza wykazały skrajną podatność w stopniu 1 na wszystkie patotypy mątwika ziemniaczanego i agresywnego. Odmiany Etiuda i Bursztyn były odporne w stopniu 7 na patotyp Pa3, natomiast odmiana Etola również w stopniu 7 na patotyp Pa1 mątwika agresywnego. Większość odmian charakteryzowała się wysoką odpornością w stopniach 9 i 8 na patotyp Ro4 mątwika ziemniaczanego i bardzo niską na wszystkie trzy patotypy mątwika agresywnego.

#### **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**

#### Zad. 1. Opracowanie metod masowej selekcji form ziemniaka w oparciu o markery molekularne.

Podstawowy problem badawczy to pytanie, na jakim etapie selekcji prowadzonej w hodowli odmian należy stosować markery molekularne. Prace dotyczą odporności krańcowej na wirus Y ziemniaka (PVY) oraz odporności na mątwika. Ta pierwsza powinna być traktowana jako wysoce wartościowa cecha przyszłej odmiany, natomiast druga jest cechą obligatoryjną w nowych odmianach.

Prace są prowadzone na nieselekcyjowanych tetraploidalnych populacjach pochodzących z krzyżowań form odpornych względem badanych cech z formami podatnymi. Zidentyfikowano już formy odporne na PVY ziemniaka i/lub mątwika ziemniaczanego. W kolejnych sezonach wegetacji prowadzi się symulacje selekcji o normalnej intensywności (tzn. formy wadliwe nie były usuwane) pod kątem plonu, wielkości i cech morfologicznych bulw.

Łącznie w polu prowadzono 348 klonów pochodzących z trzech kombinacji krzyżówkowych. Klony te oceniono pod względem cech użytkowych (plon, zawartość skrobi, morfologia bulw). Oszacowano także cechy charakteryzujące wzrost roślin w polu (bujność, zdrowotność) oraz wady bulw używając w tym celu skali 5 stopniowej (5 oznacza najbujniejszy, najzdrowszy lub bez wad).

Porównano wartości średnie dla cech ocenionych w 2012 r. w doświadczeniu polowym z udziałem form z poszczególnych kombinacji krzyżówkowych uwzględniając podział na genotypy ze zidentyfikowanym markerem GP122 (marker genu krańcowej odporności na PVY) oraz bez tego markera. Dla potomstwa „03-IX-352 × Klara” stwierdzono brak istotnych różnic pomiędzy tymi grupami dla wszystkich ocenianych cech. Jednak w przypadku dwóch pozostałych potomstw stwierdzano takie różnice dla plonu bulw, plonu handlowego (tylko w potomstwie White Lady × PS-1763), zawartości skrobi (tylko w potomstwie 03-IX-237 × PS-1763), wielkości bulwy, głębokości oczek (tylko dla White Lady × PS-1763) oraz zdrowotności roślin w polu. W każdym z tych przypadków genotypy ze zidentyfikowanym markerem GP122 osiągały lepszy poziom cech niż genotypy bez markera.

Podobne porównanie przeprowadzono dla markera TG689 (gen *HI* warunkujący odporność na mątwika ziemniaka). Stwierdzono, że formy z markerem charakteryzują się istotnie wyższym plonem (w potomstwie White Lady × PS-1763), większą bulwą (w potomstwie 03-IX-237 × PS-1763), słabszą regularnością zarysu (w potomstwie White Lady × PS-1763), większym nasileniem wad bulw (w potomstwie White Lady × PS-1763).

#### Zad. 2. Identyfikacja form dupleks genu *HI* lub *Grol* warunkujących odporność na patotyp Ro1 mątwika ziemniaczanego i *Ry fsto* warunkującego skrajną odporność na wirus Y ziemniaka.

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. Klony te zostały uprzednio wytypowane jako te, wśród których potencjalnie będzie



można zidentyfikować za pomocą techniki Real Time PCR formy typu dupleks. W potomstwach tych można oczekiwać również segregacji genu *Ry fsto* warunkującego krańcową odporność na wirus Y ziemniaka.

W ramach opracowywania metody identyfikacji form typu dupleks pod względem genu *HI* za pomocą techniki Real Time PCR wykonano optymalizację warunków reakcji PCR z wykorzystaniem wybranych starterów. Wykonano również pomiar ilości i czystości DNA w badanych próbach. Ponadto do kolekcji posiadanych wzorców typu simpleks pod względem genu *HI* sprowadzono odmianę Hudson typu dupleks pod względem badanego genu.

#### Zad. 3. Zastosowanie markerów molekularnych do identyfikacji odporności na patotyp Ro1 mątwika ziemniaczanego w stosunku do puli polskich materiałów hodowlanych.

W ramach poszukiwań markerów przydatnych do selekcji form odpornych na patotyp Ro1 mątwika ziemniaczanego (*Globodera rostochiensis*) użyto markera 57R genu *HI* do oceny 347 klonów. Dla klonów tych przeprowadzono uprzednio laboratoryjną ocenę odporności na patotyp Ro1 mątwika ziemniaczanego oraz użyto markera TG689. Liczba rekombinantów podatnych (tj. form podatnych, w których marker jest obecny) spadła z 13 stwierdzonych dla markera TG689 do 7 osobników w przypadku markera 57R. Dla markera 57R rekombinantów odpornych (tj. odpornych bez markera) było o 2 mniej niż w przypadku TG689.

Zad. 4. Identyfikacja wybranych genów odporności markerami molekularnymi w różnych pulach materiałów. Oceniono pulę genotypów różniących się pochodzeniem, gdyż dla części badanych klonów jedna z ich form rodzicielskich pochodziła z CIP, a dodatkowo niektóre z nich 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<sup>NTN</sup>. Stwierdzono całkowitą zgodność pomiędzy genotypem (tj. obecnością markera GP122 dla genu *Rysto*), a fenotypem obserwowanym po mechanicznym zakażeniu roślin ziemniaka wirusem Y.

#### Najważniejsze osiągnięcia:

- W 2012 r. klony z 3 tetraploidalnych populacji (łącznie 348 genotypów) zostały ocenione w doświadczeniu polowym pod kątem cech użytkowych i morfologicznych. Genotypy te pochodzą z krzyżowań mających na celu uzyskanie form ziemniaka posiadającego krańcową odporność na wirus Y ziemniaka (PVY) oraz odpornego na mątwika ziemniaczanego, patotyp Ro1, które są selekcjonowane przy użyciu markerów molekularnych.
- W polu prowadzono formy pochodzące z krzyżowań mających na celu otrzymanie potomstw, wśród których będzie można wyróżnić przynajmniej dwa typy heterozygot charakterystycznych dla autotetraploidów. W ramach opracowywania metody identyfikacji form typu dupleks przeprowadzono optymalizację warunków reakcji PCR z wykorzystaniem wybranych starterów oraz wykonano pomiar ilości i czystości DNA w badanych próbach.
- Do identyfikacji form odpornych na patotyp Ro1 mątwika ziemniaczanego zastosowano nowy marker 57R, który okazał się skuteczniejszy od markera TG689 (stwierdzono mniejszą liczbę rekombinatów przy użyciu markera 57R).
- Wybrano 17 form różniących się pochodzeniem i przeprowadzono ocenę ich odporności na PVY za pomocą mechanicznej inokulacji. Wyniki tej oceny porównano z rezultatami stosowania markera GP122. Marker został zidentyfikowany w 13 klonach, które nie porażały się wirusem po sztucznej inokulacji.

#### **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 ramach tematu realizowano badania dotyczące materiałów diagnostycznych do selektywnego wyłapywania, zagęszczania i wykrywania bakterii *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* (*Cms*). W tym celu kontynuowano badania związane z podniesieniem czułości

przeciwciał anty-*Cms* specyficznie rozpoznających komórki bakterii *Cms* o różnym stopniu mukoidalności. Na bazie opracowanego wcześniej antygeny pozwalającego na otrzymywanie przeciwciał rozpoznających w odróżnieniu od komercyjnych surowic również szczepy niemukoidalne, prowadzono badania zmierzające do uzyskania większego miana immunoglobulin skierowanych na bakterie *Cms*. Miano przeciwciał zwiększono stosując zmodyfikowaną mieszaninę immunizacyjną. Otrzymane immunoglobuliny stosowano do powlekania matryc pokrytych polimerem pozwalającym na wiązanie przeciwciał w sposób kowalencyjny. Ze względu na występujące powszechnie problemy z izolacją komórek bakterii *Cms* z roślin, w obecnym roku skupiono się na opracowaniu immunosorbenta pozwalającego specyficznie wyizolować komórki bakterii *Cms* z soku badanych roślin. Skuteczność opracowanych immunosorbentów w przyżyciowej izolacji komórek *Cms* badano stosując zróżnicowane mukoidalnie szczepy *Cms* oraz opracowane warunki izolacji pozwalające na zachowanie żywotności izolowanych bakterii. Czulość matryc w izolacji bakterii *Cms* oceniano w obecności tkanki bulw ziemniaka w trzech niezależnych laboratoriach zewnętrznych i porównano ze standardowymi testami przesiewowymi IFAS i PCR. W porównaniu ze standardowym testem IFAS, opracowany test był czulszy i łatwiejszy do wykonania, nie wymagał stosowania dodatkowych urządzeń i nie wykazywał wrażliwości na obecność cząstek soku ziemniaka, szczególnie odmian skrobiowych. Wyniki testu korelowały z wynikami uzyskanymi w próbie ślepej stanowiącej próbę z bakteriami bez soku. Wyniki uzyskane zalecanym przez EPPO testem IFAS zależały w dużym stopniu od doświadczenia oceniającego próbę i charakteryzowały występowaniem problemów w ocenie mikroskopowej, zwłaszcza przy pracy z odmianami skrobiowymi, gdzie liczba komórek bakterii była bardzo zaniżona w stosunku do kontroli pozytywnej.

