

## SPRAWOZDANIE MERYTORYCZNE

**z realizacji zadania pt. „Wytwarzanie nowych źródeł genetycznych pszenżyta w oparciu o krzyżowanie oddalone,, na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej w 2014 roku**

### INFORMACJA O WYKONAWCACH

#### 1. Zespół badawczy

Kierownik zadania		
imię i nazwisko	stopień i tytuł naukowy	miejsce zatrudnienia
Justyna Leśniowska-Nowak	dr	UP w Lublinie
Wykonawcy zadania		
imię i nazwisko	stopień i tytuł naukowy	miejsce zatrudnienia
Daniela Gruszecka	prof. dr hab.	UP w Lublinie
Michał Nowak	dr	UP w Lublinie
Agnieszka Surmacz-Magdziak	dr	UP w Lublinie
Dorota Kosińska	mgr inż.	UP w Lublinie
Aneta Koroluk	mgr inż.	UP w Lublinie
Aleksandra Gogół	mgr inż.	UP w Lublinie

### CELE I WYNIKI

#### 1. Cele zadania

Lp.	Cel (zgodnie ze szczegółowym opisem na dany rok)
1	Otrzymywanie pierwotnych form pszenżyta w wyniku krzyżowania pszenicy zwyczajnej i żyta uprawnego
2	Identyfikacja nowych źródeł odporności na rdzę brunatną w dzikich gatunkach roślin z rodzaju <i>Aegilops</i>
3	Otrzymywanie mieszańców pszenicy zwyczajnej i pszenżyta z gatunkami z rodzaju <i>Aegilops</i> odpornymi na rdzę brunatną pszenżyta
4	Zwiększenie wydajności uzyskiwania mieszańców oddalonych pszenżyta poprzez zastosowanie techniki ratowania zarodków w kulturach in vitro.
5	Analizy molekularne mieszańców oddalonych

#### 1.1. Temat badawczy 1: Fenotypowanie dzikich genotypów z rodzaju *Aegilops* pod kątem odporności na choroby grzybowe pszenżyta.

Cel tematu badawczego 1

Celem zadania 1 jest opracowanie bazy genotypów dzikich gatunków z rodzaju *Aegilops* oraz ich ocena pod kątem odporności na rdzę brunatną pszenżyta powodowaną przez grzyb *Puccinia triticina*.

Wyniki

W obrębie 74 analizowanych genotypów zidentyfikowano 20 diploidalnych oraz 20 tetraploidalnych form odpornych na rdzę brunatną, co stanowi po 57% w każdej powyższej grupie. Spośród genotypów heksaploidalnych zidentyfikowano 2 genotypy odporne należące do gatunków *Ae. neglecta* i *Ae. crassa* (Tab. 1). Wyselekcjonowane genotypy mogą zostać wykorzystane do krzyżowań oddalonych z roślinami pszenżyta lub pszenicy w celu introdukcji genów odporności na *Puccinia triticina* do roślin zbożowych.

**Tabela 1.** Charakterystyka genetyczna oraz wyniki oceny porażenia przez *Puccinia triticina* analizowanych genotypów z rodzaju *Aegilops*

Nazwa	PI No.	Ploidalność	Skład genomowy	Reakcja na porażenie przez grzyb <i>Puccinia triticina</i>
<i>Aegilops biuncialis</i>	PI 170194	4x	<u>U</u> MM	W
	PI 177241			O
	PI 550933			O
	PI 554283			O
	PI 554288			W
<i>Aegilops columnaris</i>	PI 486281	4x	<u>U</u> MM	O
	PI 499258			O
	PI 542171			O
	PI 542191			O
<i>Aegilops comosa</i>	PI 551058	2x	MM	O
<i>Aegilops crassa</i>	PI 219863	4x	<u>DD</u> MM	W
	PI 220274	6x	<u>DD</u> MMSS	W
	PI 227342			W
	PI 245725			O
PI 172357	4x			<u>DD</u> CC
PI 254864		W		
PI 276977		P		
PI 378190		O		
PI 614621		W		
PI 639301		O		
PI 639332		W		
<i>Aegilops geniculata</i>	PI 170191	4x	<u>MM</u> UU	O
	PI 361880			O
	PI 487220			O
	PI 487223			O
<i>Aegilops juvenalis</i>	PI 542193	6x	DDMMUU	W
<i>Aegilops kotschy</i>	PI 226615	4x	<u>SS</u> UU	O
	PI 226617			O
	PI 227290			O
	PI 227435			W
	PI 614629			W
<i>Aegilops longissima</i>	PI 542196	2x	SS	O
	PI 487285			W
<i>Aegilops markgrafii</i>	PI 298889	2x	CC	O
	PI 542219			O
	PI 551120			O
	PI 551132			O
<i>Aegilops neglecta</i>	PI 254859	6x	<u>U</u> MMNN	W
	PI 554286			W
	PI 551161			W
	PI 551160			O
<i>Aegilops peregrina</i>	PI 604146	4x	<u>SS</u> UU	W
	PI 604151			P
	PI 604154			O
	PI 604171			O
<i>Aegilops peregrina var brachyiathera</i>	PI 542236	4x	<u>S</u> <sup>1</sup> <u>S</u> <sup>1</sup> UU	O
	PI 603247			P
<i>Aegilops searsii</i>	PI 599129	2x	SS	W
	PI 599137			W
	PI 599140			W
	PI 599168			W
<i>Aegilops sharonensis</i>	PI 584410	2x	SS	O
	PI 584413			O
	PI 584430			O
	PI 584379			O

Nazwa	PI No.	Ploidalność	Skład genomowy	Reakcja na porażenie przez grzyb <i>Puccinia triticinia</i>
<i>Aegilops speltoides</i>	PI 542238	2x	BB	O
	PI 170204			O
<i>Aegilops speltoides</i> var <i>speltoides</i>	PI 560750	2x	BB	O
<i>Aegilops tauschii</i>	PI 431599	2x	DD	W
	PI 476874			O
	PI 511362			W
	PI 560534			P
	PI 603250			O
<i>Aegilops triuncialis</i>	PI 227292	4x	UUCC	W
<i>Aegilops triuncialis</i> var <i>persica</i>	PI 483027	4x	CCUU	P
	PI 69			P
<i>Aegilops umbellulata</i>	PI 204546	2x	UU	O
	PI 486256			O
	PI 542383			O
	PI 554282			O
	PI 560557			O
<i>Aegilops uniaristata</i>	PI 554420	2x	NN	W
	PI 554421			W
	PI 554418			W

#### Wnioski

1. Gatunki z rodzaju *Aegilops* są potencjalnym źródłem nowych genów odporności na rdzę brunatną.
2. Wybrane genotypy odporne zostaną wykorzystane do krzyżowania liniami oraz odmianami pszenicy i pszenżyta w celu wyprowadzenia form odpornych
3. Poszukiwanie nowych źródeł odporności, zwłaszcza wśród form heksaploidalnych jest celowe i powinno być kontynuowane w latach kolejnych.
4. Konieczne jest prowadzenie testów żywicieli patogen w oparciu o izolaty zebrane z terenu całego kraju w każdym sezonie wegetacyjnym.

