

SPRAWOZDANIE MERYTORYCZNE**z realizacji zadania na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej w 2016 roku****A. INFORMACJE OGÓLNE**

Tytuł zadania – Identyfikacja i lokalizacja markerów DNA dla wybranych genów odporności na mączniaka prawdziwego w owsie zwyczajnym oraz piramidyzacja efektywnych genów odporności w genomie owsa.
Numer zadania <i>(w załączniku nr 8 do rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 29 lipca 2015 r. w sprawie stawek dotacji przedmiotowych dla różnych podmiotów wykonujących zadania na rzecz rolnictwa (Dz. U. z 2015 r., poz. 1170))- 91</i>
Planowany okres realizacji zadania 2016
Planowane nakłady w zł 90 000

B. DANE WNIOSKODAWCY

Imię i nazwisko osoby reprezentującej jednostkę badawczą, tytuł lub stopień naukowy, stanowisko, nazwa i adres jednostki badawczej, telefon, fax) Prorektor d/s Nauki i Współpracy z Zagranicą prof. dr hab. Zbigniew Grądzki Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie ul. Akademicka 13 20-950 Lublin tel. (+ 81) 445-68-68

C. INFORMACJA O WYKONAWCACH

1. Zespół badawczy

Kierownik zadania		
imię i nazwisko	stopień i tytuł naukowy	miejsce zatrudnienia
Sylwia Okoń	dr	UP w Lublinie
Wykonawcy zadania		
imię i nazwisko	stopień i tytuł naukowy	miejsce zatrudnienia
Krzysztof Kowalczyk	prof. dr hab.	UP w Lublinie
Edyta Paczos-Grzęda	dr	UP w Lublinie
Justyna Leśniowska-Nowak	dr	UP w Lublinie
Tomasz Ociepa	mgr inż.	UP w Lublinie
Aleksandra Nucia	mgr inż.	UP w Lublinie

D. OPIS ZADANIA

1. Cele zadania

Lp.	Cel (zgodnie ze szczegółowym opisem na dany rok)	Czy cel został zrealizowany (tak/nie ¹ /częściowo ¹)
1	Ocena poziomu efektywności opisanych do tej pory genów odporności na mączniaka prawdziwego w owsie w warunkach naturalnej infekcji polowej	TAK
2	Analiza zmian wirulencji mączniaka prawdziwego na terenie Polski w latach 2010-2015	TAK
3	Ocena segregacji genów odporności w populacjach F ₂ oraz analiza rozszczepień w pokoleniu F ₃ z wykorzystaniem testów żywiciel-patogen	TAK
4	Ocena poziomu odporności odmian owsa zwyczajnego wpisanych do krajowego rejestru odmian uprawnych	TAK
5	Uzyskanie na drodze krzyżowania roślin, mieszańców owsa zwyczajnego z liniami zawierającymi efektywne geny odporności na mączniaka prawdziwego	TAK
6	Poszukiwanie markerów RAPD różnicujących pule roślin odpornych i podatnych w populacji F ₂ APR122 × Fuchs	TAK
7	poszukiwanie markerów DArTseq różnicujących pule roślin odpornych i podatnych w populacji F ₂ APR122 × Fuchs	TAK

3. Opis tematów badawczych *(należy sporządzić opis dla tematów badawczych wymienionych w tabeli powyżej; kolejność zgodnie z tabelą powyżej)*

3.1 Temat badawczy 1: Analiza efektywności genów odporności na mączniaka prawdziwego w warunkach polowych oraz ocena poziomu wirulencji populacji mączniaka prawdziwego występującego na terenie Polski

Cel tematu badawczego 1

Celem zadania 1 była ocena poziomu efektywności opisanych do tej pory genów odporności na mączniaka prawdziwego w owsie w warunkach polowych. Z uwagi na brak doniesień dotyczących struktury populacji mączniaka prawdziwego na terenie Polski, celem zadania 1 była również analiza zmienności populacji mączniaka prawdziwego owsa na terenie kraju. Głównym założeniem analizy zmienności była ocena zmian wirulencji patogenu w stosunku do najbardziej efektywnych genów odporności na mączniaka prawdziwego.

¹ Jeśli dotyczy – proszę opisać pod tabelą, w jakim stopniu cel został osiągnięty i podać przyczyny

Materiały i metody

Przedmiotem badań w zakresie analizy efektywności genów odporności na mączniaka prawdziwego w warunkach polowych były odmiany i linie owsa posiadające opisane do tej pory geny odporności na mączniaka prawdziwego: Jumbo – *Pm1*, Mostyn – *Pm3*, Av1860-*Pm4*, Bruno- *Pm6*, APR122 – *Pm7* oraz odmiana Fuchs nieposiadająca genów odporności na mączniaka prawdziwego. Do oceny włączono również odmianę Canyon, która posiada efektywne, ale jeszcze niescharakteryzowane źródło odporności na mączniaka prawdziwego.

Ziarniaki form kontrolnych wysiano w czterech lokalizacjach: Kopaszewo - Hodowla Roślin DANKO, Strzelce - Hodowla Roślin Strzelce, Polanowice - Małopolska Hodowla Roślin, Czesławice koło Nałęczowa – Gospodarstwo Doświadczalne Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie.

Formy kontrolne wysiane zostały na poletkach 2-rzędowych o długości 1 m (powierzchnia 0,2m²), w siewie gęstym, rzutowym (ok. 200 ziarniaków na m²). Rozstawa rzędów wynosiła 20cm.

Porażenie mączniakiem prawdziwym zestawu linii kontrolnych, w warunkach infekcji naturalnej, prowadzone było w 9-cio stopniowej skali, gdzie 9 oznaczało brak porażenia przez mączniaka prawdziwego, 1- porażenie, w którym objawy widoczne były na całej powierzchni liścia

Przedmiotem badań w zakresie analizy wirulencji populacji mączniaka prawdziwego owsa była kolekcja izolatów mączniaka prawdziwego zebrana w latach 2010-2015 w różnych lokalizacjach na terenie kraju. Głównym założeniem tych analiz było określenie zmienności występującej w populacji patogenu i ocena możliwości przełamania przez istniejące rasy patogenu odporności warunkowanej najbardziej efektywnymi w chwili obecnej genami odporności na mączniaka prawdziwego.

Izolaty mączniaka prawdziwego zostały przetestowane na zestawie linii i odmian kontrolnych z wykorzystaniem testów żywiciel-patogen. Fragmenty liści 10-dniowych siewek genotypów kontrolnych (Jumbo – *Pm1*, Cc3678 – *Pm2*, Mostyn – *Pm3*, Av1860- *Pm4*, Am27 – *Pm5*, Bruno- *Pm6* i APR122 – *Pm7* oraz odmian wrażliwych Fuchs i Sam) wyłożone zostały na szalki Petriego wypełnione do połowy pożywką agarową z dodatkiem beznymidazolu (6g agaru na 1l wody i 35 mg/l benzimidazolu). Szalki z fragmentami liści poddano inokulacji zarodnikami poszczególnych izolatów mączniaka prawdziwego. Po inokulacji szalki zostały umieszczone w fitotronie w następujących warunkach: temperatura 18°C, wilgotność 80% i fotoperiod 16/8. Po 10 dniach od inokulacji oceniono stopień porażenia analizowanych odmian przez izolaty mączniaka prawdziwego. Zastosowana została skala 5-stopniowa, w której 0 oznacza brak infekcji, brak widocznych objawów

porażenia mączniakiem prawdziwym, 1 – ograniczony rozwój patogenu, widoczne pojedyncze i niewielkie kolonie, 2 – widoczna grzybnia z niewielką ilością zarodników zajmująca mniej niż 20% powierzchni liścia, 3 - grzybnia rozległa zajmująca 20%-50% powierzchni liścia, 4 – obfita grzybnia zajmująca ponad 50% powierzchni liścia.

Uzyskane w testach żywiciel-patogen wyniki zostały przekonwertowane na matrycę 0-1 z uwzględnieniem warunku, że jeżeli symptomy choroby zostały ocenione jako 0, 1 lub 2 to izolat był klasyfikowany jako awirulentny dla danego genu odporności, natomiast jeśli symptomy choroby zostały ocenione jako 3 lub 4 izolat został sklasyfikowany jako wirulentny dla danego genu. Na podstawie uzyskanej matrycy oceniono frekwencję wirulencji poszczególnych izolatów, ich kompleksowość i zróżnicowanie. Izolaty zostały również zgrupowane w odpowiednie patotypy, określono również podobieństwo patotypów mączniaka prawdziwego występującego w Polsce. Analizy zostały przeprowadzone z oparciem o program HaGiS Tool (Herrmann i in. 1999).

Wyniki

W 2016 roku objawy mączniaka prawdziwego obserwowano we wszystkich 4 lokalizacjach, w których prowadzono obserwacje polowe. Najsilniejsze objawy porażenia mączniakiem prawdziwym obserwowano na terenie Polski zachodniej, najsłabsze w lokalizacji „Czesławice” (woj. lubelskie). Spośród ocenianych genotypów najbardziej porażona była odmiana Fuchs, która nie posiada żadnych genów odporności na mączniaka prawdziwego. Silne porażenie obserwowano również na liściach odmian Bruno z genem *Pm6* i Jumbo z genem *Pm1*. Odmiana Mostyn, z genem *Pm3* była porażona w mniejszym stopniu, co może świadczyć o tym, że gen *Pm3* nadal utrzymuje umiarkowaną odporność na mączniaka prawdziwego w stadium rośliny dorosłej. Linie Av1860 z genem *Pm4* i APR122 z genem *Pm7* były całkowicie odporne na mączniaka prawdziwego w warunkach naturalnej infekcji polowej. Objawów mączniaka prawdziwego nie obserwowano również na liściach odmiany Canyon (Tab. 1).

Tabela 1. Odporność linii i odmian kontrolnych w warunkach naturalnej infekcji polowej w 2016 roku

Lokalizacja	Jumbo (Pm1)	Bruno (Pm6)	Mostyn (Pm3)	Av1860 (Pm4)	APR122 (Pm7)	Fuchs	Canyon
Kopaszewo	3	3	5	9	9	3	9
Strzelce	3	3	5	9	9	3	9
Polanowice	3	5	7	9	9	3	9
Czesławice	5	5	7	9	9	3	9

Populacje mączniaka prawdziwego wykorzystane do oceny wirulencji patogenu skolekcjonowano w latach 2010-2015 w różnych częściach Polski (Tab. 2). Z każdej

lokalizacji w warunkach laboratoryjnych uzyskano po 10 jednozarodnikowych izolatów zgodnie z metodyką opisaną przez Okoń i Kowalczyk (2012).