W badaniach zastosowano nowatorskie rozwiązania polegające z jednej strony na uproszczonej izolacji DNA bakteryjnego, z drugiej natomiast na wykorzystaniu nowych, czulszych starterów PCR opracowanych w ramach niniejszego tematu. Opracowane rozwiązania pozwoliły na uproszczenie procedury wykrywania *Cms* po bezpośrednim immunopułapkowaniu bakterii na nowo opracowanym immunosorbencie. Poprzez zastosowanie opracowanej pary starterów PCR osiągnięto większą czulość testu oraz usprawniono diagnostykę bakterii *Cms*.

Badania dotyczące aspektów epidemiologicznych bakteriozy pierścieniowej ziemniaka, prowadzono pod kątem rozprzestrzeniania i przeżycia gatunku bakterii *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (*Cms*) w środowisku glebowym. Oceniano również przeżywalność *Cms* w procesie fermentacji metanowej.

W pierwszym przypadku materiałem badawczym były próbki gleby o różnym składzie granulometrycznym, zawartości substancji chemicznych, o różnej aktywności mikrobiologicznej i enzymatycznej, które pobrano z terenu województwa kujawsko-pomorskiego. Do badań wyselekcjonowano szczep *Cms* wywołujący silne objawy na bakłażanie podczas testu biologicznego. Otrzymane wyniki badań wskazują na zróżnicowanie liczebności bakterii w zależności od rodzaju gleby. Na podstawie przeprowadzonego testu biologicznego stwierdzono również zdolność *Cms* do wywoływania objawów choroby po inkubacji bakterii we wszystkich badanych rodzajach gleby.

Prace dotyczące przeżywalności bakterii *Cms* w warunkach fermentacji metanowej, związane były z oceną zdolności zachowania żywotności badanych bakterii w skonstruowanym na potrzeby zadania bioreaktorze zapewniającym fermentację mezofilną komponentów tkanki roślinnej zainfekowanej patogenicznym szczepem *Cms*. Doświadczenie prowadzono przy ustalonym, lekko alkalicznym pH panującym w reaktorze. Uzyskane wyniki wskazują na użyteczność opracowanej metody w utylizacji odpadów roślin ziemniaka potencjalnie porażonych bakteriami *Cms* w procesie fermentacji beztlenowej. Liczba żywych komórek bakterii *Cms* uległa znacznej redukcji po 16 i 20 godzinnej inkubacji w bioreaktorze. Całkowity spadek żywotności zanotowano po 30 godzinnej inkubacji, co potwierdzono również testem biologicznym na bakłażanie.

W ramach badań dotyczących substancji białkowych z ziemniaka zdolnych do oddziaływania z *Cms*, wykazano zdolność hamowania wzrostu bakterii *Cms* przez frakcje białek zasadowych izolowanych z wycierki oraz odmiany Annabelle ocenianej jako tolerancyjna na porażenie bakteriami *Cms*. Obie frakcje tworzyły kompleksy z DNA bakterii *Cms* o czym świadczyła analiza DNA poprzez migrację w warunkach elektroforetycznych. Efektu takiego nie obserwowano natomiast w przypadku frakcji białkowych izolowanych z odmiany Wiarus wrażliwej na porażenie bakteriami *Cms*. Celem kontynuacji prac w ramach zadania w kolejnym roku planuje się dokładniej przebadać białka

posiadające zdolność tworzenia kompleksów z DNA bakteryjnym oraz przeprowadzić badania na większej liczbie odmian o zróżnicowanej podatności na porażenie bakteriozą pierścieniową ziemniaka.

W ramach prac dotyczących wykorzystania środków dezynfekcyjnych w utylizacji zainfekowanego bakteriami *Cms* materiału roślinnego, oceniano skuteczność substancji obniżających pH, w tym niektórych kwasów organicznych. Przeprowadzone badania wykazały użyteczność badanych kwasów jako substancji o charakterze proekologicznym w efektywnym hamowaniu wzrostu badanych szczepów bakterii *Cms*. Zaobserwowano niewielkie zróżnicowanie wrażliwości poszczególnych szczepów na stosowane substancje. Stwierdzono również znaczenie praktyczne preparatu, który stosowany w niewielkim stężeniu może działać jako skuteczny środek dezynfekcyjny eliminujący bakterie *Cms* z różnych powierzchni.

### **Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 66.**

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

**Kierownik projektu: dr A. Przewodowska**

#### Zad. 1. Wytworzenie materiałów diagnostycznych do wykrywania infekcji wirusowych w roślinach ziemniaka:

Prowadzono immunizację królików antygenami wirusowymi pozyskanymi metodami klasycznymi i z udziałem nowej metody izolacji wirusów w oparciu o jonowymienną chromatografię membranową. Miano uzyskanych przeciwciał badano za pomocą testu DAS-ELISA. Dla PLRV uzyskano z obu serii królików dobrej jakości przeciwciała o mianie wyższym od 10000x. W przypadku wirusa PVY miano przeciwciał z obu królików wyniosło ponad 10000x. Przeciwciała dla wirusa PVM miały niskie miano (poniżej 1000), co wiąże się prawdopodobnie z faktem, że PVM oczyszczano stosując metodykę literaturową, której nie optymalizowano.

W ramach zadania pierwszego podjęto również prace nad adaptacją metody LAMP do wykrywania wirusów PVY, PLRV i PVM. Do wykrywania PVY oraz PLRV użyto starterów opublikowanych w pracach naukowych. Ponieważ nie ma dotąd literatury na temat wykrywania PVM za pomocą RT-LAMP, dla tego wirusa opracowano własne startery. W tym celu wykonano aligment ośmiu dostępnych w Banku Genów NCBI sekwencji genowych izolatów PVM i wybrano najbardziej konserwatywny fragment w ramach regionu 3'-końcowego jako sekwencję docelową dla opracowywanych sześciu starterów. Za pomocą starterów opracowanych przez Nie (2005) dla PVY wykryto obecność tego wirusa w liściach lecz nie w bulwach. Natomiast PLRV i PVM wykryto zarówno w bulwach jak i w liściach. Specyficzność reakcji potwierdza brak produktów LAMP w reakcjach, gdzie analizowano próby uzyskane z liści zdrowych roślin za pomocą zestawów starterów dla poszczególnych wirusów.

#### Zad. 2. Opracowanie metod wykrywania obecności wirusów w bulwach ziemniaka bezpośrednio po zbiorze lub w trakcie przechowywania bulw.

Badania jak co roku realizowane były przez trzech niezależnych wykonawców. W roku 2012 wykazano bardzo wysoką zbieżność wyników próby oczkowej z badaniem bezpośrednio z bulw (96%) dla wirusa PVM. W przypadku wirusów PVY i PRLV zbieżność ta była nieco mniejsza (76-89%) ale wciąż na dobrym poziomie. Kondycjonowanie prób przed wykonaniem testowania koktajlem w drugim terminie nieznacznie osłabiło wykrywalność wirusa w bulwach. Kondycjonowanie zdecydowanie pogorszyło wyniki w przypadku wszystkich testowanych wirusów. Na podstawie dotychczasowych wyników można stwierdzić, że test koktajl-ELISA na bulwach skutecznie wykrywa wirusy PLRV i PVM lecz w obecnej postaci nie jest przydatny do oceny porażenia wirusem PVY. Jednocześnie czułość próby oczkowej na kielkach jest porównywalna z próbą oczkową na liściach roślin uzyskanych z oczek. Dlatego w celu zmniejszenia kosztów i skrócenia czasu analizy można rekomendować tę metodę.

### Zad. 3. Zastosowanie czułych metod molekularnych do wykrywania wirusów w roślinach wprowadzanych do banku genów.

W ramach zadania prowadzono prace nad optymalizacją izolacji RNA z liści roślin ziemniaka. Przebadano skuteczność izolacji z bulw i z liści ziemniaka za pomocą kilku komercyjnych zestawów. Izolacja RNA za pomocą wszystkich badanych zestawów jest prosta i pozwala na szybkie (15-30 min) uzyskanie RNA z około 24-48 roślin.

Kolumnkowe, komercyjne zestawy pozwoliły na izolację bardzo dobrej jakości RNA z liści ziemniaka. Wyraźnie widoczne są prążki rybosomowych RNA, a zanieczyszczenie genomowym DNA jest minimalne. Niestety zestawy te nie umożliwiają izolacji RNA z bulw ziemniaka. Najlepszej jakości RNA uzyskano stosując izolację opartą o metodę opracowaną przez Chomczyńskiego (1987), wykorzystującą do lizy tkanek i jednoczesnej ochrony RNA silną sól chaotropową izotiocyanian guanidyny oraz do selektywnej izolacji RNA kwaśny fenol, który strąca efektywnie DNA, podczas gdy RNA pozostaje w roztworze. W ramach prac nad optymalizacją testu RT-PCR opracowano kilka własnych par starterów do wykrywania wirusa PLRV. W tym celu wykonano aligment dostępnych w Banku Genów NCBI izolatów PLRV i do projektowania starterów wybrano wysoce konserwatywne regiony rozmieszczone w obrębie 3'-końca genomu wirusa. Porównano skuteczność wykrywania PLRV za pomocą opracowanych starterów ze starterami opisanymi w literaturze – wg Faccioli i Rosner (1995) oraz wg Almasi i wsp. (2012). Opracowane własne startery L5 okazały się bardziej czułe od starterów wg Almasi i wsp. (2012).