#### 1.2. Temat badawczy 2: Uzyskiwanie mieszańców poprzez krzyżowanie (kastrowanie i zapylanie) roślin.

Cel tematu badawczego 2

Celem zadania 2 jest wybór genotypów rodzicielskich do krzyżowań i ocena stopnia ich krzyżowalności w krzyżowaniach oddalonych.

#### Wyniki

W ramach realizacji projektu wykonano 129 kombinacji krzyżówkowych wg schematu pszenżyto ozime 6x × pszenica ozima 6x. Spośród 129 wykonanych kombinacji uzyskano 124, a procent zawiązanych ziarniaków wahał się od 0 do 46,55 (Tab. 3). Najwyższą zdolność kombinacyjną zaobserwowano dla pszenicy Johnny (40,07%), a najniższą dla pszenicy odmiany Matraderecskei (1,59%). Najwyższą zdolność kombinacyjną w obrębie rodzaju *Triticale* wykazywał ród hodowlany MAH5 (30,13%) a najniższą odmiana Akord (0,69%). Łączna liczba wykastrowanych kwiatów wyniosła 14 641. Liczba zawiązanych ziarniaków F<sub>1</sub> wyniosła 2 063. Średni procent zawiązywanych ziarniaków wyniósł 14,10. Poszerzanie zmienności genetycznej pszenżyta możliwe jest również przez krzyżowanie z pszenperzem (PPG113, PPG115). Takich kombinacji krzyżówkowych wykonano i uzyskano 5. Łącznie wykastrowano 626 kwiatów na roślinach pszenżyta ozimego i uzyskano 132 ziarniaki. Średni procent zawiązywania ziarniaków wyniósł w tym przypadku 20,05 (Tab. 4).

**Tabela 3.** Kombinacje krzyżówkowe pszenżyta 6x z pszenicą 6x – formy ozime – F<sub>1</sub>

Lp.	Kombinacja	% związanych ziarniaków
1	Akord × Patras	0,00
2	BOH1512 × Mirjana	0,00
3	BOH1913 × Ozon	0,00
4	Haiduc × Ozon	0,00
5	Mezin × Patras	0,00
6	Mikado × Zunda	0,85
7	Mezin × Ozon	0,93
8	Negoiu × Weipro	1,16
9	Mezin × Matraderecskei	1,28
10	Mezin × Vratza	1,32
11	Mezin × Alfold	1,38
12	MAH8 × Oenus	1,47
13	DC3 × Hondia	1,69
14	Agraf × Artist	1,85
15	Negoiu × Matraderecskei	2,08
16	Akord × Artist	2,17
17	Oda × Carodejka	2,27
18	MAH10 × Mirjana	2,48
19	Negoiu × Alfold	2,60
20	Negoiu × Carodejka	2,63
21	Mikado × Sojuz 50	2,68
22	BOH1813 × Mirjana	2,78
23	DC3 × Memory	3,06
24	MAH10 × Turavchanka	3,08
25	MAH11 × Oenus	3,13
26	MAH8 × Bononija	3,13
27	MAH6 × Sani	3,57
28	DC4 × Hondia	3,85
29	Fredro × Elixer	3,91
30	Alegro × Ozon	4,00
31	MAH9 × Zunda	4,17
32	BOH1512 × Bononija	4,31
33	Agraf × Ozon	4,55
34	BOH1512 × Ozon	4,55
35	Haiduc × Carodejka	4,65
36	Mezin × Bononija	4,76
37	MAH11 × Zunda	5,00
38	BOH1813 × Ozon	5,56
39	DC2 × Estivus	5,56
40	DC2 × Gargantua	5,71
41	BOH1512 × Zunda	5,74
42	BOH1813 × Zunda	5,88
43	MAH7 × Bononija	6,63
44	BOH1813 × Berezina	6,90

Lp.	Kombinacja	% związanych ziarniaków
45	BOH1913 × Artist	7,30
46	MAH1 × Spartakus	7,38
47	MAH7 × Mambo	7,58
48	MAH8 × Saturnus	7,89
49	Negoiu × Turavchanka	7,95
50	Haiduc × Vratza	8,14
51	DC4 × Estivus	8,33
52	MAH10 × Bankuter	8,33
53	MAH11 × Saturnus	8,33
54	MAH8 × Zunda	8,33
55	Negoiu × Bononija	8,33
56	Oda × Ozon	8,42
57	MAH10 × Sojuz 50	8,82
58	MAH9 × Oenus	8,82
59	Mezin × Turavchanka	8,87
60	Haiduc × Saturnus	9,09
61	MAH2 × Spartakus	9,09
62	DC1 × Estivus	9,17
63	BOH1913 × Patras	9,38
64	MAH6 × Bankuter	9,38
65	Haiduc × Alfold	9,52
66	Mikado × Bankuter	9,52
67	MAH9 × Saturnus	9,92
68	Negoiu × Ozon	10,16
69	MAH2 × Vratza	10,19
70	MAH11 × Turavchanka	10,22
71	MAH33881-14 × Artist	11,31
72	Oda × Weipro	11,40
73	MAH3 × Spartakus	11,84
74	DC1 × Memory	11,86
75	Haiduc × Patras	12,07
76	MAH8 × Turavchanka	12,50
77	Mikado × Saturnus	12,50
78	Negoiu × Dar Zaporozhya	12,50
79	MAH9 × Turavchanka	12,73
80	MAH33881-14 × Berezina	12,96
81	MAH33881-14 × Elixer	12,96
82	Haiduc × Weipro	13,19
83	Oda × Alfold	13,41
84	Mikado × Saturnus	13,55
85	Agraf × Patras	13,79
86	MAH8 × Bankuter	15,00
87	Oda × Mambo	15,00
88	Fredro × Tobak	15,22