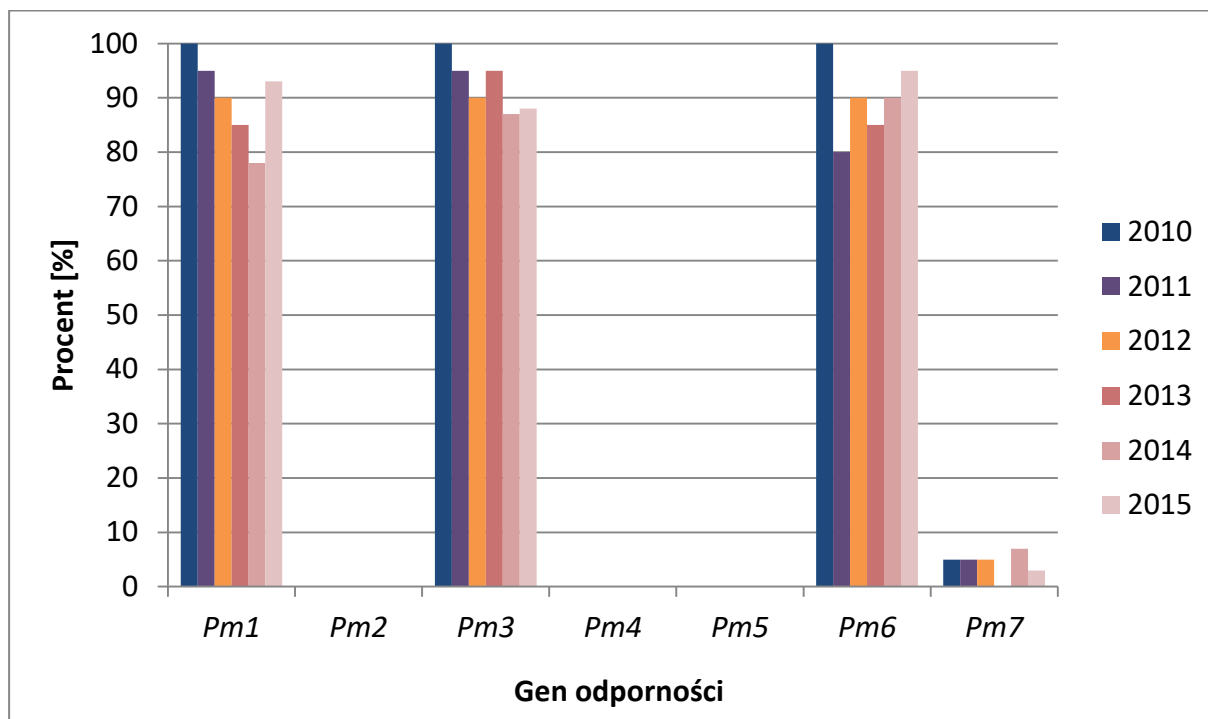
Tabela 2. Szczegółowe zestawienie dotyczące lokalizacji oraz roku pobrania izolatów użytych w doświadczeniu.

Lokalizacja \ Rok	2010	2011	2012	2013	2014	2015
Białka					+	
Choryń	+	+				
Cisów					+	
Czerwin						+
Czesławice				+	+	+
Człuchów					+	
Kopaszewo						+
Polanowice					+	+
Strzelce			+	+	+	+
Warmia					+	
Zambrów					+	
Żalno						+

Na podstawie testów żywiciel-patogen przeprowadzonych na grupie genotypów kontrolnych posiadających zdefiniowane geny odporności na mączniaka prawdziwego owsa, wyliczono jedną z podstawowych wartości dla tego typu analiz jaką jest frekwencja wirulencji. Wartość ta przedstawia całkowitą liczbę wirulentnych typów reakcji (tj. takich, które w teście żywiciel-patogen charakteryzowały się objawami porażenia na poziomie większym lub równym 3) dla każdego z badanych izolatów, wyrażoną w procentach (Tab.3, Rys. 1). Testowane izolaty mączniaka prawdziwego niemal całkowicie przełamały odporność warunkowana genami *Pm1*, *Pm3* i *Pm6*. Frekwencja wirulencji wobec tych genów wahała się w przedziale 78-100%. Izolaty mączniaka prawdziwego skolekcjonowane na terenie kraju zaczęły przełamywać odporność warunkowaną genem *Pm7*, jednakże frekwencja wirulencji wobec tego genu utrzymała się na bardzo niskim poziomie i nie przekroczyła 10%. Żaden z testowanych izolatów mączniaka prawdziwego nie przełamał odporności warunkowanej genami *Pm2*, *Pm4* i *Pm5*.

Tabela 3. Frekwencja wirulencji izolatów mączniaka prawdziwego skolekcjonowanych na terenie Polski w latach 2010-2015

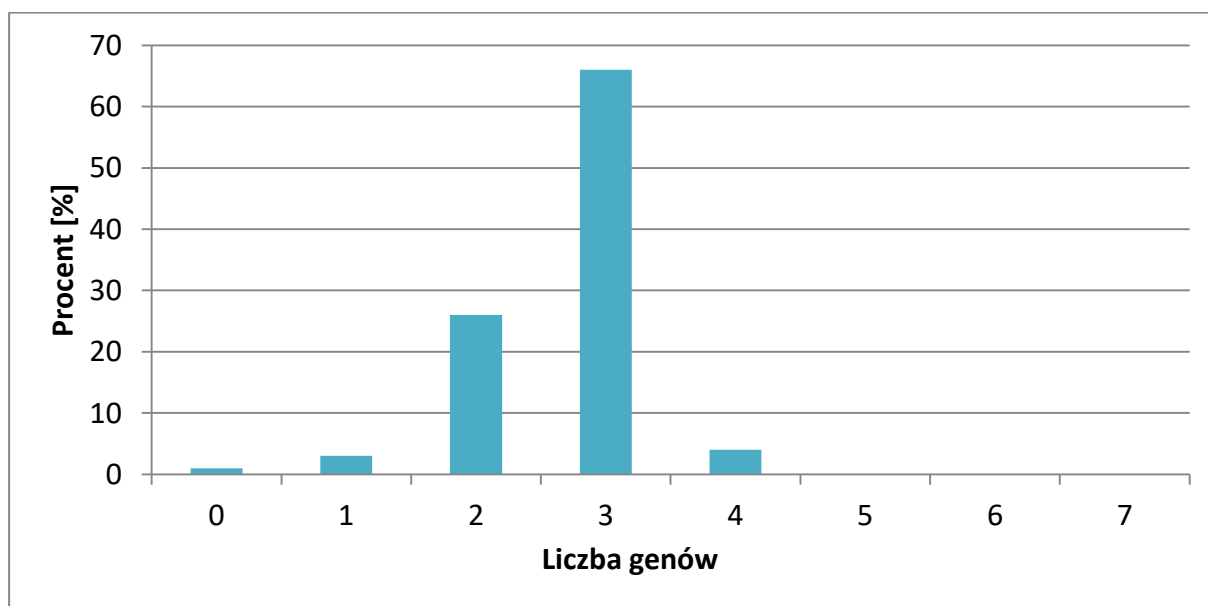
Rok	Geny odporności						
	<i>Pm1</i>	<i>Pm2</i>	<i>Pm3</i>	<i>Pm4</i>	<i>Pm5</i>	<i>Pm6</i>	<i>Pm7</i>
2010	100	0	100	0	0	100	5
2011	95	0	95	0	0	80	5
2012	90	0	90	0	0	90	5
2013	85	0	95	0	0	85	0
2014	78	0	87	0	0	90	7
2015	93	0	88	0	0	95	3



Rysunek 1. Graficzne przedstawienie wirulencji mączniaka prawdziwego w latach 2010-2015.

Kolejnym parametrem pozwalającym na charakterystykę populacji patogena jest kompleksowość. Parametr ten określa liczbę odmian (oś X), które zostały porażone przez dany procent izolatów (oś Y) z uwzględnieniem poszczególnych lat (Rys. 2.).

Analizowane w prezentowanej pracy izolaty mączniaka prawdziwego najczęściej przełamywały odporność 3 spośród 7 genów odporności wykorzystanych w testach żywiciel-patogen, były to geny *Pm1*, *Pm3* i *Pm6*. Żaden z testowanych izolatów mączniaka prawdziwego nie był w stanie przełamać odporności jednocześnie zestawu 5, 6 lub 7 analizowanych genów odporności (Rys.2.).



Rysunek 2. Kompleksowość wirulencji mączniaka prawdziwego w latach 2010-2015.

200 izolatów mączniaka prawdziwego uzyskanych z różnych lokalizacji na terenie Polski w latach 2010-2015 przetestowano na zestawie 7 odmian i linii kontrolnych z różnymi genami odporności na mączniaka prawdziwego. Na podstawie modelu porażenia poszczególnych linii kontrolnych przez badane izolaty mączniaka prawdziwego określono patotypy tych izolatów za pomocą kodu opracowanego przez Glimour (Tab. 4.). Najczęściej występującym patotypem był patotyp 70, który reprezentowany był przez ok. 65,5 % analizowanych izolatów mączniaka prawdziwego. W latach 2010, 2011 i 2012 zidentyfikowano po 5 patotypów, w 2013 już 6, a w 2014 i 2015 odpowiednio 9 i 6 patotypów mączniaka prawdziwego (Tab. 5.). Zróżnicowanie patotypów było bardzo niskie ze względu na niewielką ilość analizowanych form kontrolnych oraz ze względu na fakt, że niemal wszystkie izolaty były wirulentne wobec genów *Pm1*, *Pm3* i *Pm6*.

Tabela 4. Klasyfikacja patotypów wg. Glimour

Odrębny patotyp	Liczebność	Frekwencja [%]
0	2	1
10	1	0,5
20	2	1
30	19	9,5
40	3	1,5
42	1	0,5
50	21	10,5
52	1	0,5
60	11	5,5
70	131	65,5
72	8	4

Tabela 5. Różnorodność patotypów mączniaka prawdziwego

Parametr	2010	2011	2012	2013	2014	2015
Ilość izolatów	10	10	10	20	90	60
Liczba różnych patotypów	5	5	5	6	9	6
Patotypy z oceną >1	1	1	1	2	5	5
Diversity: Simple	0,50	0,50	0,50	0,30	0,10	0,10
Diversity: Gleason	1,74	1,74	1,74	1,67	1,78	1,22
Diversity: Shannon	1,23	1,23	1,23	1,08	1,42	0,88

Mierniki dla tematu badawczego 1 (podać w tabeli)

Lp.	Miernik ²	Wartość miernika podana w opisie zadania	Wartość miernika zrealizowana
1	Liczba lokalizacji, w których przeprowadzono obserwacje porażenia mączniakiem prawdziwym zestawu 7 linii i odmian kontrolnych	4	4
2	Liczba izolatów użytych do analizy zmienności populacji mączniaka prawdziwego	200	200

² Podać miernik – np. ilość testów, prób, badanych genotypów etc.

3.2. Temat badawczy 2: Ocena segregacji genów odporności w populacjach F₂ oraz analiza rozszczepień w pokoleniu F₃ z wykorzystaniem testów żywiciel-patogen

Cel tematu badawczego 2

Celem zadania 2 była ocena segregacji pod względem odporności na mączniaka prawdziwego populacji F₂ APR122 x Fuchs, APR122 x Sam, Av1860 x Fuchs i Av1860 x Sam oraz wybór homozygot dominujących i recesywnych na podstawie analizy populacji F₃.

Materiały i metody

Przedmiotem badań realizowanych w 2016 roku były populacje F₂ uzyskane w wyniku krzyżowania linii APR122 z genem *Pm7* oraz linii Av1860 z genem *Pm4* z odmianami Fuchs i Sam, wrażliwymi na mączniaka prawdziwego

Do testów żywiciel-patogen wybrano po 3 izolaty awirulentne dla genów *Pm4* i *Pm7*. Z każdej populacji F₂ wysiano pojedynczo do pojemników z ziemią ogrodniczą po 300 ziarniaków i umieszczono w fitotronie. Po 10 dniach fragmenty liści analizowanych form wyłożono na 12-sto dołkowe płytki wypełnione do połowy agarem z dodatkiem benzimidazolu (6g agaru na 1l wody i 35 mg/l benzimidazolu). Płytki z fragmentami liści poddano inokulacji zarodnikami poszczególnych izolatów mączniaka prawdziwego.

Po inokulacji szalki umieszczono w fitotronie w następujących warunkach: temperatura 18°C, wilgotność 80% i fotoperiod 16/8. Po 10 dniach od inokulacji oceniono stopień porażenia analizowanych genotypów przez wybrane izolaty mączniaka prawdziwego.

Do oceny porażenia zastosowano skalę 5-stopniową, w której 0 oznacza brak infekcji, brak widocznych objawów porażenia mączniakiem prawdziwym, 1 – ograniczony rozwój patogenu, widoczne pojedyncze i niewielkie kolonie, 2 – widoczna grzybnia z niewielką ilością zarodników zajmująca mniej niż 20% powierzchni liścia, 3 - grzybnia rozległa zajmująca 20% - 50% powierzchni liścia, 4 – obfita grzybnia zajmująca ponad 50% powierzchni liścia.

