

Sprawozdania z realizacji projektów w roku 2010

MR 1. Identyfikacja oraz wprowadzenie do genomu genów determinujących odporność pszenicy na łamliwość źdźbła powodowaną przez grzyb *Pseudocercospora herpotrichoides*

Kierownik: dr hab. Halina Wiśniewska prof. nadzwyczaj., Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu

Wykonawcy: dr hab. M. Korbas, prof. nadzwyczaj., dr hab. H. Wiśniewska prof. nadzwyczaj. mgr inż. M. Kwiatek. mgr K. Pankiewicz, mgr inż. Jolanta Belter, J. Maszner, G. Cicha

Celem badań była analiza elektroforetyczna izoenzymów endopeptydaz komórkowych pozwalających zidentyfikować genotypy posiadające introgresywny fragment chromosomu *Aegilops ventricosa* i obecny w nim gen *Ep-D1b* sprzężony z genem *Pch1* determinującym odporność pszenicy na łamliwość źdźbła powodowaną przez *Pseudocercospora herpotrichoides*. Badano również ekspresję genu *Pch1* w warunkach polowych po inokulacji genotypów zawiesiną zarodników *Pseudocercospora herpotrichoides*

Badania obejmowały 134 genotypy pszenicy ozimej o zróżnicowanym podłożu genetycznym oraz odmianę Rendez-vous, jako wzorzec odporności na łamliwość źdźbła. Wykonano analizy białek w liściach pobranych z poszczególnych genotypów. Obserwowane u badanych 134 genotypów pszenicy ozimej zymogramy można posegregować do sześciu klas. Jak wynika z danych literaturowych tylko obecność dolnego prążka dla Ep-D1b przy jednoczesnym braku prążków Ep-D1a gwarantuje odporność na łamliwość źdźbła. Ten typ reprezentowany przez Rendez-vous stwierdzono również u 8 badanych genotypów pszenicy ozimej. Średni procent porażonych źdźbeł po inokulacji nie był wysoki. Podobnie przedstawiały się wielkości wskaźnika porażenia, który charakteryzuje zagrożenie badanych genotypów pszenicy przez łamliwość źdźbła. Wynosił on w zależności od genotypu od 0 do 3,01 i nie był wysoki. Średni % źdźbeł porażonych wyraźnie wskazuje, który genotyp jest odporny na porażenie przez *Pseudocercospora herpotrichoides*, a który jest wrażliwy. Wykorzystując metody badań związane z analizą izoenzymów endopeptydaz oraz wyniki otrzymane po inokulacji genotypów pszenicy szczepami grzyba wywołującego tę chorobę można stwierdzić, że 8 genotypów pszenicy (KBP 06.200, KBP 03 245, KBP 08.3, KBP 0652, NAD 0715, NAD9721, STH 810, MOB3982) wykazujących obecność endopeptydazy

Ep-D1b sprzężonej z genem warunkującym odporność na łamliwość źdźbła *Pch1*, wykazywało odporność na tego patogena, określoną za pomocą markerów fenotypowych. Te genotypy mogą być źródłem do wprowadzenia odporności na łamliwość źdźbła.

MR 2. Poszukiwanie, tworzenie, ocena i gromadzenie źródeł odporności na fuzariozę kłosów u pszenicy

Kierownik: dr hab. Halina Wiśniewska prof. nadzwyczaj., Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu

Wykonawcy: dr hab. H. Wiśniewska prof. nadzwyczaj., dr T. Góral, dr P. Ochodzki, mgr inż. J. Belter, J. Maszner, G. Cicha oraz 3 pracowników pomocniczych

Celem realizowanego projektu było badanie odporności na fuzariozę kłosów 123 genotypów pszenicy ozimej. Do badań wybrano genotypy o zróżnicowanym terminie kłoszenia i dojrzewania, pochodzących z różnych kombinacji krzyżowań odmian i linii o podwyższonej odporności na fuzariozę kłosa. Obiekty wysiane zostały na polkach doświadczalnych Instytutu Genetyki Roślin PAN w Cerkwicy oraz w Instytucie Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Radzikowie, co pozwoliło na większe zróżnicowanie warunków klimatycznych modyfikujących w dużym stopniu reakcję pszenicy na porażenie kłosa przez grzyby z rodzaju *Fusarium*. Materiałem infekcyjnym była mieszanina 3 izolatów *Fusarium culmorum*, wytwarzających deoksyniwalenol (DON), niwalenol (NIV) oraz zearalenon (ZEA). Kłosa inokulowane były w stadium kwitnienia przez oprysk zawiesiną zarodników z zastosowaniem mikrozaszrania po inokulacji.

Porażenie kłosa (IFK%) było bardzo zróżnicowane i kształtowało się w granicach od 3,8 do 77,0%. Najniższe porażenie kłosa poniżej 10% IFK stwierdzono u 9 genotypów, a najwyższe powyżej 50% IFK odnotowano u 13 genotypów pszenicy. Procent ziarniaków z wyraźnymi objawami fuzariozy (%FDK) był również bardzo zróżnicowany i wynosił od 1,2 do 44,0%. Tylko u czterech genotypów porażenie ziarna (%FDK) odnotowano poniżej 5,0%, natomiast u 8 genotypów %FDK wynosił powyżej 30%.