Lp.	Kombinacja	% związanych ziarniaków
89	MAH1 × Mambo	15,45
90	Amoroso × Kovas	16,67
91	MAH4 × Saturnus	17,46
92	DC1 × Gargantua	17,54
93	BOH1813 × Patras	18,18
94	DD107/08 × Zunda	20,00
95	DC2 × Hondia	20,13
96	DC1 × Spontan	20,15
97	MAH4 × Kaskada	20,15
98	MAH33881-14 × Mambo	20,24
99	DC3 × Estivus	20,63
100	MAH1 × Kovas	21,05
101	Fredro × Artist	21,21
102	MAH3 × Saturnus	21,25
103	MAH1 × Saturnus	21,43
104	DC4 × Spontan	21,97
105	Amoroso × Mirjana	22,50
106	DC1 × Johnny	22,50
107	MAH7 × Saturnus	23,00
108	DD107/08 × Bankuter	23,08
109	MAH3 × Kovas	23,39
110	Alegro × Artist	24,00
111	DC2 × Memory	26,06

Lp.	Kombinacja	% związanych ziarniaków
112	MAH5 × Sani	26,25
113	MAH9 × Kaskada	27,03
114	MAH2 × Oenus	27,27
115	DC3 × Gargantua	29,41
116	MAH1 × Amantos	29,82
117	DC2 × Johnny	30,45
118	Fredro × Saturnus	31,67
119	MAH1 × Mirjana	33,04
120	MAH2 × Alfred	33,33
121	MAH5 × Amantos	34,51
122	MAH6 × Amantos	34,55
123	DC3 × Johnny	34,87
124	MAH6 × Demetra	35,09
125	BOH1813 × Artist	35,67
126	MAH7 × Bankuter	37,80
127	DC3 × Spontan	38,58
128	MAH33881-14 × Alfold	40,45
129	Negoiu × Artist	40,54
130	DC2 × Spontan	40,63
131	MAH4 × Kovas	40,70
132	MAH3 × Kaskada	43,86
133	Mezin × Artist	44,12
134	DC4 × Johnny	46,55

**Tabela 4.** Kombinacje krzyżówkowe pszenżyta 6x z pszenperzem

Lp.	Kombinacja	% związanych ziarniaków
1	Fredro × PPG 113	8,04
2	MAH33881-14 × PPG 115	16,38
3	Fredro × PPG 115	18,87
4	MAH1 × PPG 115	26,61
5	MAH2 × PPG 115	30,36

Kolejną grupę krzyżowań stanowiły kombinacje wykonane pomiędzy pszenżytem jarym i pszenicą jarą wg schematu: pszenica jara 6x × pszenżyto jare 6x (Tab. 5). Liczba wykonanych kombinacji wynosiła 8. Procent związanych ziarniaków wahał się od 12,90 do 26,47. Najwyższą zdolność kombinacyjną stwierdzono dla linii hodowlanej pszenżyta DC06177-40 i wynosiła ona 25,76%. Najniższą zaś stwierdzono dla odmiany Mazur i wynosiła ona 16,67%. Wśród form matecznych najwyższą zdolność kombinacyjną stwierdzono dla pszenicy odmiany Trappe (29,41%) a najniższą dla odmiany Mandaryna (17,19%). Liczba wykastrowanych kwiatów wynosiła 368, natomiast liczba uzyskanych ziarniaków wynosiła 82. Średni procent uzyskiwanych ziarniaków kształtował się na poziomie 22,26.

**Tabela 5.** Kombinacje krzyżówkowe pszenżyta 6x z pszenicą 6x – formy jare – F<sub>1</sub>

Lp.	Kombinacja	% związanych ziarniaków
1	DC06177-40 × Struna	26,47
2	DC06177-40 × Trap	25,00
3	DC06177-49 × Harenda	17,50
4	DC06177-49 × Mandaryna	18,75
5	DC06177-49 × Trap	36,84
6	Mazur × Artist	25,00
7	Mazur × Mandaryna	15,63
8	Mazur × Struna	12,90

W ramach tematu w sezonie wegetacyjnym 2013/2014 przeprowadzono również szereg krzyżowań wstecznych pszenżyta ozimego. W grupie tej wykonano 28 kombinacji krzyżówkowych. Formę mateczną stanowiły tutaj mieszańce oddalone pszenżyta, zaś formami ojcowskimi były różne odmiany pszenżyta. Procent związanych ziarniaków wahał się od 0 (dla jednej kombinacji) do 79,51 (Tab. 6). Łączna liczba wykstrowanych kwiatów wyniosła 1983, liczba uzyskanych ziarniaków F<sub>1</sub> wyniosła 750. Średni procent związanych ziarniaków wyniósł 35,59.

**Tabela 6.** Kombinacje krzyżowań wstecznych mieszańców oddalonych pszenżyta z różnymi odmianami hodowlanymi.

Lp.	Kombinacja	% związanych ziarniaków
1	(Tortija × Azalio) × Sekundo	35,71
2	(Mobela × Amilo) × Baltiko	22,58
3	(Mobela × Amilo) × Cyrkon	22,86
4	(Mobela × Amilo) × Pigmej	65,15
5	(Tortija × Motto) × Sekundo	0,00
6	(Tortija × Motto) × Sorento	20,83
7	(Tortija × Amilo) × Algoso	46,67
8	(Tortija × Amilo) × Pigmej	27,42
9	[(Clever × Motto) × Woltario] × Algoso	51,61
10	[(Clever × Motto) × Woltario] × Magnat	32,81
11	[(Clever × Motto) × Woltario] × Pawo	50,00
12	[(Clever × Motto) × Woltario] × Pigmej	52,94
13	[(Clever × Motto) × Woltario] × Sekundo	61,84
14	<i>Ae. neglecta</i> × Zawisza × Algoso	79,51
15	<i>Ae. neglecta</i> × Zawisza × Cyrkon	57,14
16	<i>Ae. neglecta</i> × Zawisza × Todan	51,82
17	Grandval × Bagou × Baltiko	5,77
18	Grandval × Bagou × Magnat	2,63
19	Grandval × Bagou × Sekundo	2,78
20	Grandval × Natula × Baltiko	14,84
21	Grandval × Natula × Cyrkon	20,69
22	Grandval × Natula × Magnat	53,85
23	Grandval × Natula × Pawo	11,54
24	Grandval × Symfonia × Baltiko	30,00

Lp.	Kombinacja	% zawiązanych ziarniaków
25	Grandval × Symfonia × Pawo	31,67
26	Grandval × Symfonia × Sekundo	65,38
27	Quatravents × Credo × Baltiko	35,23
28	Quatravents × Credo × Cyrkon	43,18

Koleją grupą krzyżowań przeprowadzonych w ramach tematu były krzyżowania mające na celu uzyskanie mieszańców oddalonych pomiędzy pszenicą 6x, a pszenżytem 6x. Wykonano 52 kombinacje krzyżówkowe z czego udanych było 18. Procent zawiązanych ziarniaków wahał się od 0 do 9,62. Najwyższą zdolność kombinacyjną zanotowano dla pszenicy odmiany Matraderecskei i wynosiła ona 8,70%. Jeśli chodzi o formę ojcovska to najwyższą zdolność kombinacyjną stwierdzono dla odmiany żyta Arant (3,77%) (Tab. 7). Wśród przeprowadzonych krzyżowań część stanowiły krzyżowania pszenicy z translokacyjną formą żyta (980, 982, 998) pochodzącą z kombinacji krzyżówkowej Amilo x *Dasypyrum villosum*. Liczba wykastrowanych kwiatów w obrębie tej grupy krzyżowań wyniosła 3031, łączna liczba zawiązanych ziarniaków wyniosła 45.