Na podstawie uzyskanych wyników oceniono segregację odporności na mączniaka prawdziwego w poszczególnych populacjach. W celu potwierdzenia zgodności otrzymanych w testach odporności rozszczepień w segregujących pokoleniach F₂ badanych populacji, w porównaniu z wartościami oczekiwanymi zastosowano test zgodności χ^2 .

Osobniki populacji F₂ analizowane w testach żywiciel-patogen wysadzono na poletka doświadczalne Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie zlokalizowane w Czesławicach koło Nałęczowa. Rośliny wysadzono co 10 cm na 1 metrowych poletkach w rozstawie rzędów 20 cm. Po zakończeniu okresu wegetacji z każdej rośliny F₂ zebrano ziarniaki F₃. Ziarniaki te wykorzystano do oceny homozygotyczności osobników pokolenia F₂ z wykorzystaniem testów żywiciel-patogen.

Wyniki

Populacje Av1860 x Fuchs i Av1860 x Sam testowano w oparciu o 3 izolaty awirulentne dla genu *Pm4*: Polanowice 2015(1)PK, Kopaszewo 2015(1) PK oraz Czesławice2015 (2). Do testów populacji APR122 x Fuchs i ARP122 x Sam wybrano 3 izolaty awirulentne dla genu *Pm7*: Choryń 2014, Strzelce 2015 (1), Czesławice 2014. Wyniki testów przedstawiono w Tabeli 6. Rośliny, których reakcja na patogen była oceniona jako 3 i 4 klasyfikowano jako wrażliwe, rośliny ocenione jako 0 klasyfikowano jako w pełni odporne, 1 i 2 klasyfikowano jak odpowiedź umiarkowaną i zaliczano te rośliny do odpornych.

W pokoleniu F₂ mieszańców Av1860 x Fuchs, Av1860 x Sam, APR122 x Fuchs, APR 122 x Sam uzyskano segregację roślin na odporne i podatne na porażenie przez wybrane izolaty mączniaka prawdziwego (Tab. 7, Rys. 3). Po weryfikacji otrzymanych wyników za pomocą testu χ^2 we wszystkich analizowanych populacjach stwierdzono proporcję rozszczepień pasującą do modelu 3 rośliny odporne: 1 roślina wrażliwa.

Tabela 6. Wyniki testów żywiciel-patogen przeprowadzone na populacjach F₂

roślina F ₂	Av1860 x Fuchs			Av1860 x Fuchs				APR122 x Fuchs			APR122 x Sam				
	izolaty mączniaka prawdziwego			roślina F ₂	Izolaty mączniaka prawdziwego			roślina F ₂	Izolaty mączniaka prawdziwego			roślina F ₂	Izolaty mączniaka prawdziwego		
	polanowice 2015(1)PK	KOPASZEW O 2015(1) PK	CZESŁAWI CE 2015 (2)		Polanowice 2015 (1) PL	Kopaszewo 2015 (1) PK	Czesławice 2015 (2)		Choryń 2014,	Strzelce 2015 (1),	Czesławice 2014		Choryń 2014,	Strzelce 2015 (1),	Czesławice 2014
1	4	4	4	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
2	4	4	4	2	1	1	2	2	2	2	2	2	0	0	0
3	4	4	4	3	1	2	2	3	0	0	0	3	2	2	2
4	4	4	4	4	1	1	1	4	2	1	1	4	2	1	1
5	2	2	2	5	1	1	1	5	1	2	1	5	2	2	1
6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0	6	0	0	0
7	0	0	0	7	2	2	2	7	2	2	2	7	2	2	2
8	2	1	1	8	1	1	2	8	1	2	2	8	0	0	0
9	0	0	0	9	2	1	2	9	0	0	0	9	2	1	1
10	2	2	2	10	1	1	1	10	2	2	2	10	4	4	4
11	0	0	0	11	2	2	2	11	2	1	1	11	2	1	1
12	2	2	2	12	4	4	4	12	1	2	2	12	1	2	1
13	4	4	4	13	1	1	1	13	0	0	0	13	0	0	0
14	0	0	0	14	4	4	4	14	2	2	1	14	4	4	4
15	1	1	1	15	4	4	4	15	2	2	2	15	2	2	2
16	0	0	0	16	4	4	4	16	4	4	4	16	4	4	4
17	0	0	0	17	4	4	4	17	0	0	0	17	0	0	0
18	2	2	0	18	2	2	1	18	0	0	0	18	0	0	0
19	4	4	4	19	1	1	1	19	4	4	4	19	4	4	4
20	0	0	0	20	4	4	4	20	4	4	4	20	4	4	4
21	0	0	0	21	4	4	4	21	1	1	2	21	1	1	2
22	4	4	4	22	1	1	1	22	1	2	2	22	1	2	2
23	4	4	4	23	0	0	0	23	3	3	4	23	3	3	4
24	1	1	2	24	0	0	0	24	1	1	1	24	2	2	2
25	1	1	1	25	0	0	0	25	4	4	4	25	4	4	4
26	1	1	2	26	1	1	1	26	4	4	4	26	4	4	4
27	1	1	1	27	0	0	0	27	1	1	1	27	1	1	1
28	0	0	0	28	1	1	1	28	1	2	2	28	4	4	4
29	2	2	2	29	2	2	2	29	1	1	2	29	1	1	2

30	2	2	2	30	4	4	4	30	4	3	4	30	4	3	4
31	0	0	0	31	2	2	1	31	4	4	4	31	4	4	4
32	2	2	2	32	0	0	0	32	3	4	4	32	3	4	4
33	4	4	4	33	0	0	0	33	2	2	2	33	2	2	2
34	0	0	0	34	0	0	0	34	1	1	2	34	1	1	2
35	2	2	2	35	0	0	0	35	3	4	4	35	3	4	4
36	2	1	1	36	1	1	1	36	0	0	0	36	0	0	0
37	1	1	1	37	4	4	4	37	0	0	0	37	0	0	0
38	1	1	1	38	4	4	4	38	2	2	2	38	2	2	2
39	0	0	0	39	4	4	4	39	2	2	2	39	0	0	0
40	2	2	2	40	4	4	4	40	2	1	1	40	2	2	2
41	2	2	2	41	2	2	2	41	1	1	1	41	1	1	1
42	2	2	2	42	0	0	0	42	2	2	2	42	2	2	2
43	1	1	1	43	0	0	0	43	2	1	1	43	4	4	4
44	1	1	1	44	1	1	2	44	4	4	4	44	4	4	4
45	4	4	4	45	0	0	0	45	1	1	2	45	4	4	4
46	1	1	1	46	2	2	2	46	0	0	0	46	0	0	0
47	4	4	4	47	0	0	0	47	2	2	2	47	0	0	0
48	4	4	4	48	2	2	2	48	2	1	1	48	2	1	1
49	2	2	2	49	4	4	4	49	0	0	0	49	0	0	0
50	2	2	2	50	0	0	0	50	0	0	0	50	0	0	0
51	4	4	4	51	1	1	1	51	4	4	4	51	4	4	4
52	4	4	4	52	0	0	0	52	2	2	2	52	2	2	2
53	2	2	2	53	0	0	0	53	2	2	2	53	2	2	2
54	0	0	0	54	0	2	2	54	2	2	1	54	2	2	1
55	0	0	0	55	4	4	4	55	0	0	0	55	0	0	0
56	0	0	0	56	0	0	0	56	0	0	0	56	0	0	0
57	2	2	2	57	0	0	0	57	0	0	0	57	0	0	0
58	0	0	0	58	4	4	4	58	4	3	3	58	2	2	2
59	2	2	2	59	4	4	4	59	2	2	2	59	2	2	2
60	2	2	2	60	2	1	1	60	4	4	4	60	4	4	4
61	4	4	4	61	1	1	1	61	0	0	0	61	0	0	0
62	2	2	2	62	2	1	1	62	0	0	0	62	0	0	0
63	0	0	0	63	1	1	1	63	0	0	0	63	0	0	0
64	0	0	0	64	0	0	0	64	2	2	2	64	2	2	2
65	0	0	0	65	2	2	2	65	0	0	0	65	0	0	0
66	0	0	0	66	2	2	2	66	0	0	0	66	0	0	0
67	2	2	2	67	0	0	0	67	0	3	3	67	0	0	0
68	2	2	2	68	2	2	2	68	4	4	4	68	4	4	4
69	1	1	1	69	4	4	4	69	0	0	0	69	0	0	0
70	0	0	0	70	0	0	0	70	0	0	0	70	0	0	0
71	4	4	4	71	2	2	2	71	0	0	0	71	0	0	0
72	1	1	1	72	1	1	2	72	2	0	0	72	2	0	0
73	4	4	4	73	1	1	1	73	1	1	1	73	1	1	1
74	2	2	2	74	1	1	1	74	1	1	0	74	1	1	0
75	0	0	0	75	0	0	0	75	2	2	2	75	2	2	2
76	4	4	4	76	2	2	2	76	0	0	0	76	0	0	0
77	2	4	4	77	2	2	2	77	2	2	2	77	2	2	2
78	2	2	2	78	2	2	2	78	1	1	1	78	1	1	1
79	1	1	1	79	1	1	1	79	2	2	1	79	2	2	1
80	1	1	1	80	1	1	1	80	1	1	1	80	1	1	1
81	3	4	4	81	4	4	4	81	4	4	4	81	4	4	4
82	0	0	0	82	1	1	1	82	0	0	0	82	0	0	0
83	2	2	2	83	4	4	4	83	2	2	2	83	4	4	4
84	2	2	2	84	4	4	4	84	2	2	2	84	2	2	2
85	0	0	0	85	2	2	2	85	0	0	0	85	0	0	0
86	4	4	4	86	2	2	2	86	1	1	1	86	1	1	1
87	0	0	0	87	4	4	4	87	2	2	2	87	2	2	2
88	0	0	0	88	4	4	4	88	0	0	0	88	0	0	0
89	2	2	2	89	2	2	2	89	4	4	4	89	4	4	4
90	4	4	4	90	0	0	0	90	0	0	0	90	4	4	4
91	2	2	2	91	0	0	0	91	4	4	4	91	0	0	0
92	1	1	1	92	0	0	0	92	4	4	4	92	4	4	4
93	1	1	1	93	2	2	2	93	2	2	2	93	4	4	4
94	0	0	0	94	0	0	0	94	2	2	2	94	2	2	2
95	1	1	1	95	2	2	2	95	0	0	0	95	0	0	0
96	1	1	1	96	2	2	2	96	1	1	1	96	1	1	1
97	0	1	1	97	4	4	4	97	0	0	0	97	0	0	0
98	0	1	1	98	2	2	2	98	2	2	2	98	2	2	2
99	0	1	1	99	0	0	0	99	4	4	4	99	4	4	4
100	1	1	1	100	0	0	0	100	2	2	2	100	2	2	2
101	4	4	4	101	0	0	0	101	0	0	0	101	0	0	0
102	3	4	4	102	0	0	0	102	2	2	2	102	2	2	2
103	0	0	0	103	2	2	2	103	0	1	1	103	0	1	1
104	0	0	0	104	2	2	2	104	1	0	1	104	2	2	2
105	0	0	0	105	1	1	1	105	1	2	2	105	1	2	2
106	2	2	2	106	0	0	0	106	2	2	1	106	1	0	1