### Zad. 4. Opracowanie testów immuno-chromatograficznych przydatnych do wykrywania wirusów w warunkach polowych.

Zadanie czwarte jest kontynuacją badań podjętych w latach poprzednich, zmierzających do opracowania materiałów diagnostycznych do wykrywania wirusów ziemniaka w warunkach polowych. Stąd celem prac prowadzonych w tym roku było opracowanie testu pozwalającego w łatwy i prosty sposób, specyficznym wyizolować i ocenić obecność cząsteczek wirusa w soku badanych roślin w warunkach polowych, z dokładnością porównywalną do testu ELISA. W ramach planowanych badań przeprowadzono badania różnych materiałów pozwalających na selektywną izolację i koncentrację cząstek wirusa z dużych objętości badanych prób na małej powierzchni. Do tego celu spośród dostępnych materiałów polimerowych wyselekcjonowano te, które poprzez opłaszczanie IgG na dany wirus, umożliwiły otrzymanie immunopodłoża zdolnego do specyficznego wylapywania i koncentracji cząstek wirusa. Dobór materiałów ukierunkowano tak, aby można było na nich wykrywać wirusa z dużą czułością i specyficznością oraz jednocześnie wyeliminować negatywny wpływ składników ekstraktu ziemniaczanego na te parametry. Po dobraniu odpowiedniego polimeru modyfikowano go chemicznie, tak by możliwe było w tym miejscu kowalencyjne związanie IgG. Do tego celu stosowano przeciwciała anti-PVY otrzymane w PDMiB w ZNiOZ w Boninie. Po uzyskaniu podłoża zdolnego do selektywnego wylapywania wirusa Y ziemniaka, opracowano i optymalizowano warunki przeprowadzania testu. Następnie zgodnie z przedstawioną poniżej metodyką porównywano z innymi testami typu DAS-ELISA i dostępnym komercyjnie testem Lateral-Flow. Podsumowując można stwierdzić, że udało się opracować funkcjonalne podłoże pozwalające na immunokoncentrację wirusa Y ziemniaka z większej objętości soku ziemniaka niż pozwala na to test ELISA i LF. Stosując immunopodłoże jako matrycę w teście ELISA (Test immuno-ELISA), uzyskano czułość porównywalną z testem ELISA wykrywając wirusa Y w 400-krotnym rozcieńczeniu badanego soku. Przy zastosowaniu komercyjnego testu paskowego Lateral Flow na tych samych próbach badanych uzyskano wynik pozytywny przy 150-krotnym rozcieńczeniu soku. Dalsze badania będą ukierunkowane na zbadanie przydatności opracowanego immunopodłoża w wykrywaniu wirusa Y z większych objętości soku oraz określeniu czułości testu przy zastosowaniu czystych, określonych ilościowo preparatów wirusa.

**Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 67.**

**Tytuł projektu: Opracowanie metod szybkiego rozmnażania genotypów ziemniaka.**

**Kierownik projektu: inż. D. Sekrecka**

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

Głównym celem projektu jest opracowanie metody uzyskiwania w szybki i prosty sposób bulw (minibulw i mikrobulw) o tak dużych rozmiarach, by nadawały się one do bezpośredniego wysadzenia w polu. Zaleca się poszukiwanie systemów produkcji wolnych od hormonów roślinnych, ze względu na możliwość uniknięcia zmian genetycznych w bulwach potomnych, które mogą być wywoływane przez stosowanie tych związków. Prace badawcze prowadzono w 3 zadaniach.

**Zad. 1. Opracowanie i zastosowanie technik *in vitro* dla mikrorozmnażania ziemniaka**

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

W 2012 roku ocenie poddano 3 genotypy ziemniaka: Etola, Gustaw i Jutrzenka pod kątem opracowania metod ich szybkiego rozmnażania. Celem zadania było określenie wpływu zastosowanych technik mikrorozmnażania na wzrost, rozwój i plonowanie ocenianych odmian.

Wiosną 2012 roku podczas mikrorozmnażania roślin *in vitro* przeprowadzono pod osłonami doświadczenie, w którym sprawdzano wpływ gęstości sadzenia roślin na 1 m<sup>2</sup> na uzyskane plony minibulw. Zastosowano 4 gęstości sadzenia: 24, 36, 48 i 60 roślin *in vitro* na 1 m<sup>2</sup>. Najwyższy współczynnik uzyskano u odmiany Etola, niższe – u odmiany Gustaw i Jutrzenka. Gęstość sadzenia roślin na 1m<sup>2</sup> ma istotny wpływ na uzyskane współczynniki rozmnażania. W miarę zwiększania się obsady na 1m<sup>2</sup> uzyskuje się niższe współczynniki, nawet do 40% (odmiana Etola z 8,43 do 5,03).

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

W roku sprawozdawczym przeprowadzono ocenę 3 ww. genotypów pod kątem ich przydatności w produkcji mikrobulw. Do indukcji procesu tuberyzacji zastosowano zwiększoną koncentrację sacharozy (8%) oraz benzylaminopurynę (BAP), kinetynę, węgiel aktywowany i kwas jasmonowy.

Rośliny *in vitro* prowadzono w kontrolowanych warunkach w czterech wariantach:

**I** – 3 tygodnie utrzymywane w fitotronie w temperaturze 20<sup>0</sup>C, oświetlenie ok.3000 lux, przy zachowaniu dobowego cyklu dzień/noc (16/8h)→ przeniesione do ciemnego pomieszczenia (temp. 18-20<sup>0</sup>C) na okres 9 tygodni;

**II** – 3 dni w fitotronie; warunki j.w.; dzień/noc;->przeniesienie kultur do ciemnego pomieszczenia - noc , 18-20<sup>0</sup>C, 12 tygodni;

**III** – 3 tygodnie dzień/noc, 20<sup>0</sup>C-> przeniesienie kultur do ciemnego pomieszczenia – noc, temperatura 8-10<sup>0</sup>C, 9 tygodni

**IV** - 3 dni w fitotronie, temperatura 20-22 <sup>0</sup>C, oświetlenie ok. 3 tys lux, dobowy cykl dzień/noc (16/8h) następnie przeniesienie do pomieszczenia ciemnego, temperatura 8-10<sup>0</sup>C, 12 tygodni.

Przeprowadzono ocenę genotypów pod kątem ich przydatności w produkcji mikrobulw – tj. bulw wyprodukowanych w szkle. Pomiędzy odmianami stwierdzono różnice istotne. Warunki utrzymywania kultur *in vitro* (temperatura, światło) również miały istotny wpływ na produkcję mikrobulw. Natomiast rodzaj zastosowanej pożywki nie miał istotnego wpływu na mikrotuberyzację. Najwyższy współczynnik rozmnażania uzyskano dla odmiany Etola, natomiast odmiana Gustaw plonowała na bardzo niskim poziomie (współczynnik 0,5).

Uzyskane rok wcześniej mikrobulwy odmian Etola, Gustaw i Jutrzenka zostały wysadzone do skrzynek zawierających ok. 15 l podłoża kompostowo-torfowego. Zastosowano 3 gęstości sadzenia mikrobulw na 1m<sup>2</sup>, tj. 36, 60 i 120 roślin w sześciu powtórzeniach (cyklach). W miarę zwiększenia obsady roślin na 1 m<sup>2</sup> zmniejsza się istotnie współczynnik rozmnażania. Zbyt duże zagęszczenie zwiększa konkurencję roślin o składniki pokarmowe oraz o światło, a uzyskane współczynniki rozmnażania są nawet o 50% niższe.

Minibulwy odmian Etola, Gustaw i Jutrzenka wysadzono w warunkach polowych rozmnożeń w roku 2012. 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 Etola, najwięcej odmiana Jutrzenka, która uzyskała wysoki współczynnik rozmnażania. W warunkach polowych minibulwy o średnicy poniżej 2 cm dały plon o ok. 15-25 % niższy w porównaniu z minibulwami większymi. Odmiana Jutrzenka zareagowała najwyższym, bo 25-procentowym spadkiem plonu.

#### Zad. 2. Badania nad szybkim mnożeniem minibulw z wykorzystaniem technologii hydroponicznej i zbiorem w trakcie wzrostu roślin matecznych

(Pracownia Fizjologii Zakładu Agronomii Ziemiaka w Jadwisinie).

Opracowano IV etap technologii produkcji minibulw uwzględniającej wielokrotne zbiory w trakcie wzrostu roślin matecznych. Projekt realizowano w prototypowych urządzeniach do aeroponicznej uprawy ziemiaka. Instalacja do podawania pożywki składała się ze zbiornika, pompy pobierającej pożywkę ze zbiornika przez rurociąg ssący, filtra dyskowego oraz instalacji zamglawiającej, znajdującej się w komorze aeroponicznej. Praca tych urządzeń była regulowana za pomocą sterowników czasowych. Program podtrzymywany był zasilaniem z baterii. Doświadczenia przeprowadzono na średnio wczesnych odmianach: Ametyst i Tajfun. Wykonano piętnaście zbiorów minibulw – pierwszy 10 lipca, kolejne w odstępach 1-tygodniowych; zbiór końcowy – 16 października, tuż przed nadejściem przymrozków. Współczynnik rozmnażania badanych odmian ziemiaka uzyskany z roślin rosnących w systemie aeroponicznym wyrażony w procentach w stosunku do współczynnika uzyskanego z roślin rosnących w substracie glebowym wynosił u odmiany Ametyst średnio 257, a u odmiany Tajfun 427. W realizowanym projekcie uzyskano wysoką liczbę minibulw z powierzchni 1 m<sup>2</sup>, która u odmiany Ametyst przekroczyła progową dla opłacalności systemu wartość 1300 minibulw i wyniosła w najlepszej kombinacji 1508 sztuk.