Ziarno z genotypów badanych w lokalizacji Cerekwica i Radzików charakteryzujących się niewielkim indeksem fuzariozy kłosa, najniższą masą i liczbą ziarniaków z objawami fuzariozy, jak również obserwowaną niewielką obniżką parametrów plonotwórczych, analizowano pod względem zawartości szkodliwych dla człowieka i

zwierząt kumulowanych w ziarniakach toksyn fuzaryjnych: niwalenolu (NIV) i deoksyniwalenolu (DON) i zearalenonu (ZEA) stosując technikę (HPLC) z detekcją UV.

Najniższą ilość skumulowanej toksyny deoksyniwalenolu (DON) poniżej 1,0 ppm. stwierdzono u 3 genotypów pszenicy ozimej: STH 838, DED 389/06, AND 4015/09 odpowiednio 0,155, 0,674, 0,963 ppm i odpowiednio również niski poziom nivalenolu (0,096, 0,232, 0,294 ppm.). U dwóch kolejnych genotypów (LAD 476/06 i STH 878) stwierdzono również niskie porażenie kłosa (5%) i niskie porażenie ziarna (od 5,1 do 9,1%), oraz kumulację toksyn w granicach 1ppm.

Na podstawie przeprowadzonych badań wyselekcjonowano 5 genotypów: STH 838, DED 389, AND 4015/09, LAD 476/06, STH 878, charakteryzujących się:

- niewielkim porażeniem ziarna - FDK% - od 3,8 do 9,1,
- niewielkim porażeniem kłosa - IFK% - od 3,8 do 17,5
- kumulujących niewielkie ilości toksyn fuzaryjnych

Te genotypy mogą stanowić źródło odporności na fuzariozę u pszenicy.

MR 5. Badanie odporności genotypów pszenżyta na fuzariozę kłosów i akumulację mikotoksyn fuzaryjnych w ziarnie (lokalizacja Poznań)

Kierownik: dr hab. Halina Wiśniewska prof. nadzwyczaj., Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu

Wykonawcy: dr hab. H. Wiśniewska prof. nadzwyczaj., dr T. Góral, dr P. Ochodzki, mgr inż. Jolanta Belter oraz 3 pracowników pomocniczych

Celem prac prowadzonych w ramach projektu było badanie odporności na fuzariozę kłosów 78 genotypów pszenżyta ozimego o zróżnicowanym podłożu genetycznym. Obiekty wysiane zostały na poletkach doświadczalnych Instytutu Genetyki Roślin PAN w Cerkwicy koło Poznania oraz oddzielny projekt dotyczący tego samego materiału realizowany był w IHAR w Radzikowie. Materiałem infekcyjnym w obu lokalizacjach była mieszanina 3 izolatów *Fusarium culmorum*, wytwarzających deoksyniwalenol (DON), niwalenol (NIV) oraz zearalenon (ZEA). Kłosa w stadium kwitnienia inokulowano metodą przez oprysk zawiesiną zarodników z zastosowaniem mikrozaszrania po inokulacji.

Porażenie kłosa kształtowało się w granicach 5-43,5%. Najniższe porażenie IFK poniżej 5,0% odnotowano u 5 genotypów: MAH 33287, MAH 33113, DAST 5/08, DAST 31,08, SZD1239. Drugi komponent związany z odpornością – procent ziarniaków z

wyraźnymi objawami fuzariozy (FDK %) u badanych genotypów był w roku badań niski w Poznań–Cerekwica i kształtował się w granicach od 2,19 % do 39,9%. Najniższe porażenie ziarna stwierdzono u BOH 22-14 (2,19%), a największe 39,09% u genotypu BOHD98-1.

Ziarno z badanych genotypów z lokalizacji Poznań i Radzików charakteryzujących się niewielkim %IFK, %FDK oraz niewielką obniżką parametrów plonotwórczych, analizowano pod względem zawartości kumulowanych w ziarniakach toksyn fuzaryjnych: niwalenolu (NIV) i deoksyniwalenolu (DON), stosując technikę (HPLC) z detekcją UV.

Najmniejszą zawartość dwóch badanych toksyn fuzaryjnych (DON i NIV) stwierdzono u 3 genotypów SZD 1112-2, DAST 38/08 i BOHD 826-1, poniżej 0,4ppm. Na podstawie przeprowadzonych w dwóch lokalizacjach badań wielu genotypów pszenżyta uzyskanych z przekrzyżowania odmian i linii o stwierdzonej podwyższonej odporności na fuzariozę kłosów, wyselekcjonowano 5 genotypów (SZD1112-2, DAST 38/08, BOHD 826-1, SZD 1111-3, DAST 5/08) o niewielkim porażeniu kłosa, porażeniu ziarna oraz kumulujących w ziarniakach niewielkie ilości (poniżej 1,0ppm) toksyn trichotecenowych (DON i NIV) szkodliwych dla człowieka i zwierząt. Te genotypy mogą stanowić źródła odporności.