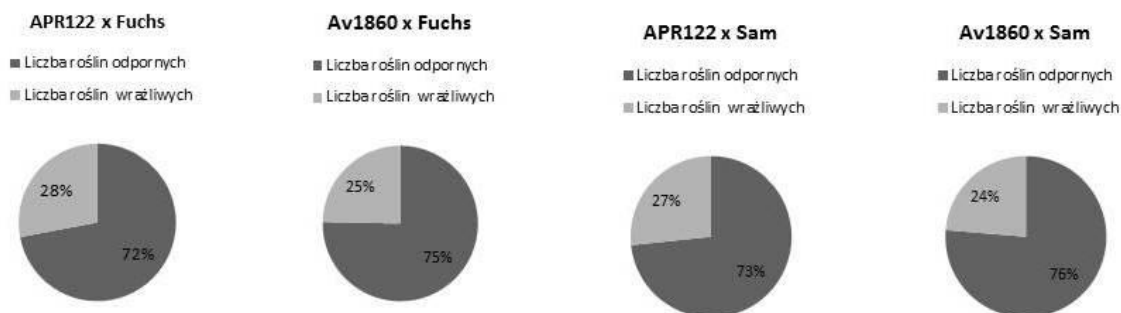
107	0	2	1	107	4	4	4	107	2	2	2	107	2	2	2
108	0	0	0	108	1	1	1	108	4	4	4	108	4	4	4
109	3	4	4	109	4	4	4	109	4	4	2	109	4	4	2
110	0	0	0	110	2	2	2	110	1	1	1	110	4	4	4
111	0	0	0	111	0	0	0	111	4	4	4	111	4	4	4
112	2	2	2	112	4	4	4	112	2	2	2	112	2	2	2
113	3	4	4	113	4	4	2	113	0	0	0	113	4	4	4
114	4	4	4	114	2	2	2	114	3	3	4	114	3	4	4
115	0	0	0	115	1	1	1	115	3	4	3	115	2	2	2
116	2	2	1	116	1	1	1	116	4	4	4	116	4	4	4
117	0	4	4	117	4	4	3	117	3	4	3	117	2	1	1
118	2	1	2	118	0	0	0	118	0	0	0	118	0	0	0
119	0	0	0	119	2	2	2	119	4	4	4	119	0	0	0
120	0	1	0	120	2	2	2	120	2	2	2	120	2	2	2
121	2	2	2	121	0	0	0	121	0	0	0	121	0	0	0
122	4	3	4	122	0	0	0	122	1	1	2	122	1	1	2
123	1	1	2	123	1	1	2	123	2	2	2	123	2	2	2
124	4	3	4	124	1	2	2	124	1	1	1	124	1	1	1
125	4	3	4	125	1	1	1	125	4	4	4	125	4	4	4
126	0	0	0	126	1	1	1	126	4	4	4	126	4	4	4
127	4	3	4	127	0	0	0	127	4	4	4	127	4	4	4
128	4	3	4	128	2	2	2	128	0	0	0	128	0	0	0
129	2	2	2	129	1	1	2	129	0	0	0	129	0	0	0
130	0	0	0	130	2	1	2	130	1	1	2	130	1	1	2
131	0	0	0	131	1	1	1	131	0	0	0	131	0	0	0
132	1	0	1	132	2	2	2	132	0	0	0	132	0	0	0
133	0	0	0	133	4	4	4	133	4	4	4	133	4	4	4
134	0	0	0	134	1	1	1	134	2	2	1	134	2	2	1
135	4	4	4	135	4	4	4	135	1	1	1	135	1	1	1
136	2	2	2	136	4	4	4	136	1	1	1	136	1	1	1
137	4	4	4	137	4	4	4	137	0	0	0	137	0	0	0
138	0	0	0	138	4	4	4	138	0	0	0	138	0	0	0
139	1	1	1	139	2	2	1	139	2	2	2	139	0	0	2
140	2	2	2	140	1	1	1	140	4	3	2	140	4	3	2
141	2	2	2	141	4	4	4	141	2	2	2	141	2	2	2
142	2	2	2	142	4	4	4	142	4	4	4	142	4	4	4
143	0	1	1	143	1	1	1	143	0	0	0	143	0	0	0
144	0	1	2	144	0	0	0	144	2	2	2	144	0	0	0
145	2	2	2	145	0	0	0	145	0	0	0	145	0	0	1
146	4	4	4	146	0	0	0	146	2	2	2	146	2	2	2
147	0	0	0	147	1	1	1	147	0	0	0	147	0	0	0
148	1	1	1	148	0	0	0	148	0	0	0	148	0	0	0
149	0	0	0	149	1	1	1	149	0	1	1	149	0	1	1
150	3	4	4	150	2	2	2	150	4	4	4	150	4	4	4
151	2	2	2	151	4	4	4	151	2	0	0	151	2	0	0
152	1	2	1	152	2	2	1	152	0	0	0	152	0	0	0
153	2	2	2	153	0	0	0	153	0	0	0	153	0	0	0
154	3	4	4	154	0	0	0	154	1	0	0	154	1	0	0
155	3	4	4	155	0	0	0	155	2	2	2	155	2	2	2
156	0	1	1	156	0	0	0	156	1	1	0	156	1	1	0
157	2	2	2	157	1	1	1	157	2	1	1	157	2	1	1
158	0	0	0	158	4	4	4	158	0	0	0	158	0	0	0
159	2	1	2	159	4	4	4	159	1	1	1	159	1	1	1
160	2	2	2	160	4	4	4	160	1	1	2	160	1	1	2
161	4	4	4	161	4	4	4	161	1	1	1	161	1	1	1
162	4	4	4	162	2	2	2	162	1	1	1	162	1	1	1
163	1	1	1	163	0	0	0	163	4	4	4	163	4	4	4
164	4	4	4	164	0	0	0	164	0	0	0	164	0	0	0
165	0	0	0	165	1	1	2	165	4	4	4	165	4	4	4
166	2	2	2	166	0	0	0	166	2	2	2	166	2	2	2
167	1	2	1	167	2	2	2	167	0	0	0	167	0	0	0
168	2	2	2	168	0	0	0	168	1	1	1	168	1	1	1
169	4	4	4	169	2	2	2	169	2	2	2	169	2	2	2
170	2	2	2	170	4	4	4	170	0	0	0	170	0	0	0
171	4	4	4	171	0	0	0	171	4	4	4	171	4	4	4
172	1	1	1	172	1	1	1	172	4	4	4	172	4	4	4
173	2	2	2	173	0	0	0	173	0	0	0	173	0	0	0
174	1	1	1	174	0	0	0	174	4	4	4	174	4	4	4
175	2	1	2	175	0	2	2	175	4	4	4	175	4	4	4
176	4	4	4	176	4	4	4	176	1	1	1	176	1	1	1
177	1	1	1	177	0	0	0	177	0	0	0	177	0	0	0
178	4	4	4	178	0	0	0	178	1	1	1	178	1	1	1
179	2	2	2	179	4	4	4	179	0	0	0	179	0	0	0
180	4	4	4	180	4	4	4	180	1	1	1	180	1	1	1
181	4	4	4	181	2	1	1	181	4	4	4	181	4	4	4
182	4	4	4	182	1	1	1	182	2	2	2	182	2	2	2
183	0	0	0	183	2	1	1	183	0	0	0	183	0	0	0

184	0	0	0	184	1	1	1	184	1	1	1	184	1	1	1
185	2	2	2	185	0	0	0	185	0	0	1	185	0	0	1
186	4	4	4	186	2	2	2	186	2	2	2	186	2	2	2
187	4	4	4	187	2	2	2	187	2	2	2	187	2	2	2
188	1	1	1	188	0	0	0	188	2	0	1	188	2	0	1
189	2	1	2	189	2	2	2	189	1	1	1	189	1	1	1
190	1	2	2	190	4	4	4	190	4	4	4	190	4	4	4
191	2	2	2	191	0	0	0	191	4	4	3	191	2	1	1
192	2	2	2	192	2	2	2	192	4	4	4	192	4	4	4
193	2	2	2	193	1	1	2	193	4	4	4	193	4	4	4
194	2	2	1	194	1	1	1	194	2	2	2	194	2	2	2
195	4	4	4	195	1	1	1	195	4	4	4	195	4	4	4
196	4	4	4	196	0	0	0	196	0	0	0	196	0	0	0
197	2	2	2	197	2	2	2	197	2	1	1	197	2	1	1
198	1	1	1	198	2	2	2	198	0	0	0	198	0	0	0
199	1	1	1	199	2	2	2	199	2	2	1	199	2	2	1
200	0	0	0	200	1	1	1	200	4	4	4	200	4	4	4
201	4	4	4	201	1	1	1	201	2	2	2	201	2	2	2
202	2	2	2	202	4	4	4	202	0	0	0	202	0	0	0
203	1	1	1	203	1	1	1	203	1	1	1	203	1	1	1
204	2	2	2	204	4	4	4	204	0	1	1	204	0	1	1
205	4	4	4	205	4	4	4	205	2	2	2	205	2	2	2
206	0	0	0	206	2	2	2	206	2	2	2	206	2	2	2
207	4	4	4	207	2	2	2	207	2	0	1	207	2	0	1
208	0	0	0	208	4	4	4	208	2	2	2	208	2	2	2
209	1	1	1	209	4	4	4	209	4	4	4	209	4	4	4
210	0	0	0	210	2	2	2	210	4	4	3	210	1	1	1
211	1	1	1	211	0	0	0	211	4	4	4	211	4	4	4
212	2	1	1	212	0	0	0	212	4	4	4	212	4	4	4
213	2	1	1	213	0	0	0	213	2	2	2	213	2	2	2
214	2	1	2	214	2	2	2	214	4	4	4	214	4	4	4
215	2	2	1	215	0	0	0	215	3	4	4	215	3	4	4
216	0	0	0	216	2	2	2	216	2	4	3	216	1	0	1
217	0	0	0	217	2	2	2	217	4	4	3	217	1	1	1
218	0	0	0	218	4	4	4	218	3	4	3	218	1	2	2
219	1	1	1	219	2	2	2	219	0	0	0	219	0	0	0
220	4	4	4	220	0	0	0	220	0	0	0	220	0	0	0
221	2	1	1	221	0	0	0	221	1	1	2	221	1	1	2
222	1	1	1	222	0	0	0	222	0	0	0	222	0	0	0
223	4	4	4	223	0	0	0	223	2	2	2	223	2	2	2
224	1	1	1	224	2	2	2	224	1	1	1	224	1	1	1
225	0	0	0	225	2	2	2	225	2	2	2	225	2	2	2
226	1	1	1	226	1	1	1	226	4	4	4	226	4	4	4
227	4	4	4	227	0	0	0	227	4	4	4	227	4	4	4
228	2	2	2	228	4	4	4	228	4	4	4	228	4	4	4
229	1	1	1	229	1	1	1	229	0	0	0	229	0	0	0
230	0	0	0	230	4	4	4	230	0	0	0	230	0	0	0
231	2	2	2	231	2	2	2	231	0	0	0	231	0	0	0
232	1	1	1	232	0	0	0	232	2	2	2	232	2	2	2
233	4	4	4	233	4	4	4	233	0	0	0	233	0	0	0
234	1	1	1	234	4	4	2	234	2	1	1	234	2	1	1
235	4	4	4	235	2	2	2	235	4	4	4	235	4	4	4
236	1	1	1	236	1	1	1	236	2	1	1	236	2	1	1
237	0	0	0	237	1	1	1	237	0	0	0	237	0	0	0
238	0	0	0	238	4	4	3	238	2	2	2	238	2	2	2
239	2	2	2	239	0	0	0	239	0	1	1	239	0	1	1
240	0	0	0	240	2	2	2	240	2	2	2	240	2	2	2
241	1	1	1	241	2	2	2	241	2	1	2	241	2	1	2
242	0	0	0	242	0	0	0	242	1	0	1	242	1	0	1
243	1	1	1	243	4	4	4	243	2	2	2	243	2	2	2
244	4	4	4	244	1	1	1	244	4	4	4	244	4	4	4
245	0	0	0	245	4	4	4	245	4	4	3	245	4	4	4
246	1	1	1	246	4	4	4	246	4	4	4	246	4	4	4
247	0	0	0	247	4	4	4	247	4	4	4	247	2	2	2
248	0	0	0	248	4	4	4	248	2	2	2	248	4	4	4
249	1	1	1	249	2	2	1	249	4	4	4	249	3	4	4
250	4	4	4	250	1	1	1	250	3	4	4	250	1	2	2
251	0	0	0	251	4	4	4	251	2	3	2	251	1	1	1
252	0	0	0	252	4	4	4	252	3	4	3	252	3	4	3
253	4	4	4	253	1	1	1	253	2	4	3	253	0	0	0
254	4	4	4	254	0	0	0	254	0	0	0	254	0	0	0
255	2	2	2	255	0	0	0	255	0	0	0	255	1	1	2
256	1	1	1	256	0	0	0	256	2	2	2	256	0	0	0
257	1	2	1	257	1	1	1	257	0	0	0	257	0	0	0
258	1	1	1	258	0	0	0	258	1	1	1	258	1	1	1
259	0	0	0	259	1	1	1	259	1	2	1	259	1	2	1
260	1	1	1	260	2	2	2	260	2	2	2	260	2	2	2