#### Zad. 3. Adaptacja technik *in vitro* dla mikrorozmnażania wybranych genotypów

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

W roku sprawozdawczym za pomocą termoterapii i izolowania merystemów uzyskano zdrowy materiał *in vitro* z 15 genotypów ziemiaka. W doświadczeniu stosowano metodę połączoną termoterapii z hodowlą tkanek merystematycznych *in vitro*. Do doświadczenia pobrano genotypy ziemiaka w 100% porażone wirusami S, M i Y. Wstępnie materiał został przebadany na obecność bakterii *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* i *Ralstonii solanaceum*. Wykonano 45 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 35-37<sup>0</sup>C(dzień) i 30-33<sup>0</sup>C(noc). Okres działania temperatur był różny - od 4 do 8 tygodni. W 3. tygodniu wzrostu, za pomocą elektroforezy powrotnej oraz PCR (reakcja łańcuchowa polimerazy), wykonano 45 testów pod kątem występowania wiroida wrzecionowatości bulw ziemiaka (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 płycie 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 16-20<sup>0</sup>C; 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 (I) poddanych termoterapii dają większe szanse na uzyskanie zdrowych roślin (70% zdrowych kultur). Największe trudności sprawia wirus S, najczęściej stwierdzany w przebadanych kulturach. Ponowna termoterapia (z roślin *in vitro*) i izolowanie merystemów

pozwała na uzyskanie zdrowych kultur. Dla większej pewności każdy genotyp powinien przejść co najmniej 3-krotne badanie testem ELISA potwierdzające jego zdrowotność.

**Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 68.**

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

**Kierownik projektu: Prof. dr hab. B. Zagdańska**

Ziemniak (*Solanum tuberosum* L) jest uznawany za roślinę wrażliwą na niedobory wody w glebie praktycznie w każdej fazie rozwojowej (Schlafleitner i in. 2007). Wystąpienie chociażby niewielkich niedoborów wody w glebie powoduje obniżenie plonu, ponieważ rozwój bulw zależy od ich zaopatrzenia w cukry.

W ramach realizowanego tematu w roku 2012 przeprowadzono doświadczenie w warunkach hali wegetacyjnej dla dziewięciu genotypów ziemniaka, w którym zastosowano dwutygodniową suszę glebową, trzy tygodnie po rozpoczęciu tuberyzacji. Wśród badanych odmian jedna odmiana była bardzo wczesna (Lord), dwie wczesne (Gwiazda i Michalina), a pozostałe średnio-wczesne (Boryna, Ignacy, Igor, Jurek, Kaszub i Oberon).

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.
- 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 Igor jest odporna na suszę glebową.
- Wykazano, że NP-MANOVA jest wiarygodnym i szybkim sposobem oceny istotności statystycznej różnic odmianowych w odpowiedzi roślin na suszę.
- Wykazano, że za wrażliwość roślin ziemniaka na suszę glebową odpowiedzialny jest aparat fotosyntetyczny, o czym świadczą badania wymiany gazowej oraz zmieniona ekspresja białek odpowiedzialnych za wiązanie CO<sub>2</sub>.
- Indukcja aktywności enzymów antyoksydacyjnych przez deficyt wody wydaje się być związana z wrażliwością roślin 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**

Prace realizowane w projekcie w roku 2012 miały na celu pozyskanie i zgromadzenie danych eksperymentalnych pozwalających na ocenę zakresu zmienności genetycznej puli materiałów hodowlanych *Solanum tuberosum* oraz dokonanie analizy interakcji genotypowo-środowiskowej wybranych cech roślin i bulw tego gatunku istotnych dla wartości agrotechnicznej i użytkowej ziemniaka, w tym także właściwości decydujących o bezpieczeństwie żywieniowym bulw ziemniaka.

W tym celu przeprowadzone zostały 4 eksperymenty polowe w różnych miejscowościach kraju, w różnych warunkach glebowo-klimatycznych. Każdy uwzględniony w badaniach genotyp uczestniczył w doświadczeniach zrealizowanych w 2 punktach, a także przeprowadzono

doświadczenia przechowalnicze i badania oceny laboratoryjnej w ramach następujących zadań badawczych:

- Analiza parametrów rozwoju roślin ziemniaka determinujących plon i jego strukturę.
- Ocena zakresu zmienności puli genetycznej ziemniaka pod względem abiotycznie uwarunkowanych cech pogarszających wygląd bulw i mięszu (spękania i deformacje, uszkodzenia mechaniczne, pustowatość, rdzawa plamistość mięszu).
- Analiza zależności pomiędzy warunkami środowiska uprawy a genotypem w występowaniu chorób skórki bulw (*R. solani*, *H. solani*, *Streptomyces ssp.*).
- Poszukiwanie form łączących małe wymagania nawozowe oraz niską kumulację azotanów i glikoalkaloidów w bulwach ziemniaka.
- Ocena genotypów roślin ziemniaka pod względem zdolności do produkcji biomasy, skrobi i jej jakości oraz białka.
- Identyfikacja źródeł zmienności parametrów procesu kiełkowania sadzianek ziemniaka (długość okresu spoczynku, liczba kiełkujących oczek, intensywność kiełkowania itp.).
- Badanie wpływu genotypu na cechy konsumpcyjno-technologiczne w okresie przechowywania.
- Określenie trwałości przechowalniczej genotypów ziemniaka w zależności od warunków przechowywania.
- Kwantyfikacja cech określających przydatność odmian ziemniaka do produkcji ekologicznej oraz niskonakładowej.

W wymienionych zadaniach badawczych uwzględniono łącznie 66 genotypów ziemniaka wskazanych przez jednostki hodowli tego gatunku. Z tej liczby: 35 genotypów objętych zostało pełnym zakresem badań polowych i laboratoryjnych wykonywanych bezpośrednio po zbiorze, 8 genotypów uwzględniono w badaniach mających na celu ocenę przydatności do uprawy ekologicznej, a dla 35 genotypów zebranych jesienią 2011, w sezonie przechowalniczym 2011/2012 wykonano doświadczenia przechowalnicze i oceniono wartość użytkowo-technologiczną materiałów hodowlanych oraz poziom cech decydujących o trwałości przechowalniczej.

Układ czynników meteorologicznych w roku 2012 był na przeważającym terenie kraju korzystny dla ziemniaka.

Zróznicowanie naturalnych warunków środowiska w punktach badań będące następstwem zmienności rozkładu i sum opadów a także warunków termicznych w kolejnych fazach rozwoju roślin w sezonie wegetacyjnym 2012 okazało się istotne dla kształtowania plonów i ich jakości. Poza istotnością zróznicowania genotypowego ocenianych cech, odnotowano także statystycznie udowodnioną zmienność genotypowo-środowiskową. Istotne uwarunkowania genotypowo-środowiskowe stwierdzono również dla tych cech, które determinują wartość przechowalniczą genotypów.

Wyniki badań upoważniają do przedstawienia następujących wniosków:

1. W występujących w sezonie wegetacyjnym korzystnych dla ziemniaka warunkach obserwowano bardzo wyraźnie zróznicowanie długotrwałości faz rozwoju roślin ocenianych genotypów.
2. Genotypy zakwalifikowane, jako wcześniejsze istotnie różniły się, co do tempa przyrastania masy części nadziemnej, rozwoju powierzchni asymilacyjnej a także liczebności stolonów, zawiązków i bulw, ale żadna z porównywanych kracji hodowlanych nie wyróżniała się zdecydowanie wcześniejszą tuberyzacją bądź szybszym tempem gromadzenia masy bulw.
3. Gromadzone w tak korzystnych warunkach rozwoju roślin plony okazały się bardzo wysokie, w pojedynczych przypadkach przekraczały 75t/ha.
4. Ocena plonowania wskazuje, że nowe genotypy o krótszym okresie wegetacji charakteryzuje wyższy potencjał plonowania w porównaniu z odmianami będącymi w uprawie, natomiast w grupie średnio wczesnych kształtował się on na bardzo zbliżonym poziomie.
5. Oceniane genotypy były istotnie zróznicowane pod względem występowania bulw z nieprawidłowościami mięszu oraz defektami kształtu w plonie.
6. W każdej z porównywanych grup genotypów odnotowano kracje hodowlane istotnie różniące się występowaniem objawów powodowanych przez sprawców chorób skórki.
7. Plony zebrane w 2012 charakteryzowała średnia odporność na uszkodzenia mechaniczne bulw. Na uwagę zasługuje znaczna liczba genotypów (8) średnio wczesnych o wysokiej odporności.
8. Ocena genotypów, co do wymagań nawozowych wskazuje, że korzystnym poziomem tej cechy wyróżniało się 6 spośród nich. Stwierdzono również, że oceniane kracje hodowlane w warunkach