**Tabela 7.** Pszenżyto pierwotne uzyskane w wyniku krzyżowania pszenicy zwyczajnej i żyta uprawnego.

Lp.	Kombinacja	% zawiązanych ziarniaków
1	Alfold × 980	0,00
2	Alfold × Bojko	0,00
3	Carodejka × 982	0,00
4	Carodejka × 998	0,00
5	Carodejka × Arant	0,00
6	Demetra × Włodko	0,00
7	Estivus × 980	0,00
8	Estivus × Arant	0,00
9	Estivus × D. diament	0,00
10	Gargantua × 980	0,00
11	Gargantua × Włodko	0,00
12	Hondia × Arant	0,00
13	Hondia × Włodko	0,00
14	Johnny × 982	0,00
15	Johnny × Włodko	0,00
16	Mambo × D. diament	0,00
17	Memory × D. diament	0,00
18	Mirjana × 980	0,00
19	Mirjana × D. diament	0,00
20	Mirjana × Motto	0,00
21	Mirjana × Warko	0,00
22	Oenus × Warko	0,00
23	Poshuk × 982	0,00
24	Poshuk × 998	0,00
25	Rusalka × 982	0,00
26	Rusalka × 998	0,00
27	Sojuz 50 × Motto	0,00
28	Sojuz 50 × Warko	0,00

Lp.	Kombinacja	% zawiązanych ziarniaków
29	Spontan × Włodko	0,00
30	Weipro × Warko	0,00
31	Weipro × Włodko	0,00
32	Zenit × D. diament	0,00
33	Zenit × Motto	0,00
34	Spontan × Arant	0,93
35	Weipro × 998	1,22
36	Alfold × 982	1,35
37	Sojuz 50 × D. amber	1,43
38	Zenit × 998	1,47
39	Memory × Arant	1,79
40	Mambo × Bojko	2,00
41	Oenus × 982	2,00
42	Rusalka × Arant	2,00
43	Vratza × 980	2,08
44	Weipro × D. amber	2,17
45	Carodejka × Włodko	3,03
46	Poshuk × Włodko	3,19
47	Demetra × 982	3,85
48	Vratza × Motto	4,17
49	Berezina × Arant	4,55
50	Mirjana × Motto	7,14
51	Matraderecskei × 998	8,70
52	Demetra × Arant	9,62

Ostatnią grupę krzyżowań stanowiły kombinacje pomiędzy wyselekcjonowanymi genotypami z rodzaju *Aegilops*, które były odporne na rdzę brunatną a pszenicą heksaploidalną oraz pszenżytem. Wykonano 10 kombinacji krzyżówkowych, z których 5 było udanych. Wysoki procent zawiązywania ziarniaków zaobserwowano dla kombinacji *Aegilops crassa* x Demetra, jednak w przypadku tej kombinacji obserwowano zamieranie zarodków na bardzo wczesnym stadium. Zarodków tych nie udało się również utrzymać w kulturach *in vitro*. Średni procent zawiązywanych ziarniaków wynosił 6,8 (Tab. 8). Łączna liczba wykastrowanych kwiatów wynosiła 418, zaś liczba uzyskanych ziarniaków 28.

**Tabela 8.** Kombinacje krzyżówkowe dzikich form z rodzaju *Aegilops* z pszenicą oraz pszenżytem.

Lp.	Kombinacja	% zawiązyanych ziarniaków
1	<i>Ae. geniculata</i> × Sorento	0,0
2	<i>Ae. longissima</i> × Alfold	0,0
3	<i>Ae. longissima</i> × MAH9	0,0
4	<i>Ae. longissima</i> × Sorento	0,0
5	<i>Ae. peregrina</i> × MAH9	1,8
6	<i>Ae. peregrina</i> × Negoiu	11,1
7	<i>Ae. crassa</i> × Rusalka	12,5
8	<i>Ae. peregrina</i> × Alfold	15,2
9	<i>Ae. crassa</i> × Demetra	20,8

#### Wnioski

1. Gatunki z rodzaju *Aegilops* krzyżują się zarówno z pszenicą zwyczajną jak i pszenżytem zwyczajnym.
2. Niektóre genotypy pszenicy (np. Matraderecskei) charakteryzuje zmienna zdolność kombinacyjna w zależności od tego czy wykorzystywane są jako forma mateczna do uzyskiwania pszenżyta pierwotnego czy jako forma ojcowska dla pszenżyta. Zdolność kombinacyjna poszczególnych odmian i linii może zatem zależeć od tła genetycznego obu form rodzicielskich.

### 1.3. Temat badawczy 3: Ocena zmienności cech w mieszańcach

#### Cel tematu badawczego 3

Celem zadania 3 jest ocena zmienności wybranych cech ilościowych roślin segregującej populacji F<sub>2</sub> zróżnicowanych pod względem terminu kłoszenia oraz genotypów zawierających w składzie genetycznym materiał mieszańców oddalonych uzyskanych w ramach projektu w sezonie 2012/2013.

#### Wyniki

Analiza komponentów plonu badanych genotypów wykazała, że ich średnie wartości nie różniły się istotnie od form rodzicielskich wykorzystanych do krzyżowania w celu wyprowadzenia populacji mapującej. Porównując wyniki uzyskane dla form mieszańcowych z formami Clever × (Amilo × *Dasyphyrum villosum*) oraz Nadobna stwierdzono, że analizowane mieszańce cechowały się zwiększoną zbitością kłosa. Ponadto mieszańce charakteryzowały się większą liczbą kłosek w kłosie głównym niż Nadobna oraz były wyższe niż forma Clever × (Amilo × *Dasyphyrum villosum*) (Tab. 9, 10). Wyniki oceny genotypów zawierających materiał genetyczny mieszańców oddalonych uzyskanych w ramach projektu w sezonie 2012/2013 przedstawiono w tabelach 11 oraz 12.