261	1	1	1	261	4	4	4	261	4	4	4	261	4	4	4
262	0	0	0	262	2	2	1	262	4	4	4	262	4	4	4
263	1	1	1	263	0	0	0	263	4	4	4	263	4	4	4
264	4	4	4	264	0	0	0	264	0	0	0	264	0	0	0
265	0	0	0	265	0	0	0	265	0	0	0	265	0	0	0
266	2	1	1	266	0	0	0	266	0	0	0	266	0	0	0
267	2	2	1	267	1	1	1	267	2	2	2	267	2	2	2
268	1	1	1	268	4	4	4	268	0	0	0	268	0	0	0
269	1	1	1	269	4	4	4	269	2	2	2	269	2	2	2
270	0	0	0	270	4	4	4	270	4	4	4	270	4	4	4
271	2	2	2	271	4	4	4	271	1	1	1	271	1	1	1
272	2	1	1	272	2	2	2	272	0	0	0	272	0	0	0
273	2	1	2	273	0	0	0	273	2	2	2	273	2	2	2
274	1	1	1	274	0	0	0	274	0	1	1	274	0	1	1
275	2	2	2	275	1	1	2	275	2	2	2	275	2	2	2
276	4	4	4	276	0	0	0	276	1	1	1	276	1	1	1
277	1	1	1	277	2	2	2	277	1	0	1	277	1	0	1
278	4	4	4	278	0	0	0	278	2	2	2	278	4	4	3
279	4	4	4	279	2	2	2	279	4	4	4	279	2	4	4
280	4	4	4	280	4	4	4	280	4	4	3	280	0	0	0
281	4	4	4	281	0	0	0	281	4	4	4	281	0	0	0
282	1	2	2	282	1	1	1	282	4	4	4	282	2	2	2
283	1	1	1	283	0	0	0	283	2	2	2	283	2	2	2
284	4	4	4	284	0	0	0	284	4	4	4	284	4	4	4
285	4	4	4	285	0	2	2	285	2	4	4	285	4	4	3
286	1	1	1	286	4	4	4	286	3	4	3	286	4	4	4
287	0	0	0	287	0	0	0	287	4	4	3	287	4	4	4
288	0	0	0	288	0	0	0	288	2	4	4	288	2	2	2
289	0	0	0	289	4	4	4	289	0	0	0	289	4	4	4
290	1	1	1	290	4	4	4	290	0	0	0	290	2	4	4
291	0	0	0	291	2	1	1	291	2	2	2	291	3	4	3
292	1	1	1	292	1	1	1	292	0	0	0	292	4	4	3
293	2	2	2	293	2	1	1	293	1	1	1	293	2	4	4
294	4	4	4	294	1	1	1	294	2	1	1	294	0	0	0
295	1	2	2	295	0	0	0	295	1	1	2	295	0	0	0
296	0	0	0	296	2	2	2	296	4	4	4	296	2	2	2
297	0	0	0	297	2	2	2	297	4	4	4	297	0	0	0
298	0	0	0	298	0	0	0	298	4	4	4	298	1	1	1
299	0	0	0	299	2	2	2	299	0	0	0	299	2	1	1
300	1	1	1	300	4	4	4	300	0	0	0	300	1	1	2

Tabela 7. Segregacja mieszańców pokolenia F₂ pod względem odporności na mączniaka prawdziwego

Mieszańce	Liczba testowanych roślin	Liczba roślin odpornych	Liczba roślin wrażliwych	Oczekiwane rozszczenie	Wartość χ^2
Av1860 x Fuchs	300	226	74	3:1	0,017
Av1860 x Sam	300	229	71	3:1	0,284
APR122 x Fuchs	300	216	84	3:1	1,44
APR122 x Sam	300	220	80	3:1	0,64



Rysunek 3. Segregacja mieszańców pokolenia F₂ analizowanych populacji pod względem odporności na mączniaka prawdziwego

Z analizowanych populacji zebrano ziarniaki F₃ z każdej rośliny oddzielnie i wysiano w celu oceny homozygotyczności roślin F₂. Ocenę homozygotyczności przeprowadzono w oparciu o testy żywiciel-patogen z wykorzystaniem izolatów awirulentnych dla genów *Pm4* i *Pm7*. Na podstawie przeprowadzonych testów wyselekcjonowano osobniki homozygotyczne i heterozygotyczne w analizowanych populacjach (Tab. 8).

Tabela 8. Rozkład osobników homozygotycznych i heterozygotycznych w analizowanych populacjach

Populacja	Liczebność populacji	Liczba homozygot odpornych	Liczba homozygot wrażliwych	Liczba heterozygot
AV1860 x Fuchs	300	87	74	139
Av1860 x Sam	272	73	65	134
APR122 x Fuchs	280	71	75	134
APR122 x Sam	278	78	69	131

Mierniki dla tematu badawczego 2 (podać w tabeli)

Lp.	Miernik ³	Wartość miernika podana w opisie zadania	Wartość miernika zrealizowana
1	Liczba przetestowanych populacji F ₂ (300 osobników z każdej populacji)	4	4
2	Liczba izolatów mączniaka prawdziwego wybranych do oceny każdej z analizowanych populacji F ₂	3	3

3.3. Temat badawczy 3: Piramidyzacja i wprowadzanie do genomu owsa efektywnych genów odporności przeciwko mączniakowi prawdziwemu na drodze krzyżowania roślin

Cel tematu badawczego 3

Celem zadania 3 była ocena poziomu odporności odmian owsa zwyczajnego wpisanych do krajowego rejestru odmian uprawnych oraz uzyskanie na drodze krzyżowania roślin, mieszańców odmian owsa zwyczajnego z liniami zawierającymi efektywne geny odporności na mączniaka prawdziwego jak również piramidyzacja efektywnych genów odporności w genomie owsa.

Materiały i metody

Pierwszy etap prac w zadaniu 3 obejmował ocenę poziomu odporności polskich odmian owsa zwyczajnego na mączniaka prawdziwego za pomocą testów żywiciel-patogen. Przedmiotem badań było 30 polskich odmian owsa zwyczajnego znajdujące się aktualnie na liście odmian uprawnych COBORU (Tab.9.)

³ Podać miernik – np. ilość testów, prób, badanych genotypów etc.

Tabela 9. Charakterystyka analizowanych odmian owsa zwyczajnego

Lp	Odmiana	Hodowca	Odporność polowa na mączniaka prawdziwego (wg. 9 ^o skali)
1	Arab	DANKO HR	7,5
2	Arden	DANKO HR	7,8
3	Arkan	DANKO HR	8,0
4	Berdysz	DANKO HR	7,7
5	Bingo	Hodowla Roślin Strzelce	7,7
6	Borowiak	Małopolska Hodowla Roślin	-
7	Breton	DANKO HR	7,5
8	Celer	Małopolska Hodowla Roślin	7,7
9	Chwat	Hodowla Roślin Strzelce	7,7
10	Deresz	DANKO HR	7,5
11	Elegant	Hodowla Roślin Strzelce	8,4
12	Furman	DANKO HR	7,7
13	Gniady	DANKO HR	7,8
14	Grajcar	Małopolska Hodowla Roślin	-
15	Haker	Hodowla Roślin Strzelce	8,0
16	Harnaś	Małopolska Hodowla Roślin	7,7
17	Kasztan	Małopolska Hodowla Roślin	-
18	Komfort	Hodowla Roślin Strzelce	7,9
19	Koneser	Hodowla Roślin Strzelce	7,8
20	Krezus	Hodowla Roślin Strzelce	7,6
21	Maczo	Hodowla Roślin Strzelce	8,0
22	Nawigator	Hodowla Roślin Strzelce	8,1
23	Paskal	Hodowla Roślin Strzelce	8,1
24	Polar	Hodowla Roślin Strzelce	8,0
25	Rajtar	DANKO HR	7,9
26	Romulus	DANKO HR	-
27	Siwek	Małopolska Hodowla Roślin	8,1
28	Sławko	Hodowla Roślin Strzelce	7,6
29	Szakał	Hodowla Roślin Strzelce	7,6
30	Zuch	DANKO HR	7,2

Ocena oparta na podstawie porejestrowych doświadczeń odmianowych prowadzonych przez COBORU[<http://www.coboru.pl/DR/charaktodmiany.aspx>]: 9 odmiana całkowicie odporna, 0 – odmiana wrażliwa

Testy żywiciel-patogen wykonano na pierwszych liściach 10-dniowych siewek. Fragmenty liści wykładano na 12 dołkowe płytki wypełnione do połowy agarą z dodatkiem benzimidazolu (6 g agaru na 1 l wody oraz 35 mg·l⁻¹ benzimidazolu). Do pierwszego i ostatniego dołka każdej płytki wykładano formy kontrolne w kolejności: Fuchs - odmiana podatna na porażenie mączniakiem, odmiana Jumbo z genem *Pm1*, Mostyn z genem *Pm3*, linia Av1860 z genem *Pm4*, odmiana Bruno z genem *Pm6* i linia APR122 z genem *Pm7*. Płytki z fragmentami liści inokulowano w wieży inokulacyjnej, umieszczając ok. 500-700

zarodników mączniaka prawdziwego na 1 cm². Następnie szalki umieszczano w fitotronie, w temperaturze ok. 17°C przy natężeniu światła ok. 4 kLx.

Po dziesięciu dniach od inokulacji izolatami mączniaka prawdziwego określono porażenie liści w skali 5° (gdzie 0 oznacza brak porażenia, a 4 porażenie w którym grzybnia zajmuje powyżej 50% powierzchni liścia). Wyróżniono trzy klasy reakcji na zastosowane izolaty. Odporna – gdy infekcja względem odmiany podatnej wynosiła 0-20%, pośrednia – jeśli infekcja względem odmiany podatnej wynosiła ok. 20-50% i wrażliwa – gdy stopień infekcji był powyżej 50%.

Testy żywiciel-patogen prowadzono w oparciu o 10 izolatów mączniaka prawdziwego charakteryzujących się różnym wzorem porażenia zestawu linii i odmian kontrolnych oraz charakteryzujących się zróżnicowanym pochodzeniem.

Drugi etap badań w ramach zadania 3 obejmował krzyżowanie wrażliwych na porażenie mączniakiem prawdziwym odmian owsa zwyczajnego z liniami zawierającymi efektywne geny odporności. Jako formy mateczne wykorzystano 20 odmian owsa zwyczajnego zidentyfikowanych jako wrażliwe na porażenie przez mączniaka prawdziwego oraz linie hodowlane pozyskane ze spółek hodowli roślin. Jako formy ojcowskie wykorzystano linie owsa zawierające zdefiniowane geny odporności na mączniaka prawdziwego.

Genotypy przeznaczone do krzyżowań wysiano na poletkach doświadczalnych Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie zlokalizowanych w Czesławicach koło Nałęczowa (Tab. 10). Na kilka dni przed kwitnieniem w kłoskach wiech matecznych z pierwszego kwiatu usunięto pylniki, natomiast pozostałe kwiaty wycięto. Na wiechy założono izolatory z folii celulozowej, a po czterech dniach od kastrowania na znamiona słupka naniesiono pyłek z roślin ojcowskich.