- badań charakteryzowała niska (w nielicznych przypadkach średnia) skłonność do kumulacji substancji anty-żywnościowych w bulwach.
9. Z badanych 35 genotypów, 21 w pełni wykorzystano potencjał plonowania, w tym niektóre zapewniając wysokie plony suchej masy (powyżej 15 t·ha<sup>-1</sup>) i skrobi (powyżej 9 t·ha<sup>-1</sup>), wykazały bardzo wysoki potencjał produkcyjny.
  10. Niemal połowa ocenianych genotypów to materiały o niskim procencie oczek kiełkujących w łodygi. Do grupy cechującej się najwyższym udziałem takich oczek zaliczono tylko 5 genotypów.
  11. Ze względu na znaczne zdrobnienie bulw oraz niski poziom plonowania w warunkach roku 2012 dwa genotypy określono jako najmniej przydatne do uprawy ekologicznej.
  12. Niską zawartość cukrów redukujących po zbiorze odnotowano u 3 genotypów wcześniejszych, 10 średnio wczesnych i 3 późniejszych.
  13. Mała intensywność ciemnienia enzymatycznego po zbiorze cechowała 5 genotypów, natomiast ciemnienie bulw po ugotowaniu kształtowało się podobnie u genotypów wszystkich wczesności. Wyjątkiem były bulwy 1 genotypu (B46), u którego wartość ta kształtowała się poniżej wartości granicznej.
  14. Bardzo małą i małą podatnością na ciemną plamistość poudarzeniową (CPP) po zbiorze charakteryzowało się 5 genotypów wcześniejszych, 6 z grupy średnio wczesnych oraz 1 późniejszy.
  15. Stwierdzono, że po długotrwałym przechowywaniu bulw w warunkach kontrolowanych (temp. 5°C i 8°C, wilgotność względna pow. ok. 90%):
    - stabilną zawartością suchej masy i skrobi cechowały się bulwy 4 genotypów wcześniejszych, 7- średnio wczesnych oraz 2 późniejszych,
    - niską zawartością cukrów redukujących w wyższej temperaturze przechowywania odznaczało się 7 genotypów, natomiast w temperaturze niskiej tylko 2 genotypy,
    - tylko jeden genotyp niezależnie od warunków środowiska uprawy i przechowywania nie kumulował cukrów prostych,
    - intensywność ciemnienia surowej miazgi wszystkich genotypów była na podobnym poziomie, tylko u 5 genotypów ciemnienie bulw po ugotowaniu było determinowane warunkami przechowywania,
    - niezależnie od miejsca uzyskania plonu, czasu i temperatury przechowywania bardzo małą i małą podatnością na CPP wyróżniało się 5 genotypów wcześniejszych, 3 średnio wczesne i 1 późniejszy, natomiast dużą i bardzo dużą podatnością 2-wcześniejsze, 4 średnio wczesne i 3 późniejsze,
    - dobrej jakości frytki i chipsy, niezależnie od temperatury przechowywania bulw, otrzymano jedynie z genotypu B48,
    - większość materiałów (29 genotypy z punktów 2, 3, 4 oraz 27 genotypów z punktu 1) cechowała wysoka wartość przechowalnicza w temperaturze 5°C, a w wyższej temperaturze wysoką trwałością przechowalniczą wyróżniło się mniej genotypów (odpowiednio 16 i 22),
    - ubytki naturalne za cały okres przechowywania w temperaturze 5°C wyniosły średnio - 5,9%, w tym u 10 genotypów kształtowały się one poniżej 4,0%, natomiast w temperaturze wyższej (8°C) - 7,9%,
    - 14 genotypów, niezależnie od miejsca uzyskania plonu i temperatury przechowywania, nie było porażone chorobami przechowalniczymi.

**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**

Przedmiotem indukcji haploidów matecznych było 228 genotypów. Genotypy te zostały poddane indukcji w sezonie 2011. W 2012 roku przeprowadzono analizę nasion z kolb matecznych uzyskanych w wyniku indukcji haploidów. Zidentyfikowano łącznie 46735 nasion „domniemanych” haploidów do

dalszych analiz i prac badawczych. Przeprowadzono podwajanie liczby chromosomów przy zastosowaniu kolchicyny, w siewkach haploidalnych.

Zidentyfikowano rośliny, które wykazywały cechy roślin haploidalnych w liczbie 16008 (100%). W tej grupie, były jednak rośliny, które nie wytworzyły znamion - 4472 (27,9%). Zidentyfikowano także grupę roślin - 5819 (36,4%) o fenotypie haploidalnym, które były sterylne (nie wytwarzały pyłku). 5717 (35,7%) roślin było płodnych. Identyfikacja tej grupy roślin - podwojonych haploidów - jest głównym celem prowadzonych badań. Rośliny te poddano samozapyleniu w celu wytworzenia nasion pokolenia DH<sub>1</sub>. 4089 roślin (71,5%) spośród poddanych samozapyleniu zawiązało nasiona.

Badania nad optymalizacją kolchicynowania przeprowadzono na 12 genotypach matecznych (6 genotypów z puli SH i 6 genotypów z puli KB). Siewki otrzymane z tych genotypów poddano kolchicynowaniu roztworami kolchicyny o stężeniach 0,06 i 0,08% przez 10 i 12 godzin, w temperaturze 26 stopni Celsjusza.

Analiza genotypów SH wskazała, że najbardziej efektywnymi wariantami było traktowanie siewek roztworem kolchicyny w stężeniu 0,06% przy czasie ekspozycji 10 godzin - efektywność podwajania 57,7%. Warianty z roztworem kolchicyny 0,06% i ekspozycją siewek przez 12 oraz 0,08% stężenie kolchicyny przy 10-cio i 12 godzinnej ekspozycji były mniej efektywne. Uzyskano 28,6-43,8% podwojonych haploidów. Najwyższą efektywność podwajania chromosomów zanotowano w genotypie SH35/11 (62,1%).

Analiza genotypów KB wykazała, że najbardziej efektywnym wariantem było traktowanie siewek roztworem 0,06% i 10 godzin ekspozycji (efektywność kolchicynowania 44,1%). Najwyższą efektywność podwajania chromosomów zanotowano w genotypie KB 74/11 (60,0%).

#### **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**

W wyniku badań nad kukurydzą ziarnową wyróżniono:

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

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

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

Na podstawie doświadczeń, których celem było określenie parametrów nadziemnej części rośliny, wyróżniono:

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

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

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

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

Ze względu na wysokość i stabilność plonowania suchej masy kolb:

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

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

### **Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 72.**

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

**Kierownik projektu: dr E. Kochańska-Czembor**

W ramach projektu realizowano dwa podzadania:

- charakterystyka linii wsobnych kukurydzy na fuzariozę kolb w warunkach polowych przy infekcji naturalnej oraz po inokulacji osobno *Fusarium graminearum* i *F. verticillioides*
- prowadzenie selekcji cyklicznej materiałów przekazanych do badań w latach 2010, 2011 i 2012 (uzyskano odpowiednio pokolenie S<sub>3</sub>, S<sub>2</sub> i S<sub>1</sub>).

#### ***Material roślinny i metodyka prowadzonych prac***

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

Scharakteryzowano 100 linii wsobnych. Linie były zróżnicowane pod względem pochodzenia i należały do następujących grup: dent, flint, IDT, Lancaster, SSS / IDT. Pochodzenie 11 linii nie było znane. Oceniono 5151 pojedynków w tym: 1818 po inokulacji grzybem *F. graminearum*, 1818 pojedynków po inokulacji grzybem *F. verticillioides* i 1515 pojedynków rosnących przy infekcji naturalnej (doświadczenie prowadzono w układzie trzech powtórzeń, oceniając stopień odporności średnio 6 pojedynków w każdym powtórzeniu dla każdej kombinacji).

Do inokulacji wykorzystano izolaty *F. graminearum* i *F. verticillioides* wyisobnione z porażonych prób ziarna w latach poprzednich, reprezentatywne dla populacji każdego gatunku występującej na terenie Polski.

Do oceny fenotypowej stopnia porażenia kolb używano skali 1–7 (1 – 0% ziarniaków z objawami porażenia; 2 – od 1% do 3% ziarniaków porażonych; 3 – od 4% do 10% ziarniaków porażonych; 4 – od 11% do 25% ziarniaków porażonych; 5 – 26% do 50% ziarniaków porażonych; 6 – od 51% do 75% ziarniaków porażonych; 7 – od 76% do 100% ziarniaków porażonych). Genotypy, których porażenie oceniono zostało w zakresie 1 – 3,5 należą do grupy odpornych i średnio odpornych i stanowią potencjalne źródła odporności. Genotypy, których kolby porażone są w zakresie 3,5–5,5 to formy średnio podatne, a formy ocenione w zakresie 5,5–7,0 jako bardzo podatne.

Prowadzenie selekcji cyklicznej materiałów przekazanych do badań w latach 2010, 2011 i 2012 (uzyskano odpowiednio pokolenie S<sub>3</sub>, S<sub>2</sub> i S<sub>1</sub>).

Rośliny charakteryzowano po zapyleniu wsobnym. Opisywano wczesność, odporność na fuzariozę kolb oraz odporność na zgorzel podstawy łodygi. Odnotowywano również występowanie główki pyłacej. Odporność na fuzariozę kolb oceniano po inokulacji grzybem *F. graminearum* nakłuwając je drewnianymi patyczkami na których namnażano grzyb *F. graminearum*. Zgorzel podstawy łodygi opisywano przy infekcji naturalnej. Łodygi krojono do wysokości 3 międzywęzła. Używano skali 1–9. Potencjalne źródła odporności stanowiły pojedynki, których stopień odporności na fuzariozę kolb po inokulacji został oceniony w zakresie 1–3 co odpowiada, że maksymalnie na 10% ziarniaków

widoczne było porażenie grzybem. Doświadczenia zakładano w siewie rzędom, 75 cm odległości pomiędzy rzędami, 25 roślin w każdym rzędzie.

#### Monitorowanie warunków atmosferycznych

Prowadzono pomiary temperatury powietrza na wysokości 2 m nad gruntem oraz pomiary opadów. Opracowano średnie dekadowe wartości temperatur powietrza oraz dekadowe sumy opadów i przedstawiono w formie wykresów dla lat 2011–2012. Uwzględniono również temperatury maksymalne, ponieważ one, łącznie z wilgotnością powietrza, w sposób istotny wpływają na rozwój grzybów z rodzaju *Fusarium* spp. Średnio, maksymalne temperatury w roku 2012 były wyższe niż w 2011. Ilość opadów rozkładała się znacznie bardziej równomiernie w stosunku do roku 2011. Były to warunki bardzo sprzyjające do rozwoju grzyba.

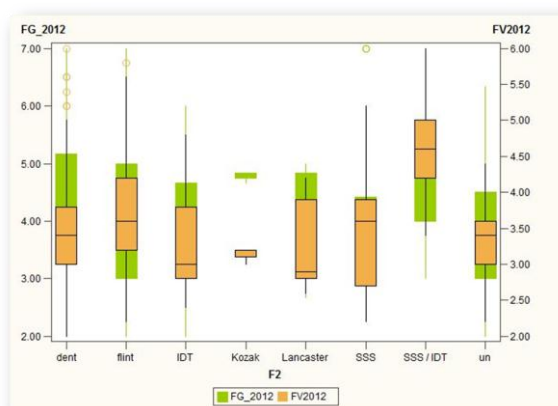
#### Analizy statystyczne

W celu ułatwienia interpretacji relacji pomiędzy porównywanymi obiektami i wydzielenia grup odpornych, średnio odpornych, średnio podatnych i podatnych przeprowadzono analizę PCA (składowych głównych) i analizę skupień. Wyniki przedstawiono w formie rysunku.