MR 11. Segregacja alleli *Glu-1* w populacjach linii DH i SSD pszenicy

Kierownik: prof. dr hab. Tadeusz Adamski, Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu.

Wykonawcy: prof. dr hab. Maria Surma, dr Aleksandra Ponitka, dr Aurelia Ślusarkiewicz-Jarzina, dr Karolina Krystkowiak, dr Anetta Kuczyńska, mgr Hanna Pudelska, mgr Renata Trzeciak, mgr Jolanta Woźna, Alina Anioła, Reneta Holeńska

Jakość ziarna pszenicy zależy od wielu czynników między innymi z obecnością specyficznych frakcji białkowych glutenu. Wśród frakcji białkowych głównie wysokocząsteczkowe podjednostki gluteninowe odgrywają istotną rolę w wartości wypiekowej mąki. Celem pracy było stwierdzenie, czy w uzyskiwanych na drodze krzyżowania pszenicy z kukurydzą i androgenezy w liniach DH, nie występują zaburzenia w segregacji loci *Glu1* związanych ze składem podjednostek gluteninowych

Przeprowadzone w latach 2008-2009 badania pozwoliły na wybranie pięciu kombinacji krzyżówkowych pszenicy: And34, CH4070, P25590, SM14 i STH 506 o różnym składzie podjednostek gluteninowych. Z mieszańców F1 tych form wyprowadzono

przeszło 350 linii DH metodą krzyżowania z kukurydzą oraz androgenyzy. Porównano częstość rekombinacji alleli genów *Glu-A1*, *Glu-B1* i *Glu-D1* zachodzącą w rodzinach linii DH otrzymanych obiema technikami. Uzyskane wyniki wskazują, że w przypadku androgenicznych linii DH mogą występować zaburzenia w segregacji alleli *Glu-1*. Potwierdzeniem tej tezy mogą być rezultaty uzyskane z dodatkowo przeprowadzonej analizy 600 linii DH otrzymanych obiema technikami. W przypadku linii DH wyprowadzonych drogą eliminacji chromosomów uzyskano znacznie więcej grup genotypów o różnym składzie alleli *Glu-1*, aniżeli poprzez kultury pylnikowe. uzupełnieniem tych badań będzie porównanie segregacji podjednostek gluteninowych w populacjach linii DH otrzymanych na drodze androgenyzy i eliminacji chromosomów z rekombinacjami zachodzącymi w liniach SSD w tych samych kombinacjach krzyżówkowych. W tym celu stosując technikę kultury *in vitro* zarodków otrzymano linie SSD pokolenia F3.

MR 12. Ocena zmienności cech jakościowych pszenicy na podstawie analizy składu jakościowo-ilościowego wybranych klas białek oraz badań reologicznych

Kierownik: dr hab. Bolesław Salmanowicz, Instytut Genetyki Roślin PAN w Poznaniu.

Wykonawcy: mgr Natalia Nawrot, mgr inż. Sławomir Franaszek oraz 3 pracowników pomocniczych.

Kontynuowano badania zmienności genetycznie uwarunkowanych wybranych cech jakościowych pszenicy na podstawie metod elektroforetycznych (elektroforeza kapilarna i SDS-PAGE), chromatograficznych (RP-HPLC i SE-HPLC) oraz markerów molekularnych. Obiektem badań było 225 krajowych rodów/linii pszenicy oraz 32 odmiany wzorcowe pochodzące z dziewięciu lokalizacji. Uzyskane obrazy/profile elektroforetyczne wskazują, że znacząca część (ponad 65%) badanych linii posiada niekorzystny pod względem jakościowym skład HMW podjednostek gluteninowych (HMW-GS). Linie te charakteryzują się obecnością alleli kodujących HMW-GS typu Bx6+By8, Bx13+By16 i Dx2+Dy10 oraz nie wykazują obecności genu kodujących HMW podjednostki typu Ax. Tylko u 9 linii stwierdzono występowanie jednostek polipeptydowych typu Bx7+By8, które wnoszą bardzo korzystny wpływ na cechy jakościowe. Z drugiej strony w bieżącym roku wzrosła liczba rodów o składach podjednostek 1/7+9/5+10 i 2*/7+9/5+10, charakteryzujących się dobrą wartością wypiekową. Równolegle przeprowadzane były badania reologiczne w mikroskali

przy zastosowaniu 10g-miksografu, 10g-farinografu oraz analizatora tekstury, mające na celu wytypowanie linii/rodów o korzystnych parametrach technologicznych. Uzyskane dane opracowywano statystycznie uwzględniając wpływ interakcji genotypowo-środowiskowej na zmienność składu ilościowego wybranych klas białek zapasowych pszenicy powiązany ze zmianą własności reologicznych i w konsekwencji zmianę wartości wypiekowej.