We wszystkich krzyżowanych wiechach oceniono liczbę wykastrowanych kwiatów oraz zawiązanych ziarniaków. Na podstawie tych danych obliczono efektywność przeprowadzonych krzyżowań i zdolność kombinacyjną poszczególnych form wyrażoną w %.

Tabela 10. Genotypy owsa wysiane do krzyżowań w 2016 roku

Lp	Odmiany owsa zwyczajnego	Genotypy z Hodowli Roślin DANKO	Linie i odmiany ze zdefiniowanymi genami odporności na mączniaka prawdziwego
1	Arkan	D1	Jumbo
2	Arden	D2	Mostyn
3	Bingo	D3	Av1860
4	Berdysz	D4	Bruno
5	Borowiak	D5	APR122
6	Breton	D6	Canyon

7	Celer	D7	Fuchs
8	Chwat	D8	Sam
9	Elegant	D9	
10	Furman	D10	
11	Haker	D11	
12	Kasztan	D12	
13	Komfort	D13	
14	Koneser	D14	
15	Krezus	D15	
16	Nawigator	D16	
17	Paskal	D17	
18	Romulus	D18	
19	Siwek	D19	
20	Zuch		

Wyniki

Izolaty mączniaka prawdziwego pozyskano z populacji patogenu zebranych w różnych częściach kraju (Rys.4.). W warunkach laboratoryjnych z każdej lokalizacji wyprowadzono jednozarodnikowe izolaty, które wykorzystano do przeprowadzenia testów żywiciel-patogen na zestawie linii i odmian kontrolnych. Do analizy poziomu odporności polskich odmian owsa zwyczajnego na mączniaka prawdziwego wybrano 12 izolatów charakteryzujących się zróżnicowanym poziomem porażenia genotypów ze zdefiniowanymi genami odporności. Wyselekcjonowane izolaty mączniaka prawdziwego pozwoliły na identyfikację w badanym materiale genów *Pm1*, *Pm3*, *Pm4*, *Pm6* i *Pm7*.



Rysunek 4. Pochodzenie wybranych do testów żywiciel-patogen izolatów mączniaka prawdziwego.

Spośród testowanych 30 polskich odmian owsa zwyczajnego 22 wykazały całkowitą wrażliwość lub odpowiedź pośrednią na pojedyncze izolaty mączniaka prawdziwego zastosowane w doświadczeniu (Tab.11).

Tabela 11. Wzory porażenia odmian owsa zwyczajnego wykazujących wrażliwość lub umiarkowaną odporność na mączniaka prawdziwego.

Odmiana	Izolaty mączniaka prawdziwego											
	Kopaszewo 2015 (1) PK	Sępólno Krajeńskie 2014	Strzelece 2015 (2)	Choryń 2014 (4) PK	Nowosiółki 2015	Czesławice 2015 (2)	Czerwin 2015	Żalno 2015 PK2	Polanowice 2015 (3)	Białka 2014 (1)	Prusice 2015 PK	Zambrów 2014(1)
Arab	W	W	W	W	W	W	W	W	W	P	W	W
Arden	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W
Arkon	W	W	W	W	P	W	W	W	W	P	W	W
Berdysz	W	W	W	W	W	W	P	W	W	W	W	W
Bingo	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W
Borowiak	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W
Breton	P	W	W	W	W	W	W	P	W	W	W	W
Chwat	W	W	W	W	W	W	W	W	P	W	W	P
Elegant	P	W	W	W	W	W	W	W	P	P	W	W
Furman	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W	P	W
Grajcar	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W
Haker	W	W	W	W	P	W	W	W	W	P	W	W
Komfort	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W	P	W
Koneser	P	P	W	W	P	W	W	P	W	P	W	W
Krezus	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W
Paskal	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W
Polar	P	W	W	W	P	W	W	W	W	W	W	W
Romulus	P	W	P	W	P	P	W	W	W	P	W	W
Siwek	P	W	W	W	W	W	W	W	W	P	W	W
Sławko	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W
Szkal	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W
Zuch	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W

Odpowiedź roślin na atak patogenu
W - wrażliwa, P- pośrednia, O – odporna

Przeprowadzone testy pozwoliły na identyfikację obecności genów odporności w polskich odmianach owsa zwyczajnego. Porównanie profili porażenia linii i odmian kontrolnych z profilami porażenia analizowanych odmian pozwoliło na identyfikację genu *Pm6*

w odmianie Rajtar, genu *Pm1* w odmianie Gniady i genu *Pm3* w odmianie Deresz (Tab.12). Wzór porażenia odmiany Harnaś pozwala przypuszczać, iż odmiana ta posiada gen *Pm6* połączony z innym, niezidentyfikowanym genem lub genami odporności. Wzory porażenia uzyskane dla odmian Maczo, Nawigator, Kasztan i Celer nie pasowały do wzorów porażenia linii i odmian kontrolnych, można więc przypuszczać, że posiadają one kombinacje różnych genów odporności (Tab.12). Odmiany te były odporne na pojedyncze izolaty mączniaka prawdziwego. Odmiany Nawigator i Maczo odporne były na dwa izolaty pochodzące z zachodniej części kraju, Odmiana Kasztan, na izolaty pochodzące ze wschodniej części Polski. W żadnej z testowanych odmian owsa zwyczajnego nie zidentyfikowano genów *Pm4* i *Pm7*.

Tabela 12. Wzory porażenia odmian owsa zwyczajnego wykazujących odporność na mączniaka prawdziwego.

Odmiana	Izolaty mączniaka prawdziwego											Postulowane geny odporności na mączniaka prawdziwego	
	Kopaszewo 2015 (1) PK	Sępólno Krajeńskie 2014	Strzelce 2015 (2)	Choryń 2014 (4) PK	Nowosiółki 2015	Czesławice 2015 (2)	Czerwin 2015	Żalno 2015 PK2	Polanowice 2015 (3)	Białka 2014 (1)	Prusice 2015 PK		Zambrow 2014(1)
Celer	W	W	W	W	P	P	O	W	O	O	W	P	U
Deresz	W	W	O	W	W	W	W	P	W	P	W	P	Pm3
Gniady	P	W	W	W	W	P	P	W	W	O	W	W	Pm1
Harnaś	W	O	P	W	O	P	W	O	P	P	O	P	Pm6+U
Kasztan	W	P	W	P	W	W	O	P	W	O	W	P	U
Maczo	P	W	W	W	P	P	W	P	W	W	O	W	U
Nawigator	P	P	P	W	P	W	W	W	P	P	P	W	U
Rajtar	W	W	W	W	O	W	W	W	W	W	O	W	Pm6

Odpowiedź roślin na atak patogenu
W - wrażliwa, P- pośrednia, O – odporna

W ramach realizacji zadania wykonano krzyżowania roślin zgodnie z zaplanowanym schematem. W 2016 roku do krzyżowań przeznaczono 19 linii Hodowlanych pochodzących z Hodowli Roślin DANKO (Tab. 13), 20 odmian owsa zwyczajnego (Tab. 14), oraz 8 linii i odmian owsa stanowiących zestaw linii i odmian kontrolnych (Tab. 15). Łącznie wykastrowano 2129 kwiatków z form matecznych. Najwięcej wykastrowanych kwiatków przypadało dla odmiany Canyon oraz dla linii D7 najmniej dla odmian Furman, Romulus i Elegant oraz dla linii D15. Średnio na jedną odmianę mateczną przypadało 45,93 wykastrowanych kwiatków, na genotyp ojcowski zaś 263,63.

W 2016 roku wykonano 110 kombinacji krzyżówkowych. Ziarniaki mieszańcowe uzyskano dla 70 kombinacji. Łącznie w wyniku krzyżowań przeprowadzonych w 2016 roku

uzyskano 317 ziarniaków. Procent zawiązanych ziarniaków wahał się od 61% do 2%. Najwięcej ziarniaków otrzymano dla kombinacji krzyżówkowych wykonanych pomiędzy liniami z Hodowli Roślin DANKO a liniami z genami *Pm4* i *Pm7* (Tab. 13), najmniejszą liczbę ziarniaków uzyskano w wyniku krzyżowania odmian owsa zwyczajnego z liniami Av1860 i APR122 (Tab. 14). Najwięcej ziarniaków uzyskano w wyniku zapylenia pyłkiem pochodzącym z linii Av1860 (214 ziarniaków), najmniej zaś w wyniku zapylenia pyłkiem pochodzącym z odmiany Sam (3ziarniaki) średnio na jedną formę ojcowską przypadało 26,75 ziarniaka.

Rozpatrując formy mateczne, najwięcej ziarniaków uzyskano dla kombinacji z linią D11 (23 ziarniaki) oraz dla kombinacji z odmianą Canyon (17 ziarniaków), średnio na jedną odmianę mateczną wykorzystaną w krzyżowaniach przypadało 7,04 ziarniaka.

Tabela 13. Kombinacje krzyżówkowe wykonane pomiędzy liniami otrzymanymi z Hodowli Roślin DANKO a liniami AV1860 (*Pm4*) i APR122 (*Pm7*)

Matka	Ojciec	Liczba ziarniaków	% zawiązanych ziarniaków =
D1	Pm4	11	26%
	Pm7	0	0%
D2	Pm4	19	51%
	Pm7	1	3%
D3	Pm4	5	13%
	Pm7	3	11%
D4	Pm4	4	9%
	Pm7	2	7%
D5	Pm4	13	31%
	Pm7	0	0%
D6	Pm4	5	14%
	Pm7	0	0%
D7	Pm4	5	10%
	Pm7	1	3%
D8	Pm4	20	57%
	Pm7	0	0%
D9	Pm4	1	5%
	Pm7	2	8%
D10	Pm4	5	15%
	Pm7	1	4%
D11	Pm4	23	61%
	Pm7	0	0%
D12	Pm4	9	30%
	Pm7	1	3%
D13	Pm4	8	21%
	Pm7	2	7%
D14	Pm4	15	43%
	Pm7	4	11%
D15	Pm4	5	40%
	Pm7	0	0%
D16	Pm4	18	48%
	Pm7	4	13%
D17	Pm4	14	35%
	Pm7	5	20%
D18	Pm4	6	18%
	Pm7	1	2%

D19	Pm4	3	13%
	Pm7	0	0%

Tabela 14. Kombinacje krzyżówkowe wykonane pomiędzy odmianami owsa zwyczajnego a liniami AV1860 (Pm4) i APR122 (Pm7)

Matka	Ojciec	Liczba kwiatków	Liczba zisraniaków	% zawiązanych ziarniaków
Arden	Pm4	23	10	43%
Arden	Pm7	15	4	27%
Arkan	Pm4	19	9	47%
Arkan	Pm7	12	5	42%
Berdysz	Pm4	15	0	0%
Berdysz	Pm7	9	0	0%
Bingo	Pm4	15	0	0%
Bingo	Pm7	13	0	0%
Borowiak	Pm4	10	0	0%
Borowiak	Pm7	14	1	7%
Breton	Pm4	12	6	50%
Breton	Pm7	10	1	10%
Celer	Pm4	15	2	13%
Celer	Pm7	8	0	0%
Chwat	Pm4	12	0	0%
Chwat	Pm7	10	0	0%
Elegant	Pm4	7	1	14%
Elegant	Pm7	13	1	8%
Furman	Pm4	9	0	0%
Furman	Pm7	11	0	0%
Haker	Pm4	11	0	0%
Haker	Pm7	11	0	0%
Kasztan	Pm4	16	0	0%
Kasztan	Pm7	13	0	0%
Komfort	Pm4	13	0	0%
Komfort	Pm7	9	0	0%
Koneser	Pm4	11	0	0%
Koneser	Pm7	11	0	0%
Krezus	Pm4	12	0	0%
Krezus	Pm7	10	0	0%
Nawigator	Pm4	10	0	0%
Nawigator	Pm7	15	0	0%
Paskal	Pm4	15	0	0%
Paskal	Pm7	9	0	0%
Romulus	Pm4	9	3	33%
Romulus	Pm7	11	0	0%
Siwek	Pm4	13	0	0%
Siwek	Pm7	15	0	0%
Zuch	Pm4	9	0	0%
Zuch	Pm7	12	0	0%

Tabela 15. Kombinacje krzyżówkowe wykonane pomiędzy odmianami i liniami owsa stanowiącymi zestaw kontrolny.