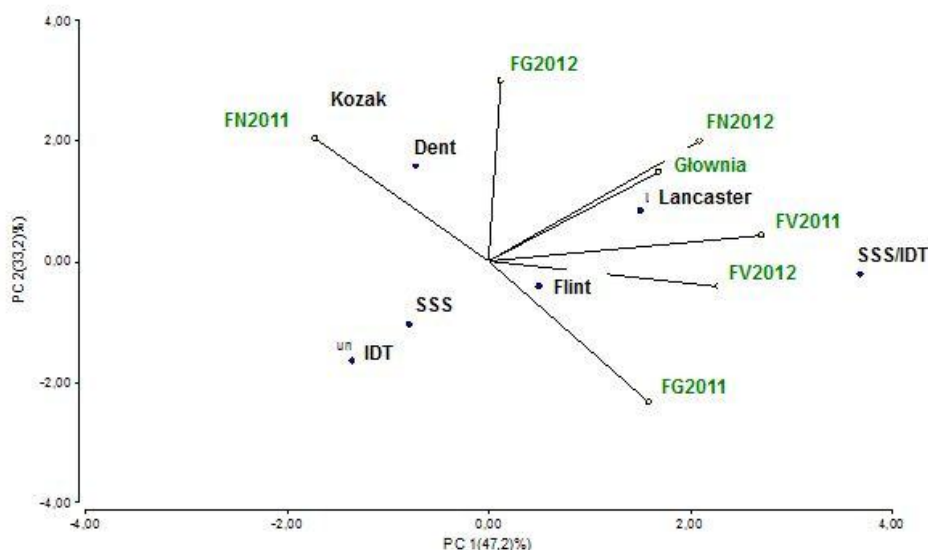
#### Uzyskane wyniki

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

Stwierdzono istotne różnice pomiędzy grupami pod względem odporności na fuzariozę kolb przy infekcji naturalnej i po inokulacji *F. verticillioides* i po inokulacji *F. graminearum*. W 2012 roku porażenie kolby poszczególnych genotypów było średnio o ok. 7% wyższe niż w roku poprzednim gdy zakres porażenia wynosił 1,2–2,3. Prawidłowo przebiegało również różnicowanie materiału po inokulacji *F. graminearum* i *F. verticillioides*. Grzybnia *F. verticillioides*, który jest patogenem mniej agresywnym w porównaniu do *F. graminearum*, rośnie wolniej, i fenotypowe objawy porażenia są mniej widoczne. Jednak uszkadza ziarniaki od wewnątrz, i zawartość toksyn może być wysoka. Podobnie jak w przypadku infekcji naturalnej, rozpiętość stopnia porażenia poszczególnych genotypów po inokulacji *F. verticillioides* (2,1–5,8) pozwoliła wydzielić grupy o podwyższonej odporności, średnio odporne, średnio podatne i podatne. Również, średni stopień porażenia po inokulacji *F. graminearum* był o 1 stopień niższy niż w roku poprzednim i właściwie zróżnicował materiał. Stwierdzono, że formy Lancaster oraz SSS/IDT, co potwierdziły wyniki uzyskane w roku poprzednim (grupa SSS/IDT reprezentowana była przez 5 obiektów a Lancaster przez 4 obiekty) były najbardziej podatne na porażenie *F. graminearum* i *F. verticillioides* oraz przy infekcji naturalnej. Były one również podatne na porażenie główką guzowatą kolb. Pozostałe grupy charakteryzowały się szerokim zakresem zmienności i można w nich było wyodrębnić genotypy bardziej podatne i bardziej odporne. W grupach tych można wyodrębnić genotypy, których stopień odporności został oceniony poniżej 3,5.



W celu ułatwienia interpretacji relacji pomiędzy porównywanymi liniami wsobnymi i wydzielenia grup odpornych, średnio odpornych, średnio podatnych i podatnych przeprowadzono analizę PCA (składowych głównych) i analizę skupień. Wyniki przedstawiono w formie rysunku wykresu. Analiza składowych głównych potwierdziła, że grupy Lancaster, SSS i IDT są formami najbardziej podatnymi.



Prowadzenie selekcji cyklicznej materiałów przekazanych do badań w latach 2010, 2011 i 2012 (odpowiednio pokolenie  $S_3$ ,  $S_2$  i  $S_1$ ).

Populacje  $S_0$ . Oceniono stopień odporności 1113 pojedynków należących do 41 populacji KB- $S_0$  uzyskując pokolenie  $S_1$ . Materiały te scharakteryzowano jako średnio odporne lub średnio podatne na fuzariozę kolb po inokulacji *F. graminearum* (zakres zmienności średniego stopnia odporności dla populacji wahał się od 2,35 – populacja KB 84/12 do 6,18 – populacja KB98/12). Łącznie w grupie populacji KB  $S_0$  do dalszych badań wytypowano 804 pojedynki jako potencjalne źródła odporności. Stwierdzono duży zakres zmienności dla stopnia odporności na porażenie głownią (co miało obok zgorzeli podstawy łodygi również istotny wpływ na liczbę pojedynków uwzględnionych do dalszych badań). Zakres zmienności dla procentu roślin porażonych głownią guzowatą wahał się od 0% do 20% (populacja KB98/12).

W grupie 80 populacji SH  $S_0$  oceniono stopień odporności 3471 pojedynków. Średni stopień odporności dla poszczególnych populacji wahał się w zakresie 4,76 (SM80) do 2,0 (SM3). Łącznie w grupie populacji SM  $S_0$  do dalszych wytypowano 1192 pojedynków jako potencjalne źródła odporności. Stwierdzono również duży zakres zmienności dla stopnia odporności na porażenie głownią. Tylko w obrębie jednej populacji nie wystąpiły pojedynki porażone głownią guzowatą. Najwyższy procent roślin porażonych wystąpił w obrębie populacji SM111 (35% oraz SM49 29%).

Linie  $S_1$  – Były to materiały przekazane do badań w 2011 roku i wytypowane w latach 2011 i 2012 jako źródła odporności należące do 38 populacji KOB. Łącznie oceniono 939 pojedynków a do dalszych badań wytypowano 455 pojedynków jako potencjalne źródła odporności (tab. 6). Stwierdzono wysoki stopień porażenia głownią. Najwyższy procent roślin porażonych głownią wystąpił w obrębie populacji KOB45/11 (38,9%)

Linie  $S_2$  – Były to materiały wytypowane w latach 2010 i 2011 jako źródła odporności należące do 3 populacji KOB (KOB31/10, KOB32/10 oraz KOB33/10). Łącznie w obrębie tych populacji przebadano 688 pojedynków z których do dalszych badań wytypowano 302 pojedynki jako potencjalne źródła odporności. W obrębie populacji KOB31/10 procent roślin porażonych głownią był najwyższy (9,1%).

	liczba roślin badanych	wczesność		fuzarioza kolb	zgorzel podstawy	źródła odporności	% roślin porażonych głownią
		min	max	śr	śr		
<b>SO - Populacje SH (80)</b>							
suma /średnia	3471	69	78	3,2	4,0	1192	6,6
<b>SO - Populacje KOB (30)</b>							
suma /średnia	2025	70	83	3,4	4,2	804	5,8
<b>S1 - Populacje KOB (38)</b>							
suma /średnia	939	70	85	3,2	4,1	455	13,5
<b>S2 - Populacje KOB (3)</b>							
suma /średnia	688	70	81	3,0	5,2	302	5,2
<b>SUMA 2012</b>							
<b>liczba roślin badanych</b>				<b>7123</b>	<b>źródła odporności</b>		<b>2753</b>

### **Najważniejsze osiągnięcia:**

- Scharakteryzowano 100 linii wsobnych po inokulacji dwoma grzybami osobno *F. graminearum* i *F. verticillioides*, które są głównymi sprawcami fuzariozy kolb oraz przy infekcji naturalnej - Linie zróżnicowano i wskazano grupę która charakteryzuje się wysoką odpornością na porażenie.
- Scharakteryzowano 100 linii wsobnych dla stopnia podatności na głównię guzowatą kukurydzy.
- Scharakteryzowano 7123 pojedynki po zapyleniu wsobnym - pod względem odporności na fuzariozę kolb po inokulacji grzybami z rodzaju *Fusarium* spp. i na zgorzel podstawy łodygi przy infekcji naturalnej. Do dalszych badań wytypowano 1561 pojedynków jako potencjalne źródła odporności w tym:
  - 804 w grupie populacji KOB oraz 1192 w grupie populacji SH jako pokolenie S<sub>1</sub>,
  - 455 pojedynków w grupie populacji KOB jako pokolenie S<sub>2</sub>
  - 302 pojedynki w grupie populacji KOB jako pokolenie S<sub>3</sub>.

### **Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 76.**

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

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

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

Materiałem wyjściowym do badań były wielonasienne diploidalne zapylacze buraka cukrowego – typu cukrowego (51 genotypów), cukrowo-normalnego (53 genotypy) i normalnego (54 genotypy). Zalążki do kultur *in vitro* pobierano z roślin rosnących w szklarni. Wykładano je na pożywkę Murashige i Skooga (MS) zawierającą 1 mg·dm<sup>-3</sup> BAP i 0,1 mg·dm<sup>-3</sup> NAA. Ogółem wyłożono na pożywki 5625 niezapłodnionych zalążków typu cukrowego, 6180 cukrowo-normalnego i 6525 typu normalnego.