**Tabela 9.** Wartości średnie komponentów plonu mieszańców Clever × (Amilo × *Dasypyrum villosum*) × Nadobna oraz komponentów rodzicielskich.

	Długość pędu głównego [cm]	Długość osadki kłosowej [cm]	Liczba kłosek w kłosie głównym	Zbitość kłosa głównego	Liczba ziarniaków w kłosie głównym	Masa ziarniaków z kłosa głównego [g]	MTZ [g]
<b>P3 × W1</b>	96,1 <sup>a</sup>	10,9 <sup>a</sup>	28 <sup>a</sup>	24,88 <sup>a</sup>	42 <sup>a,b</sup>	2,30 <sup>a</sup>	52,86 <sup>a</sup>
<b>P3 (forma późna)</b>	99,2 <sup>a</sup>	12,3 <sup>a</sup>	29 <sup>a</sup>	22,59 <sup>a</sup>	38 <sup>b</sup>	1,76 <sup>a</sup>	45,29 <sup>a</sup>
<b>W1 (forma wczesna)</b>	95,0 <sup>a</sup>	11,3 <sup>a</sup>	28 <sup>a</sup>	24,20 <sup>a</sup>	66 <sup>a</sup>	3,01 <sup>a</sup>	46,00 <sup>a</sup>

**Tabela 10.** Wartości średnie komponentów plonu mieszańców Clever × (Amilo × *Dasypyrum villosum*) × Nadobna oraz form wyjściowych Clever × (Amilo × *Dasypyrum villosum*) i Nadobna.

	Długość pędu głównego [cm]	Długość osadki kłosowej [cm]	Liczba kłosek w kłosie głównym	Zbitość kłosa głównego	Liczba ziarniaków w kłosie głównym	Masa ziarniaków z kłosa głównego [g]	MTZ [g]
<b>P3 × W1</b>	96,1 <sup>a</sup>	10,9 <sup>a</sup>	28 <sup>a</sup>	24,88 <sup>a</sup>	42 <sup>a</sup>	2,30 <sup>a</sup>	52,86 <sup>a</sup>
<b>Clever × (Amilo × <i>Dasypyrum villosum</i>)</b>	83,3 <sup>b</sup>	11,7 <sup>a</sup>	24 <sup>a,b</sup>	19,88 <sup>b</sup>	54 <sup>a</sup>	2,83 <sup>a</sup>	53,34 <sup>a</sup>
<b>Nadobna</b>	86,4 <sup>a,b</sup>	10,7 <sup>a</sup>	21 <sup>b</sup>	18,86 <sup>b</sup>	59 <sup>a</sup>	2,82 <sup>a</sup>	48,23 <sup>a</sup>

**Tabela 11.** Ocena mieszańców w doświadczeniu międzyzakładowym (3 punkty, 1 powtórzenie, powierzchnia poletka 10 m<sup>2</sup>).

Obiekt	Pochodzenie	Średni plon (dt/ha)	Plon w % wzorca	Mączniak [5.06]	Data kłoszenia [maj]	Rdza żółta	Wysokość roślin [cm]
BOH 2768-1	(Pawo x Clever) x 31M	89.3	95	7	15	6	135
BOH 1478-1	(24M x Nadobna) x Pawo	88.0	94	5	19	6	145
BOH 1339-1	((Pawo x Clever) x 31M) x DAD 230/02	86.0	92	6	14	7	130
BOHD 2211-1	(BOH 1007 x Wydma) x Cando	82.9	88	7	16	5	120
BOH 1706-1	(Madilo x Ser B 2389) x BOH 212-81	82.1	87	6	11	7	130
BOHD 2211-2	(BOH 1007 x Wydma) x Cando	78.4	83	7	14	6	110
BOH 1476-1	(24M x Nadobna) x BOH 605	72.8	78	8	18	3	105
BOHD 2211-4	(BOH 1007 x Wydma) x Cando	53.2	57	5	20	6	110
BOHD 2211-3	(BOH 1007 x Wydma) x Cando	46.5	49	5	16	2	100
<i>Borowik</i>	<i>wzorzec 1</i>	97.9	104	5	11	6	145

Obiekt	Pochodzenie	Średni plon (dt/ha)	Plon w % wzorca	Mączniak [5.06]	Data kłoszenia [maj]	Rdza żółta	Wysokość roślin [cm]
<i>Fredro</i>	<i>wzorzec 2</i>	92.9	99	4	11	6	130
<i>BOH 1512</i>	<i>wzorzec 3</i>	91.1	97	6	11	6	135

**Tabela 12.** Ocena rodów mieszańcowych w doświadczeniu zakładowym (1 punkt, 1 powtórzenie, powierzchnia poletka 6 m<sup>2</sup>).