Matka	Ojciec	Liczba kwiatków x 2,5	Liczba zisraniaków	% zawiązaných ziarniaków
Bruno	Canyon	12	3	25%
Bruno	Jumbo	10	3	30%
Bruno	Mostyn	10	1	10%
Bruno	Pm4	12	2	17%
Bruno	Pm7	15	2	13%
Canyon	Bruno	13	0	0%
Canyon	Fuchs	11	5	45%
Canyon	Jumbo	14	3	21%
Canyon	Mostyn	13	3	23%
Canyon	Pm4	15	1	7%
Canyon	Pm7	13	2	15%
Canyon	Sam	15	3	20%
Jumbo	Bruno	15	1	7%
Jumbo	Canyon	12	2	17%
Jumbo	Mostyn	12	1	8%
Jumbo	Pm4	13	2	15%
Jumbo	Pm7	15	3	20%
Mostyn	Bruno	13	2	15%
Mostyn	Canyon	12	3	25%
Mostyn	Jumbo	13	3	23%
Mostyn	Pm4	12	1	8%
Mostyn	Pm7	11	3	27%
Pm4	Bruno	12	2	17%
Pm4	Canyon	13	1	8%
Pm4	Jumbo	11	1	9%
Pm4	Mostyn	10	1	10%
Pm4	Pm7	9	1	11%
Pm7	Bruno	12	1	8%
Pm7	Canyon	15	0	0%
Pm7	Jumbo	14	1	7%
Pm7	Mostyn	12	2	17%
Pm7	Pm4	13	2	15%

Mierniki dla tematu badawczego 3

Lp.	Miernik ⁴	Wartość miernika podana w opisie zadania	Wartość miernika zrealizowana
1	Liczba przetestowanych odmian owsa zwyczajnego	30	30
2	Liczba izolatów mączniaka wykorzystanych do testów żywiciel-patogen	10	12*
3	Liczba wykonanych kombinacji krzyżówkowych	100	110**

* Wyższa wartość zrealizowanego miernika związana jest z wykonaniem testów na większej ilości izolatów z powodu możliwości utraty części wyników z przyczyn losowych (obumarcie liści, słaby rozwój patogenu podczas testu)

** wyższa wartość zrealizowanego miernika wynika z faktu iż ilość kombinacji wykonana była z 10% zapasem w razie utraty części z nich z przyczyn losowych- prace prowadzone były w warunkach eksperymentu polowego

4.4 Temat badawczy 4: Genotypowanie form rodzicielskich i mieszańców F₂ homozygotycznych pod względem odporności na mączniaka prawdziwego z wykorzystaniem technik RAPD, ISSR i SRAP

Cel tematu badawczego 4

Celem prac prowadzonych w ramach tematu 4 było poszukiwanie losowych markerów DNA różnicujących pule roślin odpornych i podatnych w populacji F₂. APR122 × Fuchs

Materialy i metody

Przedmiotem badań realizowanych w 2016 roku były homozygotyczne pod względem odporności na mączniaka prawdziwego osobniki populacji APR122 x Fuchs oraz formy rodzicielskie. Na podstawie testów żywiciel-patogen, z analizowanej populacji wybrano po 30 roślin homozygotycznych (odpornych i podatnych). Izolację DNA z badanych mieszańców oraz form rodzicielskich przeprowadzono z wykorzystaniem komercyjnego zestawu kolumnkowego. Do poszukiwania losowych markerów DNA dla genu *Pm7* wykorzystano metodę BSA (Bulk Segregant Analysis) (Michelmore i in. 1991). DNA wyizolowane z roślin odpornych i podatnych na porażenie mączniakiem prawdziwym połączono w pule zgodnie z założeniami metody BSA i wykorzystano do analiz PCR. W pierwszej kolejności do poszukiwania losowych fragmentów DNA różnicujących pule roślin odpornych i podatnych wykorzystano metodę RAPD. Przetestowano 200 starterów RAPD. Skład mieszaniny reakcyjnej o objętości 15µl był następujący: 1 x bufor do PCR (10 mM Tris pH 8.8, 50 mM KCl, 0.08% Nonidet P40), 160 µM każdego dNTP, 5,3 pM startera, 1mM MgCl₂, 60 ng

⁴ Podać miernik – np. ilość planowanych testów, prób, badanych genotypów etc.

genomowego DNA, 0.4 U *Taq* DNA Polymerase. Reakcje amplifikacji przeprowadzono na termocyklerze Thermalcycler T1 Biometra z zastosowaniem następującego profilu termicznego: wstępna denaturacja przez 3 min. w 94°C, 44 cykle: 94°C - 45 s, 37°C - 45 s, 72°C - 45 s, z końcową inkubacją 7 min. w 72°C. Produkty reakcji rozdzielano na 1,5% żelu agarozowym zawierającym bromek etydyny. Żele podświetlano na transiluminatorze i fotografowano z wykorzystaniem systemu dokumentacji żeli Poly Doc.

Wyniki

Na podstawie wyników testów żywiciel-patogen do analiz molekularnych wybrano 60 osobników homozygotycznych pod względem odporności na mączniaka prawdziwego. 30 osobników stanowiły homozygoty odporne na mączniaka prawdziwego, kolejne 30 homozygoty wrażliwe. Ponadto materiałem w analizach molekularnych były również formy rodzicielskie: Linia ARP122 z genem *Pm7* i odmiana Fuchs wrażliwa na mączniaka prawdziwego (Tab. 16)

Tabela 16. Genotypy populacji APR122 x Fuchs wybrane do analiz molekularnych

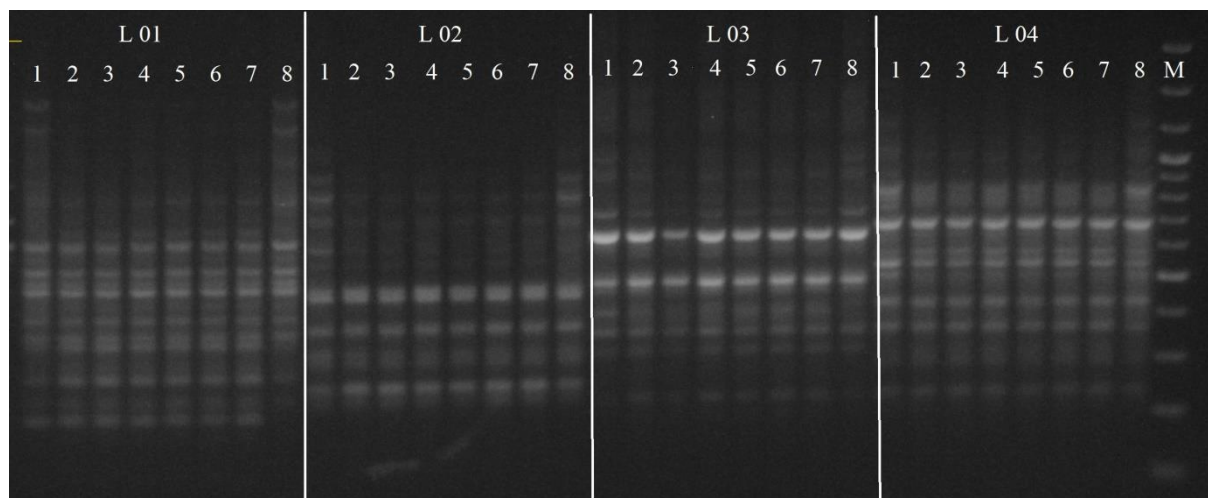
Lp	Genotypy odporne (Numer rośliny F ₂)	Fenotyp	Genotypy wrażliwe (Numer rośliny F ₂)	Fenotyp
1	1	O O O	10	W W W
2	2	O O O	14	W W W
3	6	O O O	19	W W W
4	9	O O O	20	W W W
5	17	O O O	25	W W W
6	18	O O O	26	W W W
7	36	O O O	28	W W W
8	37	O O O	31	W W W
9	39	O O O	43	W W W
10	46	O O O	44	W W W
11	47	O O O	45	W W W
12	49	O O O	51	W W W
13	50	O O O	60	W W W
14	55	O O O	68	W W W
15	56	O O O	81	W W W
16	61	O O O	83	W W W
17	62	O O O	89	W W W
18	65	O O O	90	W W W
19	66	O O O	92	W W W
20	70	O O O	93	W W W
21	71	O O O	99	W W W
22	76	O O O	108	W W W
23	82	O O O	110	W W W
24	85	O O O	111	W W W
25	88	O O O	116	W W W
26	91	O O O	119	W W W
27	95	O O O	125	W W W
28	97	O O O	126	W W W
29	101	O O O	127	W W W
30	113	O O O	133	W W W
31	APR122	O O O	Fuchs	W W W

W 2016 roku przeprowadzono reakcje z 200 starterami RAPD (Tab. 17)