Genotyp rośliny rodzicielskiej był czynnikiem determinującym zdolność do gynogenezy. Odsetek zalążków diploidalnych wielonasiennych zapylaczy tworzących rośliny, w zależności od genotypu, wahał się od 0,7 do 43,3%. Wyższą zdolność do regeneracji roślin obserwowano u typu cukrowo-normalnego i normalnego (średnio 6,2 i 5,9%), nieco niższą u typu cukrowego (średnio 4,5%). Wśród badanych linii wielonasiennych zapylaczy buraka obserwowano genotypy o znacznie wyższej od średniej zdolności do regeneracji roślin z izolowanych zalążków (33,3% typ cukrowo-normalny, 43,3% typ normalny). Uzyskano 251 roślin z niezapłodnionych zalążków izolowanych z buraków typu cukrowego, 384 rośliny typu cukrowo-normalnego i 384 rośliny z zalążków typu normalnego.

W celu określenia optymalnego składu pożywek mineralnych oraz stężeń regulatorów wzrostu dla zwiększenia liczby regenerujących haploidalnych zarodków z niezapłodnionych zalążków buraka zastosowano pożywki MS (Murashige i Skoog 1962) i KB<sub>5</sub> (Leelavathi i in. 1984) zawierające 1 mg·dm<sup>-3</sup> BAP oraz 1 mg·dm<sup>-3</sup> TDZ. Zalążki do kultur *in vitro* izolowano z 21 genotypów typu cukrowego, cukrowo-normalnego i normalnego.

Wyniki wpływu różnych pożywek mineralnych na regenerację roślin z niezapłodnionych zalążków zależały od genotypu rośliny matecznej i rodzaju zastosowanej cytokininy. Procent roślin otrzymanych z zalążków był nieco wyższy na pożywkach z TDZ (średnio 6,7%) niż na pożywkach z BAP (średnio 4,9%). Obserwowano obniżenie zdolności do tworzenia roślin na pożywkach MS i KB<sub>5</sub> zawierających BAP w porównaniu do pożywek zawierającej TDZ. Zastosowanie pożywki indukcyjnej KB<sub>5</sub> miało korzystny wpływ na częstotliwość regeneracji roślin z niezapłodnionych zalążków. Regeneracja roślin haploidalnych z zalążków zależała od typu buraka cukrowego jak również od genotypu w obrębie danego typu. W typie cukrowo-normalnym z dwóch genotypów (99 1338-3 i 99 1439-3) nie uzyskano regeneracji haploidalnych zarodków. Odsetek zalążków tworzących rośliny wynosił od 0,0 do 18,7% na pożywkach z BAP oraz od 0,0 do 23,7% na

pożywkach zawierających TDZ. Zalążki pochodzące z roślin typu cukrowego (średnio 3,7–9,1%) i typu normalnego (średnio 4,6–6,7%) charakteryzowały się wyższą zdolnością do gynogenezy w porównaniu do zalążków typu cukrowo-normalnego (średnio 3,7–5,5%). Podsumowując wyniki tych doświadczeń stwierdzono dwukrotny wzrost efektywności regeneracji niezapłodnionych zalążków buraka cukrowego w kulturach *in vitro* w porównaniu do badań prowadzonych w latach ubiegłych.

Po pierwszym pasażu określono ploidalność regenerantów przy użyciu cytometru przepływowego Partec CCA. Oznaczono stopień ploidalności 474 roślin uzyskanych z zalążków wielonasiennych zapylaczy. Wśród analizowanych roślin 416 było haploidami (87,8%), 46 diploidami (9,7%) a 12 posiadało różną liczbę chromosomów (2,5%). Przeprowadzono również analizy izoenzymatyczne diploidów w celu określenia czy regeneranty pochodzą z diploidalnych komórek somatycznych zalążka czy z haploidalnej komórki jajowej i uległy samorzutnej diploidyzacji. Dla badanych 4 izoenzymów (PGI – izomeraza glukozy-6-fosforanowa, PGM – fosfoglukomutaza, MDH – dehydrogenaza jabłczanowa, IDH – dehydrogenaza izocytrynianowa) uzyskano wzory prążkowe typowe dla homo- i heterozygot. Stwierdzono wśród badanych 46 klonów obecność 25 (54,3%) diploidów homozygotycznych i 21 (45,7%) diploidów heterozygotycznych. Otrzymane w wyniku przeprowadzonych badań rośliny homozygotyczne są rozmnażane w kulturach *in vitro* w celu uzyskania większej ilości materiału potrzebnego do dalszych badań.

Prawidłowo rozwinięte haploidy pochodzące z różnych zalążków po rozmnożeniu, po trzecim pasażu poddano diploidyzacji poprzez traktowanie kolchicyną w warunkach *in vitro*. Otrzymane w wyniku przeprowadzonych badań rośliny diploidalne zostały rozmnożone i ukorzenione w kulturach *in vitro*. Prawidłowo rozwinięte rośliny wysadzono do doniczek w szklarni a następnie w polu. Ogółem wysadzono 12 linii podwojonych haploidów wyprowadzonych z wielonasiennych zapylaczy typu cukrowego, 95 linii typu cukrowo-normalnego, 57 linii typu normalnego, obejmujących 1445 roślin. Linie podwojonych haploidów otrzymane z zalążków różnych genotypów były zróżnicowane pod względem cech morfologicznych przy jednoczesnej jednorodności wewnątrz linii. Obserwowano rośliny różniące się intensywnością barwy liści, od jasno do ciemnozielonej. Ponadto różniły się kształtem liści, długością ogonków i szerokością blaszek liściowych oraz brzegiem blaszki liściowej (od całego do podwójnie karbowanego). Podwojone haploidy charakteryzowały się dobrym ulistnieniem i wykształciły korzeń spichrzowy. Korzenie 158 linii podwojonych haploidów buraka zebrano i umieszczono w przechowalni.

Wiosną 2012 roku wysadzono w szkółkach hodowlanych korzenie 68 linii podwojonych haploidów, które były jarowizowane w okresie zimy w przechowalni. Linie DH tworzyły kwiatostany na które zakładano izolatory w celu uzyskania nasion. Liczba linii DH z prawidłowo zawiązanymi nasionami w dużym stopniu zależała od samozgodności badanych materiałów. Z analizowanych 68 linii podwojonych haploidów 27 linii zawiązało nasiona (39,7%), 12 linii wybiło w pędy nasienne ale nie tworzyło nasion (17,6%). Obserwowano również linie tworzące nasiona puste (36,8%) lub słabo wykształcone (5,9%). Ostatecznym kryterium decydującym o przydatności podwojonych haploidów do selekcji wartościowych linii homozygotycznych buraka cukrowego będzie wielkość plonu korzeni i plonu technologicznego cukru oraz procentowa zawartość cukru w korzeniach.

#### **Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 80.**

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

**Kierownik projektu: dr L. Boros**

Badania obejmowały ocenę podatności na porażenie *M. pinodes* nowych genotypów grochu siewnego w doświadczeniu polowym z kontrolowaną infekcją (22 genotypy) oraz w warunkach kontrolowanych (20+15 genotypów). Łącznie badano 35 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 6,9% 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 F<sub>8</sub> (159) z ośmiu kombinacji z krzyżowań międzyodmianowych z odmianą Radley. Badane linie różniły się pod względem wczesności, wysokości roślin, wylegania. Zgorzelowa plamistość wystąpiła w niskim nasileniu. Średnie porażenie linii grzybem *M. pinodes* w poszczególnych kombinacjach krzyżowań było nieznacznie niższe od porażenia odpowiednich form matecznych przy bardzo małym zakresie zmienności pomiędzy liniami wywodzącymi się z określonej kombinacji jak również pomiędzy liniami bez względu na kombinacje. Produktywność wyrażona masą nasion z poletka była niższa od produktywności lepszych rodziców. Jednakże zakres zmienności dla tej cechy wskazuje na możliwość wyboru linii, które będą łączyły podwyższoną odporność na *M. pinodes* z innymi korzystnymi cechami użytkowymi. Za pomocą analizy skupień metodą Warda, wydzielono grupy obiektów o dużym podobieństwie pod względem porażenia *M. pinodes*, wysokości roślin, wylegania, plonu nasion z poletka, zawartości białka w nasionach oraz masy 1000 nasion.

Kontynuowano prace nad introgresją genów odporności z *Pisum fulvum* do *Pisum sativum*. W bieżącym sezonie wegetacyjnym wysiano populację F<sub>7</sub> na polu infekcyjnym. Obserwowano niestabilność fenotypową, wystąpiły rośliny ze znacznymi deformacjami, z zaburzeniami chlorofilowymi czy sterylne. Badane materiały wykazywały znaczną segregację dla szeregu cech morfologicznych (wysokość roślin, typ ulistnienia, barwa kwiatów, wczesność, wielkość nasion i kolor okrywy nasiennej). Zebrano 68 linii, wyselekcjonowano 199 pojedynków z segregujących rodzin oraz 59 potomstw pojedynków wyselekcjonowanych w poprzednim sezonie wegetacyjnym. Zebrane materiały będą przedmiotem dalszych prac.

W dwóch doświadczeniach polowych w warunkach prowokacyjnych z opóźnionym terminem wysiano 10 genotypów grochu w tym zarejestrowane w 2012 roku odmiany Mecenasa i Akord (termin I – 18.04.2012r. i termin II - 04.05.2012r.). Ponadto w tych samych terminach wysiano 60 linii grochu wyprowadzonych z 8 kombinacji krzyżowań z odporną na mączniaka linią. Nie obserwowano porażenia mączniakiem właściwym badanych genotypów w pierwszym opóźnionym terminie siewu. W drugim terminie opóźnionego siewu porażenie wystąpiło na odmianach Mecenasa, Akord i JI 502 oraz na 12 liniach. Zebrano 49 linii bez oznak porażenia mączniakiem właściwym. Zabezpieczone nasiona z dwóch terminów opóźnionego siewu pozwolą na wysiew w doświadczeniu z powtórzeniami do oceny innych cech użytkowych linii w przyszłym sezonie wegetacyjnym.