Rozpoczęto badania biochemiczne i reologiczne krajowych rodów pszenicy durum. Obiektem badań były 22 rody pszenicy durum oraz trzy zagraniczne odmiany wzorcowe. Większość krajowych rodów charakteryzowała się obecnością HMW podjednostki gluteninowe Bx7+By8, natomiast zagraniczne odmiany zawierały podjednostki Bx6 i By8. Opracowano metodykę szybkiej identyfikacji podjednostki gliadynowej o masie cząsteczkowej 45 kDa przy zastosowaniu elektroforezy kapilarnej, która w odróżnieniu od gliadyny o m.cz. 42 kDa świadczy o dobrej jakości technologicznej pszenicy durum. Stwierdzono, że gliadyny o m.cz. 45 kDa zawierają dwa z badanych rodów oraz odmiany wzorcowe. Przeprowadzone badania reologiczne (miksograf, analizator tekstury) wykazały znaczne zróżnicowanie parametrów reologicznych u badanych prób. Jednocześnie potwierdziły, że rody posiadające podjednostkę gliadynową o m.cz. 45 kDa, charakteryzują się wyższym indeksem mikrograficznym, siłą podczas rozciągania i wielkością wydłużenia do zerwania i wykazują podobne parametry reologicznych jak zagraniczne odmiany wzorcowe.

MR 15. Modelowanie statystyczne i optymalizacja serii doświadczeń porównawczych z pszenicą

Kierownik: Zygmunt Kaczmarek

Wykonawcy: Tadeusz. Drzazga, Paweł Krajewski, Wiesław. Mądry, Jakub Paderewski, Anna Rajfura

W pracy przedstawiono propozycję metody statystycznej umożliwiającej przeprowadzenie oceny porównań wyników dwu serii doświadczeń oraz dokonanie optymalizacji serii doświadczeń prowadzonych w wybranych środowiskach pod kątem zgodności z wynikami uzyskanymi w serii podstawowej. Wykorzystany został w tym celu mieszany model liniowy obserwacji opracowany przez autorów niniejszego projektu a także oparte na nim metody wielowymiarowej analizy danych. W ośmiu stacjach COBORU i siedmiu stacjach spółek hodowlanych zostały przeprowadzone w latach 2009 i 2010

doświadczenia z 21 rodzajami i liniami oraz 3 odmianami wzorcowymi pszenicy ozimej. Dla doświadczeń tych przeprowadzono kompleksowe analizy statystyczne, w ramach których wykonano podstawowe charakterystyki statystyczne umożliwiające ich porównanie ze względu na średnie plony z doświadczeń, zakresy ich zmienności, zakresy wartości najmniejszych istotnych różnic (NIR%) a także średnie plony wzorców w obu analizowanych seriach. Zaprezentowano rankingi genotypów wykonane pod względem wysokości plonu uzyskanego w obu seriach i oceniono ich zgodność. Dokonano również porównania średnich genotypów oraz wyliczono korelację rang ze względu na plon i korelację rang ocen wariancji stabilności dla genotypów. Doświadczenia prowadzone w roku 2010 w stacjach COBORU i Spółek potwierdziły wyniki uzyskane w roku 2009. W szczególności, wyciągnąć można następujące wnioski:

1. Podobnie jak w roku poprzednim precyzja serii dwu doświadczeń była zbliżona.
2. Podobnie jak w roku poprzednim średnie plony uzyskane w doświadczeniach stacji COBORU były niższe aniżeli w doświadczeniach spółek hodowlanych.
3. Zmienność pomiędzy doświadczeniami COBORU była mniejsza niż w roku poprzednim.
4. Istnieje zgodność rankingu genotypów w obu seriach, w związku z czym selekcja najlepszych genotypów na podstawie dwu serii doświadczeń była zbliżona.

Wnioski końcowe

1. Obecny system doświadczeń wstępnych i metody analizy statystycznej nie są głównymi przyczynami braku konkurencyjności obiektów w doświadczeniach rejestrowych.
2. Jeżeli doświadczenia wstępne miałyby być dalej prowadzone w Spółkach to można podać charakterystykę środowisk, które należałoby dodać do systemu dla jego zoptymalizowania (niższy poziom plonowania, większa zmienność w latach).

MR 31. Badanie efektywności spontanicznie otrzymywanych i indukowanych linii podwojonych haploidów pszenżyta ozimego i jarego w kulturach in vitro

Kierownik: dr Aurelia Ślusarkiewicz-Jarzina

Wykonawcy: dr A. Ponitka, dr A. Ślusarkiewicz-Jarzina, mgr H. Pudelska, mgr J. Woźna

Celem badań było zwiększenie efektywności uzyskiwania androgenicznych roślin pszenżyta ozimego i jarego w wyniku modyfikacji pożywek regeneracyjnych w kulturach *in vitro* oraz ocena częstotliwości otrzymywania linii DH w rezultacie spontanicznych podwojeń liczby chromosomów w kulturach pylnikowych i po kolchicynowaniu haploidów.