Nazwa genotypu	Pochodzenie	Plon nasion dt/ha	% wzorca	Data kłoszenia [maj]	Wysokość roślin [cm 17.06]	Mączniak prawdziwy [10.06]	Rdza brunatna [10.06]	Rdza żółta [10.06]	Wyleganie [11.07]
<i>BOH 1512</i>	<i>wzorzec 1</i>	100.98	103,84	11	125	6	8	6	9
<i>Fredro</i>	<i>wzorzec 2</i>	93.51	96,16	12	130	4	5	6	9
Bo 1077	((Pawo x Clever) x 31M) x DAD 230/02	107.41	110,46	13	140	6	9	6	9
Bo 1063	(Ae.bin x (Witon x 747)) x MODERATO	100.74	103,6	15	145	7	9	7	9
1Gr/04	(740 x Witon) x BOH 403	116.83	120,14	20	115	5	8	6	9
1Gr/04	(740 x Witon) x BOH 403	114.99	118,25	20	115	6	8	6	9
1Gr/04	(740 x Witon) x BOH 403	113.33	116,54	20	115	6	8	7	9
Bo 1077	((Pawo x Clever) x 31M) x DAD 230/02	96.08	98,8	13	140	7	9	6	9
Bo 2213	(Sojuz x Rosa) x mieszanka pyłków	103.08	106	16	110	7	7	3	9
Bo 1487	(BOH 303 x A 1042pszenica) x BOH 605	95.08	97,77	12	130	8	7	7	9
1Gr/04	(740 x Witon) x BOH 403	105.66	108,65	20	120	5	7	6	9
1Gr/04	(740 x Witon) x BOH 403	103.33	106,26	20	115	6	8	6	9
Bo 1910	(A1042 pszenica) x Motto) x MAH 5208	91.16	93,74	18	135	6	6	7	9
Bo 1492	(BOH 504 x A 1042pszenica) x Talentro	87.41	89,89	16	115	6	8	4	9
Bo 2208	{[( Smuga x Amilo) x Cytra]x BOH 504} x Cando	90.08	92,63	20	110	6	5	5	9
7 GR/11	(946 x Fidelio) x 946	76.33	78,49	20	120	6	6	7	9
Bo 1908	((BK 1126 x Warko) x BOH 504) x BOHD 617-4	84.33	86,72	20	120	7	8	7	9
Bo 1060	Ae.bin x (Witon x 747) x BOH 504	77.99	80,2	13	145	8	8	7	9
1Gr/04	(740 x Witon) x BOH 403	92.66	95,29	20	115	6	8	6	9
7 GR/11	(946 x Fidelio) x 946	74.66	76,78	20	115	6	8	7	9
Bo 1699	(Baltiko x CM 3202) x Woltario	85.50	87,92	16	95/115	-	-	3	9
Bo 2211	(BOH 1007 x Wydma) x Cando	72.66	74,72	16	105	8	7	7	9
Bo 1769	Algaro x BOH 99 - 7	74.99	77,12	20	110	7	8	3	9
Bo 1487	(BOH 303 x A 1042pszenica) x BOH 605	77.58	79,78	21	95	-	-	4	9
Bo 1494	(BOH 303 x Maris Wigdeon Rht3) x Moderato	78.91	81,15	12	135	6	4	7	9
Bo 1699	(Baltiko x CM 3202) x Woltario	82.83	85,18	16	100	-	-	4	9
Bo 1911	(A1042 pszenica x Motto) x Moderato	79.16	81,4	21	125	7	6	6	9
Bo 1487	(BOH 303 x A 1042pszenica) x BOH 605	76.58	78,75	11	140	8	8	7	9
Bo 2211	(BOH 1007 x Wydma) x Cando	68.83	70,78	20	120	-	-	7	9
Bo 1699	(Baltiko x CM 3202) x Woltario	79.33	81,58	18	90	-	-	4	9
1Gr/04	(740 x Witon) x BOH 403	64.83	66,67	20	115	5	8	7	9
Bo 1699	(Baltiko x CM 3202) x Woltario	79.00	81,23	16	95/110	7	7	7	9
Bo 836	(BOH 403 x Piko) x BOGO	68.24	70,18	11	125	-	-	7	9
Bo 1487	(BOH 303 x A 1042pszenica) x BOH 605	71.08	73,09	21	90	7	9	7	9
4Gr/05	<i>Ae.biuncialis</i> x (Witon x 747)	60.50	62,21	16	120	-	-	4	9
Bo 836	(BOH 403 x Piko) x BOGO	60.33	62,04	13	110	-	-	7	9
Bo 1487	(BOH 303 x A 1042pszenica) x BOH 605	67.08	68,98	19	95	-	5	4	9

Nazwa genotypu	Pochodzenie	Plon nasion dt/ha	% wzorca	Data kłoszenia [maj]	Wysokość roślin [cm 17.06]	Mączniak prawdziwy [10.06]	Rdza brunatna [10.06]	Rdza żółta [10.06]	Wyleganie [11.07]
Bo 1910	(A1042 pszenica) x Motto) x MAH 5208	66.33	68,21	16	125	5	9	3	9
Bo 1899	(BOH 504 x Zadra) x Gniewko	61.99	63,75	21	110	-	-	2	9
Bo 1476	(24M x Nadobna) x BOH 605	54.74	56,3	16	115	-	-	4	9
Bo 1900	(BOH 504 x Zadra) x Moderato	52.66	54,15	21	105			7	9

#### Wnioski

1. Zmiana genetycznego podłoża reakcji roślin na fotoperiod nie wpływa niekorzystnie na elementy plonowania roślin pszenżyta.

#### 1.4 Temat badawczy 4: Izolacja uzyskanych zarodków i prowadzenie kultur *in vitro*.

Cel tematu badawczego

Celem zadania 4 jest optymalizacja techniki ratowania zarodków w kulturach *in vitro*.

#### Wyniki

W pierwszym etapie wyłożono 20 zarodków pszenicy na pożywkę wyjściową o składzie przedstawionym w tabeli 13. Spośród wyłożonych zarodków uzyskano 5 roślin. Niska 25% wydajność związana była z zakażeniami grzybowymi. Podejmowane próby optymalizacji pożywki pozwoliły na zwiększenie wydajności do 30%.

Na szalki ze zoptymalizowaną pożywką wyłożono 25 zarodków pochodzących z kombinacji krzyżówkowych pszenica zwyczajna x żyto uprawne oraz 5 pochodzących z krzyżowania pszenicy i pszenżyta z rodzajem *Aegilops*. Uzyskano 10 roślin pszenżyta pierwotnego oraz 3 rośliny mieszańcowe z kozieńcami. Wydajność zastosowanej techniki ratowania zarodków wyniosła 43%.

#### Wnioski

1. Istnieje konieczność dopracowania techniki ratowania zarodków w kierunku eliminacji zakażeń grzybowych.
2. Należy dobrać doświadczalnie termin pobierania zarodków mieszańców pszenicy i pszenżyta z rodzaju *Aegilops*, tak by były odpowiedniej wielkości i barwy.

#### 1.5 Temat badawczy 5: Analizy molekularne uzyskanych mieszańców.

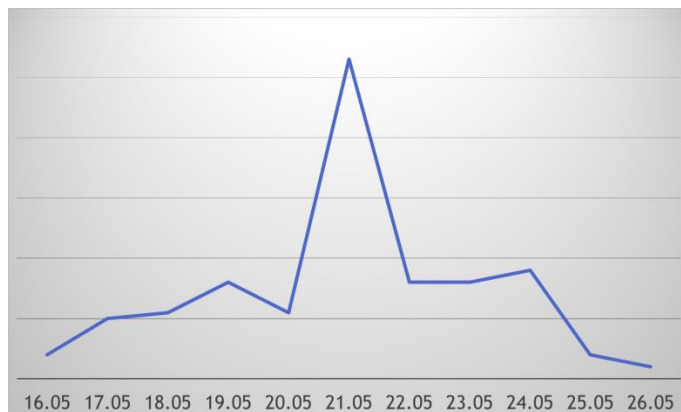
Cel tematu badawczego

Celem zadania 5 jest analiza molekularna genów wrażliwości na długość dnia (*Ppd*) w formach rodzicielskich populacji mapującej uzyskanej w wyniku krzyżowania wczesnych i późnych roślin pochodzących z kombinacji krzyżówkowej Clever × (Amilo × *Dasypyrum villosum*) × Nadobna.