#### **Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 83.**

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

**Kierownik projektu: dr D. Martyniak**

W roku 2012 przedmiotem badań było dziewięć gatunków traw wieloletnich: perz wydłużony (*Agropyron elongatum*), stokłosa uniolowata (*Bromus unioloides*), stokłosa bezostna (*Bromus inermis*), rajgras wyniosły (*Arrhenatherum elatius*), kostrzewa trzcinowa (*Festuca arundinacea*), mozga trzcinowata (*Phalaris arundinacea*) kupkówka pospolita (*Dactylis glomerata*), tetraploidalna życica trwała (*Lolium perenne*), życica wielokwiatowa (*Lolium multiflorum*), z przeznaczeniem na cele energetyczne do spalania i produkcji biogazu. Wymienione gatunki stanowią w większości źródło biomasy lignocelulozowej – tzn. składającej się głównie z wielocukrów złożonych, takich jak lignina i celuloza. Gatunki te rozmnażają się przez nasiona i są one w stanie rosnąć i zadawałająco plonować przez okres od kilku do kilkunastu lat, przy stosunkowo niskich nakładach na pielęgnację. Predysponowane są one na gleby nieprzydatne do produkcji żywności (słabe, suche, piaszczyste, nawet zasolone i skażone), zarówno ze względów ekologicznych jak ekonomicznych.



Zakres badań materiałów hodowlanych tych traw energetycznych był szeroki i dotyczył: opisu cech morfologicznych i biologicznych, plonu zielonej i suchej biomasy, uzysku biogazu i metanu z zielonki bądź z kiszonki, wartości opalowej w bezpośrednim spalaniu lub gazyfikacji biomasy (syngaz).

Podstawowym celem badań było określenie zakresu zmienności ważnych cech morfologicznych i biologicznych, charakteryzujących poszczególne genotypy i formy badanych tych traw wieloletnich. Prace koncepcyjne, techniczne w tym zakresie oraz wszystkie dotyczące plonu biomasy, nasiennictwa, żywotności nasion oraz cech jakościowych prowadzono w Radzikowie, zaś część badań dotyczących plonu zielonej i suchej biomasy zlokalizowano dodatkowo w trzech punktach na obszarze kraju (północ, zachód), w różnych warunkach glebowo-klimatycznych.

W laboratorium (na kiełkowniku) badano żywotność nasion pięciu gatunków traw o różnej masie tysiąca nasion. W większości genotypy charakteryzowały się dobrą lub bardzo dobrą zdolnością kiełkowania, powyżej 80 i 90%.

Ponadto analizowano materiał roślinny badanych genotypów i populacji traw energetycznych w warunkach polowych. Badane formy perzu wydłużonego wykazały się dużą zmiennością cech takich jak: liczba pędów generatywnych przypadających na roślinę, wysokość roślin w fazie generatywnej, długość kłosa oraz nieco mniejszą - długości i szerokości liścia. Populacje o dużej liczbie pędów generatywnych charakteryzowały się przeważnie mniejszą wysokością roślin i długością kłosa, oraz bardzo dużą liczbą kwiatostanów. Natomiast nr 33 miał najmniej pędów, które jednocześnie były wysokie oraz długi kłos. W pozostałych populacjach również korzystnie wyróżniały się niektóre pojedyncze cechy.

Znaczną zmienność stwierdzono także w zakresie plonu biomasy i plonu nasion w badanych populacjach (grupach genotypowych), które to cechy głównie decydują o wartości gospodarczej perzu wydłużonego.

W roku siewu 2012 określono również plon biomasy zielonej i suchej w trzech punktach w ścisłych doświadczeniach polowych założonych na obszarze kraju: Szelejewo, Bartązek i Wiatrowo. Średnie plony poszczególnych gatunków były w roku siewu zbliżone. Niezależnie od lokalizacji, największe plony dała stokłosa uniolowata: od 50 do 80 ton zielonki z ha. Stosunkowo nisko plonował w roku siewu perz wydłużony, ze względu na instalacje i tworzenie obfitego systemu korzeniowego. Charakterystyczne jest niższe plonowanie wszystkich badanych gatunków w warunkach klimatycznych panujących w północno-wschodnim rejonie kraju.

Równolegle prowadzono badania laboratoryjne ocenianego w polu materiału, które dostarczyły informacji o produkcji biogazu i wartości opalowej. Zlecone badania jakościowe biomasy pozwoliły dokładnie ocenić przydatność biomasy poszczególnych gatunków traw wieloletnich i form do spalania i produkcji biogazu.

Zawartość uzyskanego metanu w biogazie z kiszonki była zadowalająca, a podwyższoną zawartość metanu u perzu wydłużonego uzyskano dzięki zmiksowaniu, rozbiciu masy roślinnej. Należy podkreślić, że czas retencji materiału roślinnego perzu wydłużonego był krótki i fermentacja ustała w 21. dniu procesu, a 90% objętości metanu jest wytwarzane w ciągu 12-14 dni procesu.

Ponadto przebadano surowiec roślinny w postaci słomy, brykietu oraz peletu pod względem ciepła spalania (kaloryczności) i wartości opalowej w bezpośrednim spalaniu. Większość miała wartość opalową porównywalną z węglem brunatnym. Dotyczy to zwłaszcza kaloryczności wybranych form stokłosa uniolowatej i niektórych form perzu wydłużonego. Jednocześnie w materiale roślinnym stwierdzono znacznie mniejszą zawartość popiołu i siarki niż w węglu brunatnym. Odnotowano także pewną zależność ciepła spalania od wilgotności biomasy, im wyższa wilgotność tym gorsza wartość opalowa.

Dodatkowo poddano zgazowaniu surowiec z peletu i słomy perzu wydłużonego, który charakteryzował się zwiększonym udziałem węglowodorów i tlenu węgla w porównaniu z innymi badanymi paliwami oraz dużą szybkością spalania pozostałości koksowej na poziomie 7%/min, natomiast drewno na poziomie 11%/min.

Generalnie uzyskane wyniki badań poznawczych dowodzą ich celowości, pozwalają na wstępną ocenę wybranych materiałów roślinnych.

**Lp. w zał. do Rozporządzenia MRiRW: 104.**

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

**Kierownik projektu: dr L. Boros**

Ocenie poddano 33 nowe obiekty fasoli szparagowej i na suche nasiona. Materiały te wysiano w dwóch doświadczeniach, w trzech powtórzeniach, na poletkach 1-rzędkowych o 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 czterech powtórzeniach było doświadczenie z 17 obiektami, w tym 11 odmianami testowymi i 6 genotypami fasoli z kolekcji roboczej. Kombinacje kontrolne w w/w doświadczeniach chroniono miedzią. Podjęto prace nad wytworzeniem materiałów 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 (*S. sclerotiorum*) na innym polu założono doświadczenie z 33 obiektami (nowe rody fasoli szparagowej i na suche nasiona).

W ocenie polowej stopień porażenia odmian i linii antraknozą, bakteriozą i zgnilizną twardzikową określano wg 9-stopniowej skali: 1 – > 75% porażonych roślin; 3 – 51-75% porażonych roślin; 5 - 26-50% porażonych roślin; 7 - do 25% porażonych roślin; 9 – brak porażenia. Potwierdzeniem diagnozy opartej na symptomatologii było badanie preparatów wykonanych z porażonych tkanek zawierających organy zarodnikowania grzyba pod mikroskopem. 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 tej samej kultury pierwotnej.

Badania podatności na porażenie rasą gamma *C. lindemuthianum* wykonano w warunkach kontrolowanych wykorzystując test z inokulacją nasion 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 siedmiu, a z odmian testowych tylko na odmianie Michigan DRK. Nasilenie porażenia antraknozą podatnych linii mieściło się w przedziale od 2,3 do 7,7. Nie stwierdzono objawów porażenia na roślinach 87 linii.

W warunkach kontrolowanych przeprowadzono badania podatności na porażenie rasą gamma *C. lindemuthianum* 42 genotypów fasoli. Spośród testowanych genotypów, 18 było podatnych na porażenie rasą gamma.

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

Bakteriozy fasoli były chorobami notowanymi w znacznym nasileniu. Badane 33 genotypy fasoli szparagowej i na suche nasiona wykazywały objawy chorobowe. Średnie porażenie badanej grupy genotypów wyniosło 5,4 przy zróżnicowaniu genotypowym w przedziale 2,7-9. Spośród 96 własnych linii fasoli na suche nasiona, 35 obiektów nie wykazywało objawów chorobowych. Dla pozostałych 61 obiektów średnie porażenie wynosiło 7,4 przy zróżnicowaniu 3-9. Przeprowadzono identyfikację sprawców bakteriozy fasoli na 28 genotypach, w tym dla 17 identyfikację prowadzono na liściach i dla 11 na strąkach. Identyfikacja sprawców bakteriozy fasoli z wykorzystaniem testów immunodetekcji wykazała obecność bakterii *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* u wszystkich badanych genotypów z objawami bakteriozy, a w przypadku *P. syringae* pv. *syringae* stwierdzono jej obecność

u 15 na 28 badanych genotypów. Nie stwierdzono występowania *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* sprawcy ostrej bakteriozy fasoli.

Stwierdzono, że tylko nieliczne odmiany i linie fasoli były porażone przez *S. sclerotiorum*. Średnie porażenie badanych rodów fasoli szparagowej i na suche nasiona w doświadczeniu zlokalizowanym na polu infekcyjnym wyniosło 8,6 przy rozpiętości pomiędzy genotypami od 6 do 9. Łącznie w tym doświadczeniu porażonych było 6 genotypów. Uwzględniając wyniki z trzech doświadczeń stwierdzono porażenie na 11 genotypach.

W okresie sprawozdawczym przeprowadzono ocenę podatności na zgniliznę twardzikową 29 genotypów fasoli, w warunkach kontrolowanych, testem pośrednim, wykorzystującym reakcję siewek na kwas szczawiowy. Wśród badanych obiektów 26 to nowe genotypy, 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 2,6 do 3,35, przy ocenach podatności odmiany Isles (3,60), Newport (3,2) i Raven (2,9).