Metodą kultur pylnikowych z roślin mieszańcowych pszenżyta jarego uzyskano 1144 androgenicznych zarodków (42,9 /100 pylników) i 22 zielone rośliny (1,9/100 zarodków).

Z pylników 31 mieszańców pszenżyta ozimego na pożywce C17 (Wang i Chen 1983) zawierającej 0,5 mg/l KIN +2,0 mg/l 2,4-D +90 g/l maltozy uzyskano 43929 androgenicznych zarodków, średnio 80,4/100 pylników (w zależności od genotypu od 2,7 do 176,5). Porównano częstotliwość uzyskiwania roślin na dwóch pożywkach regeneracyjnych, zawierających takie same substancje wzrostowe (1,0 mg/l KIN i 0,5 mg/l NAA). Stwierdzono wyższą efektywność na pożywce MS (Murashige i Skoog, 1962), tj. średnio 6,8% zielonych roślin w stosunku do androgenicznych zarodków (w zależności od genotypu od 1,2 do 25,9%) w porównaniu z pożywką 190-2 (Zhuang i Xu, 1983), na której otrzymano 5,5% roślin (0,3 do 29,5%). Rośliny otrzymano z 30 genotypów, przy czym efektywność wahała się od 0,4 do 14,4% w stosunku do wyłożonych pylników.

Określono poziom ploidalności 506 androgenicznych roślin z 15 form ozimych i stwierdzono w zależności od genotypu od 25,0 do 70,0% spontanicznie podwojonych haploidów, przy czym średnia wyniosła 49,2%. Haploidy kolchicynowano dla podwojenia liczby chromosomów, co pozwoli określić całkowitą efektywność uzyskiwania linii DH.

Oceniono również efektywność uzyskiwania linii DH w czterech losowo wybranych genotypach ozimych wyhodowanych w ubiegłorocznych doświadczeniach. Ogółem otrzymano 89,1% linii DH w stosunku do zregenerowanych roślin, w tym 28,1% (od 17,6 do 38,7% w zależności od genotypu) stanowiły spontanicznie podwojone haploidy, natomiast w wyniku kolchicynowania haploidów otrzymano 74,1% linii DH (52,9 do 97,6% w zależności od genotypu).

MR 38. Optymalizacja procesu homozygotyzacji mieszańców jęczmienia w aspekcie skracania cyklu hodowlanego

Kierownik: prof. dr hab. Maria Surma, Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu

Wykonawcy: *Instytut Genetyki Roślin PAN*: prof. dr hab. T. Adamski, prof. dr hab. M. Surma, dr A. Kuczyńska, dr K. Krystkowiak, mgr R. Trzeciak, A. Anioła, R. Holewińska
Uniwersytet Śląski w Katowicach: prof. dr hab. I. Szarejko, dr Danuta Nabiałkowska, Justyna Zbieszczak, Marek Marzec, Dorota Siwińska

Celem badań prowadzonych w ramach projektu było opracowanie efektywnej metodyki uzyskiwania z mieszańców jęczmienia ozimego linii podwojonych haploidów (DH) i linii wsobnych oraz ocena stopnia ich homozygotyczności za pomocą markerów molekularnych. Analizowano dwa podejścia: haploidyzacja mieszańców drogą androgenezy oraz wyprowadzanie linii techniką pojedynczego ziarna (SSD) w powiązaniu z kulturami *in vitro*. W badaniach związanych z techniką SSD kontynuowano prace nad uzyskiwaniem linii z mieszańców różnych pokoleń oraz przeprowadzono analizy w celu oceny homozygotyczności linii SSD pokolenia F5 i F6 za pomocą markerów białkowych i molekularnych. W bieżącym roku prowadzono badania nad uzyskaniem na drodze androgenezy linii podwojonych haploidów (DH) z dwóch mieszańców F₁ jęczmienia ozimego: 'Franziska' x 'Merlot' i 'Lomerit' x 'Merlot'. Z dwóch pozostałych mieszańców stanowiących materiał badań tego projektu, tj. 'Nickela' x 'Reni' i 'Tiffany' x 'Bombay' uzyskano w ubiegłym roku odpowiednio 420 i 127 linii DH, stąd też nie włączono ich do tegorocznych badań. Celem prowadzonych w 2010 roku doświadczeń było ustalenie, która z zastosowanych metod przedtraktowania zapewnia większą efektywność regeneracji roślin drogą androgenezy *in vitro* w kulturach pylnikowych. Prowadzono przedtraktowanie kłosów w temperaturze 4°C przez 21 dni (długotrwałe działanie niskiej temperatury) lub w 0,3 M roztworze mannitolu w temperaturze 4°C przez okres 4 dni (stres osmotyczny). Stwierdzono, że jarowizacja roślin donorowych w warunkach polowych jest bardziej efektywna od jarowizacji w pokoju hodowlanym. Z roślin donorowych mieszańca 'Franziska' x 'Merlot', przechodzących okres przechłodzenia w polu, uzyskano ponad 3 razy więcej zielonych regenerantów niż z roślin donorowych przechodzących proces jarowizacji w pokoju hodowlanym. Zarodki otrzymane z roślin donorowych jarowizowanych w polu miały większy potencjał regeneracyjny i w rezultacie uzyskano z nich więcej zielonych roślin. Efektywność regeneracji roślin zielonych po zastosowaniu stresu osmotycznego i krótkotrwałego chłodu jak i długotrwałego działania niskiej temperatury była zbliżona. Efektywność uzyskiwania linii DH jęczmienia wielorzędowego za pomocą kultur pylnikowych jest kilkakrotnie niższa niż dwurzędowego. Stopień homozygotyczności roślin w obrębie linii SSDF5 i SSDF6 mierzony na podstawie markerów molekularnych okazał się zgodny z przewidywanym i wynosił średnio 95,83% dla