Tabela 17. Startery RAPD przetestowane w 2016 roku

Lp	Nazwa stertera	Sekwencja	Lp	Nazwa stertera	sekwencja	Lp	Nazwa stertera	Sekwencja	Lp	Nazwa stertera	sekwencja
1	A-01	CAGGCCCTTC	51	C-14	TGCGTGCTTG	101	F-09	CCAAGCTTCC	151	I-05	TGTTCCACGG
2	A-02	TGCCGAGCTG	52	C-15	GACGGATCAG	102	F-10	GGAAGCTTGG	152	I-06	AAGGCGGCAG
3	A-03	AGTCAGCCAC	53	C-16	CACACTCCAG	103	F-11	TTGGTACCCC	153	I-08	TTTGCCCCGT
4	A-04	AATCGGGCTG	54	C-17	TTCCCCCAG	104	F-12	ACGGTACCAG	154	I-09	TGGAGAGCAG
5	A-05	AGGGGTCTTG	55	C-18	TGAGTGGGTG	105	F-13	GGCTGCAGAA	155	I-10	ACAACGCGAG
6	A-06	GGTCCTGAC	56	C-19	GTTGCCAGCC	106	F-15	CCAGTACTCC	156	I-11	ACATGCCGTG
7	A-07	GAAACGGGTG	57	C-20	ACTTCGCCAC	107	F-19	CCTCTAGACC	157	I-12	AGAGGGCACA
8	A-07B	GAA ACG GGT G	58	D-01	ACCGCGAAGG	108	F-20	GGTCTAGAGG	158	I-13	CTGGGGCTGA
9	A-09	GGGTAACGCC	59	D-02	GGACCCAACC	109	G-01	CTACGGAGGA	159	I-14	TGACGGCGGT
10	A-10	GTGATCGCAG	60	D-04	TCTGGTGAGG	110	G-02	GGCACTGAGG	160	I-15	TCATCCGAGG
11	A-12	TCGGCGATAG	61	D-05	TGAGCGGACA	111	G-03	GAGCCCTCCA	161	I-16	TCTCCGCCCT
12	A-13	CAGCACCCAC	62	D-06	ACCTGAACGG	112	G-04	AGCGTGTCTG	162	I-17	GGTGGTGATG
13	A-14	TCTGTGCTGG	63	D-07	TTGGCACGGG	113	G-05	CTGAGACGGA	163	I-18	TGCCCAGCCT
14	A-15	TTCCGAACCC	64	D-08	GTGTGCCCCA	114	G-06	GTGCCTAACC	164	I-19	AATGCGGGAG
15	A-16	AGCCAGCGAA	65	D-09	CTCTGGAGAC	115	G-07	GAACCTGCGG	165	I-20	AAAGTGCGGG
16	A-17	GACCGCTTGT	66	D-10	GGTCTACACC	116	G-08	TCACGTCCAC	166	J-01	CCCGGCATAA
17	A-18	AGGTGACCGT	67	D-11	AGCGCCATTG	117	G-09	CTGACGTCAC	167	J-02	CCCGTTGGGA
18	A-19	CAAACGTCGG	68	D-12	CACCGTATCC	118	G-10	AGGGCCGTCT	168	J-03	TCTCCGCTTG
19	A-20	GTTGCGATCC	69	D-13	GGGGTGACGA	119	G-11	TGCCCGTCGT	169	J-19	GGACACCACT
20	B-01	GTTTCGCTCC	70	D-14	CTTCCCAAG	120	G-12	CAGCTCACGA	170	J-20	AAGCGGCCTC
21	B-02	TGATCCCTGG	71	D-15	CATCCGTGCT	121	G-13	CTCTCCGCCA	171	K-01	CATTGAGACC
22	B-03	CATCCCCTG	72	D-17	TTTCCACGG	122	G-14	GGATGAGACC	172	K-02	GTCTCCGCAA
23	B-05	TGCGCCCTTC	73	D-18	GAGAGCCAAC	123	G-15	ACTGGGACTC	173	K-03	CCAGCTTAGG
24	B-06	TGCTCTGCC	74	D-19	CTGGGGACTT	124	G-16	AGCGTCCTCC	174	K-04	CCGCCCAAAC
25	B-07	GGTGACGCAG	75	D-20	ACCCGGTCAC	125	G-17	ACGACCGACA	175	K-05	TCTGTGCGAGG
26	B-08	GTCCACACGG	76	E-01	CCCAAGGTCC	126	G-18	GGCTCATGTG	176	K-06	CACCTTTCCC
27	B-10	CTGCTGGGAC	77	E-02	GGTGCGGGAA	127	G-19	GTCAGGGCAA	177	K-07	AGCGAGCAAG
28	B-11	GTAGACCCGT	78	E-03	CCAGATGCAC	128	G-20	TCTCCCTCAG	178	K-08	GAACACTGGG
29	B-12	CCTTGACGCA	79	E-04	GTGACATGCC	129	H-01	GGTCGGAGAA	179	K-09	CCCTACCGAC
30	B-13	TTCCCCCGCT	80	E-05	TCAGGGAGGT	130	H-02	TCGGACGTGA	180	K-10	GTGCAACGTG
31	B-14	TCCGTCTGG	81	E-06	AAGACCCCTC	131	H-03	AGACGTCCAC	181	K-11	AATGCCCCAG
32	B-15	GGAGGGTGTT	82	E-07	AGATGCAGCC	132	H-04	GGAAGTCGCC	182	K-12	TGGCCCTCAC
33	B-16	TTTGCCCGGA	83	E-08	TCACCACGGT	133	H-05	AGTCGTCCCC	183	K-13	GGTGTACCC
34	B-17	AGGGAACGAG	84	E-09	CTTCACCCGA	134	H-06	ACGCATCGCA	184	K-14	CCCCTACAC
35	B-18	CCACAGCAGT	85	E-10	CACCAGGTGA	135	H-07	CTGCATCGTG	185	K-15	CTCTGCCAA
36	B-19	ACCCCGAAG	86	E-11	GAGTCTCAGG	136	H-08	GAAACACCCC	186	K-16	GAGCGTCGAA
37	B-20	GGACCCTTAC	87	E-12	TTATCGCCCC	137	H-09	TGTAGCTGGG	187	K-17	CCCAGCTGTG
38	C-01	TTCGAGCCAG	88	E-13	CCCATTTCGG	138	H-11	CTTCCGAGT	188	K-18	CCTAGTCGAG
39	C-02	GTGAGCGTGC	89	E-14	TGCGGCTGAG	139	H-12	ACGCGCATGT	189	L-01	GGCATGACCT
40	C-03	GGGGGTCTTT	90	E-15	ACGCACAACC	140	H-13	GACGCCACAC	190	L-02	TGGGCGTCAA
41	C-04	CCGCATCTAC	91	E-16	GGTGACTGTG	141	H-14	ACCAGGTTGG	191	L-03	CCAGCAGCTT
42	C-05	GATGACCGCC	92	E-17	CTACTGCCGT	142	H-15	AATGGCGCAG	192	L-04	GACTGCACAC
43	C-06	GAACGGACTC	93	E-18	GGACTGCAGA	143	H-16	TCTCAGCTGG	193	L-05	ACGACGGCAC
44	C-07	GTCCCGACGA	94	E-19	ACGGCGTATG	144	H-17	CACTCTCCTC	194	L-06	GAGGGAAGAG
45	C-08	TGGACCGGTG	95	E-20	AACGGTGACC	145	H-18	GAATCGGCCA	195	L-07	AGGCGGGAAC
46	C-09	CTCACCGTCC	96	F-01	ACGGATCCTG	146	H-19	CTGACCAGCC	196	L-08	AGCAGGTGGA
47	C-10	TGTCTGGGTG	97	F-02	GAGGATCCCT	147	I-01	ACCTGGACAC	197	L-09	TGCGAGAGTC
48	C-11	AAAGTGCCTG	98	F-03	CCTGATCACC	148	I-02	GGAGGAGAGG	198	L-10	TGGGAGATGG
49	C-12	TGTCATCCCC	99	F-05	CCG AAT TCC	149	I-03	CAGAAGCCCA	199	L-11	ACGATGAGCC
50	C-13	AAGCCTCGTC	100	F-08	GGGATATCGG	150	I-04	CCGCCTAGTC	200	L-12	GGGCGGTACT

W wyniku reakcji amplifikacji z wybranymi starterami RAPD uzyskano łącznie 1835 prążków, z których jedynie 10% było prążkami polimorficznymi. Wśród uzyskanych produktów nie zidentyfikowano prążków specyficznych dla genotypów odpornych posiadających gen *Pm7*.



Fot.1. produkty amplifikacji uzyskane po włączeniu do PCR starterów L01, L02, L03 i L04.
1-linia APR122 (*Pm7*), 2,3,4 – homozygoty odporne (bulki), 5,6,7 – homozygoty wrażliwe (bulki), 8 – Fuchs, M- marker wielkości

Mierniki dla tematu badawczego 4 (podać w tabeli)

Lp.	Miernik ⁵	Wartość miernika podana w opisie zadania	Wartość miernika zrealizowana
1	Liczba osobników wybranych do analiz RAPD	62	62
2	Liczba przetestowanych starterów RAPD	200	200

4.5 Temat badawczy 5: Genotypowanie populacji z wykorzystaniem całogenomowych analiz typu DArTseq

Cel tematu badawczego 5

Celem prac prowadzonych w ramach tematu 5 w 2016 roku było poszukiwanie markerów DArTseq różnicujących pule roślin odpornych i podatnych w populacji ARP122 x Fuchs.

Materiały i metody

Przedmiotem badań realizowanych w 2016 roku były homozygotyczne pod względem odporności na mączniaka prawdziwego osobniki populacji APR122 x Fuchs oraz formy rodzicielskie. Do analiz typu DArTseq wybrano po 20 osobników odpornych i wrażliwych na

⁵ Podać miernik – np. ilość planowanych testów, prób, badanych genotypów etc.

porażenie mączniakiem prawdziwym oraz formy rodzicielskie. Izolację DNA z badanych mieszańców oraz form rodzicielskich przeprowadzono z wykorzystaniem komercyjnego zestawu kolumnkowego. Po izolacji oceniono jakość i ilość uzyskanego DNA oraz wykonano odpowiednie rozcieńczenia. Analizy DArTseq zlecono firmie Diversity Arrays Technology.

Wyniki

W 2016 roku do analiz typu DArTseq wybrano po 20 osobników odpornych i podatnych z populacji APR122 x Fuchs oraz formy rodzicielskie (tabela 19). DNA z analizowanych prób wyizolowano za pomocą komercyjnego zestawu kolumnkowego. Jakość i ilość uzyskanego DNA oceniono spektrofotometrycznie (Tabela 20) i za pomocą elektroforezy agarozowej (Fot. 2). Wyizolowany z wybranych geotypów kwas deoksyrybonukleinowy doprowadzono do stężenia 50ng/μl i przesłano do Diversity Arrays Technology w celu wykonania analiz. Przeprowadzone analizy pozwoliły na uzyskanie 5 660 markerów typu silicoDArT i 1 900 markerów SNP. Wstępna analiza uzyskanych wyników pozwoliła na wytypowanie 220 markerów silicoDArT i 22 markerów SNP sprzężonych z genem Pm7 odporności na mączniaka prawdziwego. Wybrane markery zostaną poddane szczegółowej analizie. Ich sekwencje zostaną porównane do sekwencji umieszczonych w bazach danych (min. NCBI) oraz zostaną poddane próbie konwersji na markery specyficzne STS. Dokładna analiza uzyskanych wyników zostanie przeprowadzona w 2017 roku.

Mierniki dla tematu badawczego 5 (podać w tabeli)

Lp.	Miernik ⁶	Wartość miernika podana w opisie zadania	Wartość miernika zrealizowana
1	Liczba osobników poddanych analizie typu DArTseq	42	42

⁶ Podać miernik – np. ilość planowanych testów, prób, badanych genotypów etc.

4. Planowana prezentacja wyników badań (podać w tabeli - należy wymienić konferencje, na których zaprezentowano wyniki i/lub wymienić publikacje, przygotowane i przyjęte do druku w trakcie realizacji zadania w danym roku).

Prezentacja wyników na konferencjach				
Lp.	Konferencja	prezentacja ⁷	Liczba prezentacji podana w opisie zadania	Liczba prezentacji zrealizowana
1	Konferencja Naukowa „Nowe osiągnięcia polskich zespołów badawczych w dziedzinie genetyki, Hodowli i biotechnologii roślin” Międzyzdroje 8-10 czerwca 2016	Komunikat (krótka 10-cio minutowa prezentacja)	2	2
Publikacje w monografiach/czasopismach recenzowanych				
Lp.	Monografia/Czasopismo	publikacja ⁸	Liczba publikacji podana w opisie zadania	Liczba publikacji zrealizowana
1	Ocena odporności polskich odmian owsa zwyczajnego na mączniaka prawdziwego (<i>Blumeria graminis</i> DC. f.sp. <i>avenae</i> Em. Marchal) – Annales UMCS, Sectio E – Agricultura	Publikacja oryginalna	1	1

Jeśli któryś z mierników nie został zrealizowany należy podać przyczyny.

6. Miernik zadania – stopień realizacji

L.p.	Miernik	Wartość miernika podana w opisie zadania	Wartość miernika zrealizowana	Stopień realizacji zadania
1	2	3	4	5
Temat badawczy 1				
1.1	Liczba lokalizacji, w których przeprowadzono obserwacje porażenia mączniakiem prawdziwym zestawu 7 linii i odmian kontrolnych	4	4	1,00
1.2	Liczba izolatów użytych do analizy zmienności populacji mączniaka prawdziwego	200	200	1,00
Temat badawczy 2				
2.1	Liczba przetestowanych populacji F ₂ (300osobników z każdej populacji)	4	4	1,00
2.2	Liczba izolatów mączniaka prawdziwego wybranych do oceny każdej z analizowanych populacji F ₂	3	3	1,00
Temat badawczy 3				
3.1	Liczba przetestowanych odmian owsa zwyczajnego	30	30	1,00
3.2	Liczba izolatów mączniaka wykorzystanych do testów żywiciel-patogen	10	12	1,20
3.3	Liczba wykonanych kombinacji krzyżówkowych	100	110	1,10
Temat badawczy 4				
4.1	Liczba osobników wybranych do analiz RAPD	62	62	1,00
4.2	Liczba przetestowanych starterów RAPD	200	200	1,00
Temat badawczy 5				
5.1	Liczba osobników poddanych analizie typu DArTseq	42	42	1,00
			średnia	1,03
			% realizacji zadania	103%

Sporządzono: 12.01.2017 r.

⁷ Podać, czy chodzi o wykład plenarny, doniesienie konferencyjne czy poster.

⁸ Podać, czy chodzi o publikację oryginalną, czy np. polemika, list do edytora, rozdział w monografii etc.