#### Wyniki

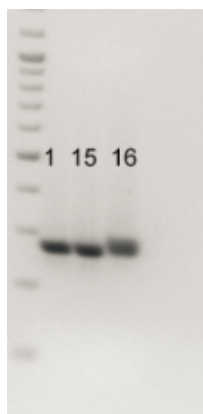
Uzyskana w wyniku krzyżowania form wczesnych oraz późnych populacja F<sub>2</sub> oceniona została pod kątem charakteru dziedziczenia genu warunkującego wczesność. Termin kwitnienia roślin w sezonie wegetacyjnym 2013/2014 mieścił się w zakresie od 16 do 26 maja. Analiza statystyczna rozszczepienia badanej cechy oparta o test chi-kwadrat potwierdziła rozszczepienie 1:2:1

(wczesny:pośredni:późny). Wartość chi-kwadrat wynosiła 0,8514. Uzyskane wyniki wskazują na niepełną dominację analizowanego genu (Rys. 1).

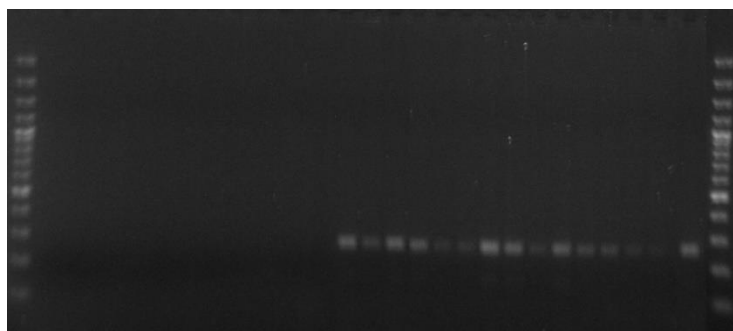


Rys. 1. Rozkład osobników populacji segregującej w zależności od terminu kłoszenia.

W wyniku przeprowadzonych reakcji różnicujące produkty PCR zostały zaobserwowane dla pary starterów Ppd-B1b-F i Ppd-B1b-R. W przypadku formy wczesnej oraz analizowanych wszystkich form kontrolnych był to amplikon o wielkości 272 par zasad, a w przypadku formy późnej o wielkości 279 par zasad (Fot. 1). Dla pozostałych par starterów uzyskano wyniki monomorficzne, które nie identyfikowały różnic pomiędzy formą wczesną oraz późną (Fot. 2). Wyniki takie mogą być spowodowane faktem, że miejsca wiązania starterów w sekwencjach kodujących poszczególne allele różniły się pojedynczymi nukleotydami. W przypadku pozostałych starterów nie udało się uzyskać amplifikacji pomimo modyfikacji warunków reakcji.

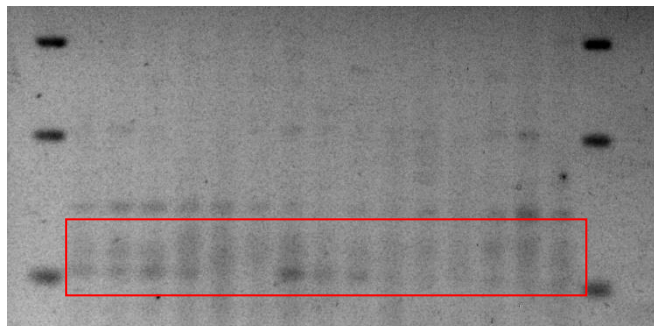


**Fot. 1.** Analiza locus Ppd-B1 w formach wczesnych (15) i późnych (16) oraz kontrolnej linii Mercia Ppd (1) z wykorzystaniem starterów Ppd-B1b-F i Ppd-B1b-R



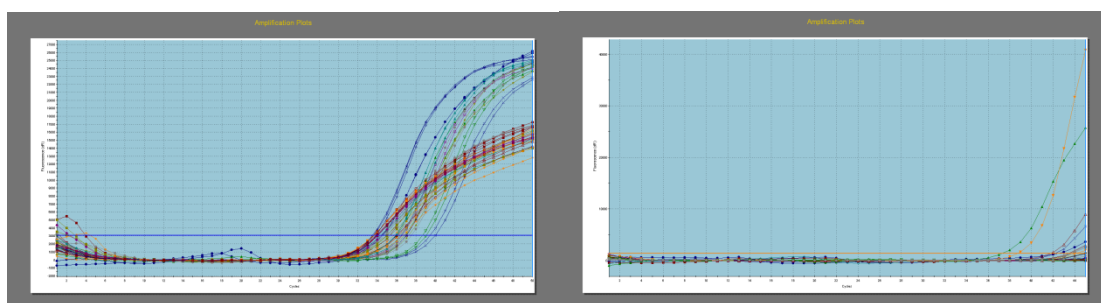
**Fot. 2.** Analiza locus Ppd-B1 w formach wczesnych (15) i późnych (16) oraz kontrolnej linii Mercia Ppd (1). z wykorzystaniem par Ppd-A1b-F i Ppd-A1b-R – monomorficzny oraz przykład braku amplifikacji.

Analizy w wykorzystaniu starterów zaprojektowanych na bazie informacji o sekwencjach kodujących allele *Ppd* nie pozwoliły dotychczas na uzyskanie jednoznacznych i wiarygodnych wyników. Wynika to z niewielkiej ilości amplifikowanych produktów, w przypadku których zdolność rozdzielcza żelu agarozowego okazała się niewystarczająca i podjęte zostaną próby zmiany wykorzystywanego systemu wizualizacji ampikonów na żel poliakrylamidowy (Fot. 3).



**Fot. 3.** Analiza sekwencji egzonowych w formach wczesnych (15) i późnych (16) oraz kontrolnej linii Mercia *Ppd* (1) z wykorzystaniem par *Ppd*-E1-F i *Ppd*-E1-R – ramką zaznaczono region występowania produktów docelowych.

Ze względu na wysoki koszt analizy w roku 2014 przeprowadzono pilotażowe badania z wykorzystaniem trzech genotypów (forma wczesna, forma późna, Mercia-*Ppd*) i oligonukleotydów znakowanych fluorescencyjnie. Na podstawie analizy uzyskanych krzywych amplifikacji stwierdzono poprawność jej przebiegu w przypadku dwóch z nich (Tab. 15), (Rys. 2).