linii F5 i 98,51% dla linii F6. Wykazano, że najbardziej efektywne jest zastosowanie techniki SSD w połączeniu z kulturą in vitro począwszy od pokolenia F0 lub F1, gdyż wówczas można uzyskać w okresie 3 lat przyspieszenie cyklu hodowlanego o 3 lata. Rozpoczynając od pokolenia F2 przyspieszenie wynosi tylko 2 lata. O okresie 3 lat realizacji projektu uzyskano łącznie 621 linii DH oraz 1160 linii SSD jęczmienia ozimego.

MR 64. Metody analizy interakcji genotypowo-środowiskowej w badaniach stabilności i adaptacyjności genotypów rzepaku ozimego

Kierownik : Elżbieta Adamska,

Wykonawcy: Zygmunt Kaczmarek , Tadeusz Caliński, Stanisław Czajka

W roku sprawozdawczym przedstawiono propozycję wszechstronnej analizy statystycznej pojedynczych doświadczeń jednopowtórzeniowych z wzorcami oraz serii doświadczeń jednopowtórzeniowych prowadzonych w różnych środowiskach. Szczególną uwagę zwrócono na ocenę genotypów uzyskaną za pomocą metody „wzorcowej” oraz metody opartej na teorii układów o blokach niekompletnych.

Dla zilustrowania prezentowanych metod wykonano analizę statystyczną danych pochodzących z doświadczenia pojedynczego jednopowtórzeniowego z wzorcem oraz danych pochodzących z serii czterech doświadczeń z rzepakiem ozimym, w których oprócz 90 mieszańców replikowanych jeden raz, występował jeden wzorzec systematyczny (odmiana Visby) i dwa wzorce losowe (Castille i Chagall) w 6 replikacjach. W analizie statystycznej doświadczeń wykonanej za pomocą obu proponowanych metod podane zostały średnie plony oraz procenty plonu mieszańców względem wszystkich 3 wzorców. Zamieszczono także ranking 19 najlepiej plonujących mieszańców. W roku 2010 podjęto próbę opracowania metod statystycznych umożliwiających przeprowadzenie oceny zdolności kombinacyjnej linii rzepaku ozimego na podstawie analizy ich potomstwa w połowych doświadczeniach jednopowtórzeniowych z wzorcem. Omówiono możliwości oceny ogólnej i specyficznej zdolności kombinacyjnej linii MS i restorerów na podstawie analizy mieszańców linia x tester w serii doświadczeń jednopowtórzeniowych z wzorcami. Wyróżniono dwa schematy krzyżowania znane jako linia x tester. Jednym jest schemat (13 x 3) uzyskany w wyniku krzyżowania 13 linii MS z trzema restorerami a drugim schemat 6 x 3 uzyskany w wyniku krzyżowania 6 linii MS z 3 innymi restorerami. Łącznie oba schematy umożliwiły wykorzystanie przeszło 63% mieszańców występujących w doświadczeniach do oceny

zdolności kombinacyjnej ich rodziców. W wyniku przeprowadzonej analizy ogólnej zdolności kombinacyjnej (GCA) dla schematów (13 x 3) i (6 x 3) wyznaczono oceny efektów GCA linii MS w poszczególnych środowiskach oraz oceny efektów GCA restorerów. Wśród linii MS pod względem efektów GCA wyróżniono przede wszystkim linie L12 i L10 (schemat 13 x 3) i linię L14 (schemat 6 x 3) oraz linię L16 (schemat 6 x 3). Spośród analizowanych restorerów na uwagę zasługują R1 (319 RJ-2), R4 (CR-42) i R3 (376 RJ-2) o dodatnich efektach GCA.

MR 84. Łubiny – poszukiwanie źródeł i zbadanie sposobu dziedziczenia odporności na choroby grzybowe (fuzarioza i antraknoza) oraz niskiej zawartości i składu jakościowego alkaloidów

Kierownik: prof. dr hab. Wojciech Święcicki, Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu.

Wykonawcy: mgr P. Barzyk, dr M. Kroc, mgr K. Machowina

W roku 2010 przetestowano w warunkach polowych 120 genotypów łubinu żółtego i wąskolistnego pod kątem odporności/podatności na antraknozę. Wszystkie linie łubinu wąskolistnego (31 genotypów z zasobów Wiatrowa) przetestowano w doświadczeniu polowym po raz pierwszy. Przeprowadzono negatywną selekcję części materiału, jednak większość obiektów wymagała ponownego testowania. Większość (25 z 31) linii łubinu wąskolistnego z doświadczenia polowego przetestowano w doświadczeniu szklarniowym. Linie łubinu żółtego pochodzące z Wiatrowa były wyselekcjonowanym potomstwem mieszańców testowanych w poprzednich latach badań. Takie wyniki potwierdzają zróżnicowanie genetyczne badanych materiałów pod względem odporności/podatności na antraknozę i pozwalają na skuteczną selekcję z uwzględnieniem obu postaci choroby, jakimi są tzw. "antraknoza łodygowa" oraz "antraknoza strąkowa". Na obecnym etapie badań można wskazać formy, które z dużym prawdopodobieństwem są nosicielami genów warunkujących podwyższoną odporność. Uzyskanie pewności i utrwalenie, czy dalsze poprawienie odporności wymaga kontynuowania badań i hodowli.

Łącznie przetestowano 67 obiektów łubinu żółtego pod kątem podatności na wędnięcie fuzaryjne w warunkach polowych. Szerokie spektrum wyników pozwala dokonać

skutecznej selekcji i część obiektów badanych uznać za potencjalne źródło genetycznej odporności na wędnięcie fuzaryjne.

W doświadczeniu szklarniowym wykazano w warunkach kontrolowanych zróżnicowanie stopnia podatności/odporności łubinów na porażenie antraknozą. Eksperyment ujawnił zróżnicowanie 32 obiektów łubinu wąskolistnego pod względem odporności na porażenie antraknozą - dużo silniejsze niż w warunkach polowych. Wyniki uzyskane w szklarni dla najlepszej grupy jednorodnej statystycznie (W262 i W268), były zgodne z wynikami uzyskanymi w polu. Doświadczenie umożliwiło wyodrębnienie 11 grup różniących się statystycznie. Potwierdzono dobre wyniki polowe linii: Z489-14/2, Z477-81/3, Z504-85/R oraz R414/08, R79/0.

Wykryto genotypy z bardzo niską zawartością alkaloidów - np. 0,000156 % i 0,002211%. W większości przypadków wykazano typowy udział procentowy poszczególnych alkaloidów głównych i podrzędnych gatunku.

Na mapie genetycznej łubinu wąskolistnego zidentyfikowano region 7 grupy sprzężeń (*L.ang_LG7*) warunkujący zarówno całkowitą zawartość alkaloidów w nasionach, jak i zawartość alkaloidów głównych. To potwierdza, że *Iucundus* jest genem głównym dla zawartości alkaloidów w nasionach.

MR 85. Podstawy genetyczne odporności na wyleganie i cech jakościowych nasion grochu

Kierownik: prof. dr hab. Wojciech Święcicki, Instytut Genetyki Roślin PAN w Poznaniu

Wykonawcy: dr hab. L. Lahuta, dr L. Boros, dr M. Gawłowska, mgr M. Bednarowicz

Oceniono parametry fizyczne i mechaniczne łodyg w rodzinach populacji mapującej WT10245 x Wt11238 grochu w celu poszukiwania form o podwyższonej odporności polowej na wyleganie.

Startery projektowano wobec unikatowych sekwencji genowych dla pokrewnych gatunków strączkowych. DNA linii rodzicielskich populacji mapującej przeanalizowano z wykorzystaniem 103 par starterów. Wybrano 33 pary starterów ze względu na jakość produktu PCR. Marker **psat_EST_00198_02_2** został zlokalizowany w IIIa grupie sprzężeń, 18,8 cM od markera *afp8b*. W genomie *Medicago truncatula* odnaleziono go w 3 pseudochromosomie korzystając z wersji pseudochromosomów *Medicago truncatula*

<http://www.medicago.org/genome/>. Ponowne mapowanie loci cech ilościowych (po dodaniu nowego markera do mapy) nie wykazało zmian w ich lokalizacji. Zestawiono wartości parametrów mechanicznych łodyg linii i form rodzicielskich populacji Wt10245 x Wt11238 z dwóch sezonów wegetacyjnych. W populacji mapującej w roku 2010 zidentyfikowano 6 rejonów odpowiedzialnych za warunkowanie sztywności i wytrzymałości łodygi. Porównano konserwatywność QTL. Nie odnaleziono loci powtarzalnych w obu sezonach wegetacyjnych. Przepuszczalną przyczyną był silny wpływ środowiska na kształtowanie badanych cech.