**Rys. 2.** Krzywe amplifikacji dla reakcji z wykorzystaniem oligonukleotydów znakowanych fluorescencyjnie. W lewym panelu przedstawiono wynik dla oligonukleotydów dających poprawny sygnał amplifikacji natomiast w prawym panelu potwierdzenie braku amplifikacji w przypadku dwóch pozostałych nukleotydów.

Na podstawie uzyskanych wyników sekwencjonowania stwierdzono obecność 3 indeli o długości 1-3 nukleotydów w produkcie specyficznym dla roślin wczesnych. Ponadto, porównując sekwencje analizowanych fragmentów DNA stwierdzono obecność 10 SNPs (Rys. 3). Sekwencje genotypów kontrolnych, odmiany Nadobna oraz linii Clever  $\times$  (Amilo  $\times$  *Dasypyrum villosum*) były homologiczne. Sekwencja formy wczesnej pochodzącej z analizowanej kombinacji różniła się w porównaniu z kontrolami dwoma SNPs (Tab. 18).

```

CTCTTCAGGCTCAGCTCAAGATATGGCATGGCGTTCTCACGGTCGGCGTCTTTCCCTTCC
|||||
CTCTTCAGGCTCAGCTCAAGATATGGCATGGCGTTGTCACGGTCGGCGTCTTTCCCTTCC

GGCACTTGTGAGGAGCAGTTAGGAGCATCTATTGCTCTA---GCTGCCTGTTGGGCGTCC
|||
GGCGCTTGTGAGGAGCAGTTAGGAGCATCTATGGCTCTAGCCGCTGCCTGCTGGGCGTCC

ATGTTTTTGGCCATCGAACCGATTAGGTCAGCAGCTCGAACAATTGGCTCATCCGAATTT
|||||
ATGTTTTTGGCCATCGAACCGATTAGGTCAGCAGCTCGAACAATTGGCTCATCCGAATTT

TCCATAACTGTATCGTTGGAGTTGTTCT-GT--GGCAGATACTCACACCGTCCATTATCT
|||||
TCCATAACTGCATCATTGGAATTGTTGTTGTGAGGCACATACTCACACCGTCCATTATCG

GTTGGTTTGACCGAACTCTCATTTCGGGGAGG
|||||
GTTGGTTTGACCGAACTCTCATTTCGGGGAGG

```

**Rys. 3.** Analiza locus *Ppd-B1* w formach wczesnych (15) i późnych (16) oraz kontrolnej linii Mercia *Ppd* (1).

**Tabela 18.** Sekwencje alleli *Ppd* w analizowanych formach

Formy kontrolne, Nadobna, linia Clever × ( <i>Amilo</i> × <i>Dasypyrum villosum</i> )	
TCTCGACCTCTTCAGGCTCAGTTCAAGATACGGCATGGCGTTTTCACGGTCCGTGTCTTTCCCTTGC GGCGCTTGTGAGGAGCAGTTAGGAGCATCTATGGCTCTAGCTGCCTGTTGGGCGTCCATGTTTTTGG CCATCGAACCGATTAGGTCAGCAGCTCGAACAATTGGCTCATCCGAATTTTCCATAACTGTATCATT GGAATTGTTCTGTGGCAGATACTCACACCGTCCATTATCAGCTGGTTTGACCGAACTCTCATTTCGGG GAG	
<b>15</b>	
TCTCGACCTCTTCAGGCTCAGCTCAAGATATGGCATGGCGTTCTCACGGTCGGCGTCTTTCCCTTCC GGCACTTGTGAGGAGCAGTTAGGAGCATCTATTGCTCTAGCTGCCTGTTGGGCGTCCATGTTTTTGG CCATCGAACCGATTAGGTCAGCAGCTCGAACAATTGGCTCATCCGAATTTTCCATAACTGTATCGTT GGAGTTGTTCTGTGGCAGATACTCACACCGTCCATTATCTGTTGGTTTGACCGAACTCTCATTTCGGG GAGGA	
<b>16</b>	
TTCTTGTTCTCTTCAGGCTCAGCTCAAGATATGGCATGGCGTTGTCACGGTCGGCGTCTTTCCCTTCC GGCGCTTGTGAGGAGCAGTTAGGAGCATCTATGGCTCTAGCCGCTGCCTGCTGGGCGTCCATGTTT TTGGCCATCGAACCGATTAGGTCAGCAGCTCGAACAATTGGCTCATCCGAATTTTCCATAACTGCA TCATTGGAATTGTTGTTGTGAGGCACATACTCACACCGTCCATTATCGGTTGGTTTGACCGAACTCT CATTTCGGGGAGG	

W ramach zadania wyizolowano również DNA z 20 najwcześniejszych oraz 20 najpóźniejszych roślin populacji segregującej F<sub>2</sub>, celem wykonania dalszych analiz molekularnych zmierzających do determinacji gonotypu *Ppd*. Stwierdzono przydatność opracowanych starerów do identyfikacji nowego allelu w badanych genotypach z populacji segregującej (Tab. 19).

**Tabela 19.** Testowanie osobników wczesnych oraz późnych po kątem obecności nowego allelu (W - produkt 272 pz, P - 279 pz)

Nr próby	Termin kłoszenia	Zidentyfikowany produkt	Nr próby	Termin kłoszenia	Zidentyfikowany produkt
1	16.05	W	21	23.05	P
2	16.05	W	22	23.05	P
3	16.05	W	23	23.05	P
4	16.05	W	24	23.05	P
5	17.05	W	25	23.05	P
6	17.05	W	26	23.05	P
7	17.05	W	27	23.05	P
8	17.05	W	28	23.05	P
9	17.05	W	29	23.05	P
10	17.05	W	30	23.05	P
11	17.05	W	31	23.05	P
12	17.05	W	32	23.05	P

13	17.05	W	33	23.05	P
14	17.05	W	34	24.05	P
15	17.05	W	35	25.05	P
16	18.05	W	36	25.05	P
17	18.05	W	37	25.05	P
18	18.05	W	38	25.05	P
19	18.05	W	39	26.05	P
20	18.05	W	40	26.05	P

#### Wnioski

1. Istnieje konieczność opracowania nowych sekwencyjnie specyficznych starterów dla poszczególnych alleli *Ppd* pozwalających na identyfikację genów *Ppd-A1* i ewentualnych translokacji *Ppd-D1*.
2. Uzyskane wyniki wskazują na możliwość obecności w badanych roślinach pszenżyta nowego allelu *Ppd-B1*.
3. Planowana jest kontynuacja badań form wczesnych i późnych w warunkach kontrolowanych oraz analiza lokalizacji chromosomowej zidentyfikowanego allelu.