Celem badań nad występowaniem oligosacharydów w nasionach grochu było określenie możliwości obniżenia ich zawartości lub zastąpienia ich analogami α -D-galaktozydami cyklitoli o niższym potencjale gazotwórczym i korzystnych właściwościach zdrowotnych. Analizowano 58 linii z banku genów *Pisum* zróżnicowanych pod względem genów warunkujących cechy nasion – kształt, barwę i rysunek okrywy, barwę liścieni itp. oraz wykonano pierwsze krzyżowania na podstawie wyników uzyskanych w 2008 r. W kolejnym etapie wyniki dla wszystkich grup materiałów (linie kolekcyjne dzikie i uprawne, materiały hodowlane o różnym pochodzeniu oraz linie zróżnicowane pod względem genotypu nasion) poddano analizie statystycznej. W nasionach niektórych linii grochu wykazano dominację stachiozy nad werbaskozą. Ten skład, nietypowy dla *Pisum* jest podobny do rodzaju *Phaseolus*.

MR 86. Markery molekularne sprzężone z cechami użytkowymi w charakterystyce genotypów łubinu wąskolistnego (*Lupinus angustifolius* L.)

Projekt realizowano w Pracowni Genomiki Strukturalnej IGR PAN w Poznaniu

Kierownik: prof. dr hab. Bogdan Wolko

Wykonawcy: mgr inż. Anna Dębicka, dr Michał Książkiewicz, mgr inż. Karolina Majcherkiewicz, mgr inż. Łucja Przysiecka

Celem projektu w roku 2010 były badania nad poszerzeniem wiedzy na temat podstaw genetycznych dziedziczenia cechy odporności na grzyb patogeniczny *Colletotrichum lupini* wywołujący antraknozę. Zmienność molekularną genotypów łubinu wąskolistnego monitorowano za pomocą sekwencyjnie zdefiniowanych markerów DNA sprzężonych z cechą odporności oraz klasycznych testów fitopatologicznych. Do badań użyto zestawu 76 linii, wśród których znajdowały się odmiany uprawne pochodzące z Polski i Australii,

populacje dzikie łubinu wąskolistnego z kolekcji Banku Genów rodzaju *Lupinus* oraz rody hodowlane z Poznańskiej Hodowli Roślin Oddział w Wiatrowie oraz Hodowli Roślin Smolice Oddział w Przebędowie.

Do badań molekularnych wykorzystano trzy markery molekularne, w tym dwa AnManM1 oraz AntjM1, opisane w literaturze jako blisko sprzężone z odpornością na antraknozę, oraz marker 136B16_5, uzyskany w ramach projektu MNISW nr N301 084 32/3234, który wykazał sprzężenie z odpornością na antraknozę w puli testowanych odmian i populacji dzikich łubinu wąskolistnego..

Zmienność wykryta przy zastosowaniu markera AnManM1 polegała na polimorfizmie długości pojedynczego prążka. Większość badanych linii wykazała obecność krótszego fragmentu DNA (220 pz). Dwie linie dzikie oraz odmiana Ignis charakteryzowały się obecnością dłuższego fragmentu (230 pz). Cechą różniącą te linie od pozostałych była insercja fragmentu sześci nukleotydowego w obrębie badanej sekwencji. Odmiana australijska Mandelup, uważana za odmianę odporną na antraknozę, oraz ród hodowlany W-270 charakteryzowały się także dłuższym fragmentem oraz wspólną dla obu linii transwersją nukleotydu T na A.

Marker AntjM1 pozwolił na uwidocznienie polimorfizmu pojedynczego prążka. Większość badanych linii wykazała obecność dłuższego fragmentu DNA - 225 pz. W linii rodzicielskiej populacji mapującej P27255, dwóch odmianach Kalya i Kalif oraz australijskim rodzim 75A:258, których produkt ma długość 215 pz zaobserwowano mutację punktową – tranzycję A na G.

Badania dotyczące markera 136B16_5 uwidocznily fakt występowania identycznego genotypu jak linia rodzicielska 83A:47613, sugerowana wg danych australijskich jako odporna na antraknozę u 13 badanych osobników: W-264, AN – 80154a, Populacja 22884, R – 1656, Populacja 29a, Populacja B – 553/79b, Populacja B – 540/79, Badajoz – 2, P27253, 75A:258, Tanjil.

Fitopatologiczne testy szklarniowe wykazały znaczne różnice w podatności/odporności badanych linii, odmian oraz rodów hodowlanych. Wśród odmian najbardziej odporne na antraknozę okazały się: Tanjil, Elf, Mirela, Mandelup, Bojar, Emir, Zeus, Karo i Baron, natomiast wśród rodów hodowlanych (wyniki udostępnione przez mgr Pawła Barzyka) na wyróżnienie zasługują: W-268, W-262, W-264, W-270 oraz W-247.

Biorąc pod uwagę zarówno część molekularną jak i fitopatologiczną przeprowadzonych badań wydaje się, że cecha odporności na antraknozę jest uwarunkowana przynajmniej kilkoma, niezależnie dziedziczącymi się genami. Wyniki badań wskazują także, że geny te nie

są skumulowane w badanych odmianach, liniach i rodach. Na podstawie testów fitopatologicznych można wskazać kilka genotypów (np. odmiany: Tanjil, Elf, Mirela, Mandelup i populacje dzikie: B518, BRGC-10270), wykazujących dużą odporność na antraknozę i mogących być potencjalnie źródłem genów odporności w pracach hodowlanych.