

## SPRAWOZDANIE MERYTORYCZNE

z realizacji zadania na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej w 2016 roku

### INFORMACJE OGÓLNE

Tytuł zadania - <b>Identyfikacja regionów genomu oraz markerów DNA związanych z heterozją w heksaploidalnym pszenzycie ozimym</b>
Numer zadania (w załączniku nr 9 do rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 18 maja 2010 r. w sprawie stawek dotacji przedmiotowych dla różnych podmiotów wykonujących zadania na rzecz rolnictwa (Dz. U. Nr 91, poz. 595, z późn. zm.)) - <b>82</b>
Planowany okres realizacji zadania: <b>2016</b>
Planowane nakłady w zł: <b>230 000</b>

### INFORMACJA O WYKONAWCACH

Zespół badawczy

<b>Kierownik zadania</b>		
imię i nazwisko	stopień i tytuł naukowy	miejsce zatrudnienia
Michał Nowak	dr inż.	Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
<b>Wykonawcy zadania</b>		
imię i nazwisko	stopień i tytuł naukowy	miejsce zatrudnienia
Piotr Tomasz Bednarek	dr hab., prof. nadzw.	Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowy Instytut Badawczy
Justyna Leśniowska-Nowak	dr inż.	Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
Edyta Paczos-Grzęda	dr	Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
Adam Kuzdrałiński	dr inż.	Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
Karolina Dudziak	mgr inż.	Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

### OPIS ZADANIA

#### 1. Cele zadania

Lp.	Cel (zgodnie ze szczegółowym opisem na dany rok)	Czy cel został zrealizowany (tak/nie <sup>1</sup> /częściowo <sup>1</sup> )
1	Uzyskanie profilu markerów DArT dla każdego z analizowanych genotypów heksaploidalnego pszenżyta ozimego.	TAK
2	Opracowanie schematu i założenie doświadczeń polowych na potrzeby oceny plonu analizowanych genotypów pszenżyta.	TAK
3	Obróbka bioinformatyczna wyników genotypowania i przygotowanie danych wsadowych dla procedury mapowania.	TAK

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

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

**2.1. Temat badawczy 1: Genotypowanie linii wsobnych oraz linii DH pszenżyta.**

**Cel tematu badawczego 1**

Celem tematu badawczego było uzyskanie profilu markerów DArT dla każdego z analizowanych genotypów heksaploidalnego pszenżyta ozimego.

**Materiały i metody**

Materiał roślinny w projekcie stanowiło 466 wyrównanych genetycznie form ozimego pszenżyta heksaploidalnego pochodzących z kolekcji spółek hodowlanych DANKO Hodowla Roślin (205 genotypów) oraz Hodowla Roślin Strzelce, Grupa IHAR (261 genotypów). Ze względu na fakt niewystarczającej liczby genotypów pochodzących ze spółek hodowli roślin, materiał roślinny uzupełniono włączając 4 formy pochodzące z kolekcji heksaploidalnego pszenżyta ozimego utrzymywanej w Instytucie Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. Sumaryczna liczba form poddanych genotypowaniu w projekcie wyniosła 470 (Tab. 1).

**Tabela 1.** Formy pszenżyta ozimego z których pobrano materiał do genotypowania – zestawienie zbiorcze.

Lp	Genotyp	Lp	Genotyp	Lp	Genotyp
1	BOHT_739	28	BOH_1825-1	56	BOH_1439-5
2	BOH_2117-3	29	BOH_2366-2	57	BOHT_799
3	BOH_1401-1	30	BOH_1439-9	58	BOH_1409-8
4	BOH_1684-2	31	BOHT_740	59	BOH_2176-1
5	BOH_3933-1	32	BOH_1515-3	60	BOH_2207-3
6	BOH_1732-1	33	BOHT_748	61	BOH_2385-1
7	BOHT_746	34	BOHT_794	62	BOH_2085-1
8	BOHT_797	35	BOH_2085-2	63	BOH_1422-2
9	BOH_2207-1	36	BOHT_741	64	BOHT_796
10	BOH_2381-1	37	BOH_2381-3	65	BOH_2385-2
11	BOH_1439-8	38	BOH_2366-1	66	BOH_2039-2
12	BOH_2083-1	39	BOH_2274-1	67	BOH_2762-4
13	BOH_1821-3	40	BOH_1823-1	68	BOH_1409-6
14	BOH_2385-3	41	BOH_2207-2	69	BOH_2083-3
15	BOH_2215-1	42	BOHT_750	70	BOH_1439-6
16	BOHD_2303-2	43	BOH_2381-2	71	BOHT_747
17	BOH_1439-7	44	BOH_1639-2	72	BOH_2039-1
18	BOH_2208-2	45	BOH_1409-7	73	BOH_1086-2
19	BOH_2188-4	46	BOH_2184-2	74	BOHD_2303-3
20	BOHD_3935-1	47	BOH_2330-1	75	BOH_2184-1
21	BOHT_749	48	BOHD_2113-1	76	BOH_1982-1
22	BOHT_798	49	BOH_1622-9	77	BOH_1439-4
23	BOH_2188-5	50	BOH_3934-1	78	BOHT_745
24	BOH_2121-1	51	BOH_969-26	79	BOH_1831-1
25	BOH_2366-3	52	BOHT_795	80	BOH_1684-1
26	BOH_2188-3	53	BOH_2099-2	81	BOH_1838-2
27	BOH_1684-3	54	BOHD_2291-1	82	BOH_1515-4
		55	BOH_1823-2	83	BOH_2175-2

Lp	Genotyp
84	BOH_2083-2
85	BOHD_2352-1
86	BOH_2208-1
87	BOH_1838-1
88	BOHT_744
89	BOHT_806
90	BOHT_751
91	BOHT_772
92	BOHT_845
93	BOHT_774
94	BOHT_783
95	BOHT_832
96	BOHT_818
97	BOHT_838
98	BOHT_764
99	BOHT_793
100	BOHT_775
101	BOHT_843
102	BOHT_823
103	BOHT_826
104	BOHT_763
105	BOHT_822
106	BOHT_815
107	BOHT_847
108	BOHT_792
109	BOHT_833
110	BOHT_816
111	BOHT_807
112	BOHT_837
113	BOHT_814
114	BOHT_773
115	BOHT_778
116	BOHT_836
117	BOHT_765
118	BOHT_752
119	BOHT_766
120	BOHT_789
121	BOHT_813
122	BOHT_803
123	BOHT_768
124	BOHT_840
125	BOHT_834
126	BOHT_824
127	BOHT_776

Lp	Genotyp
128	BOHT_819
129	BOHT_810
130	BOHT_839
131	BOHT_770
132	BOHT_755
133	BOHT_812
134	BOHT_829
135	BOHT_805
136	BOHT_769
137	BOHT_846
138	BOHT_742
139	BOHT_817
140	BOHT_804
141	BOHT_825
142	BOHT_777
143	BOHT_761
144	BOHT_835
145	BOHT_758
146	BOHT_809
147	BOHT_820
148	BOHT_841
149	BOHT_802
150	BOHT_759
151	BOHT_831
152	BOHT_842
153	BOHT_791
154	BOHT_844
155	BOHT_753
156	BOHT_801
157	BOHT_762
158	BOHT_787
159	BOHT_790
160	BOHT_743
161	BOHT_827
162	BOHT_811
163	BOHT_788
164	BOHT_760
165	BOHT_780
166	BOHT_779
167	BOHT_771
168	BOHT_786
169	BOHT_767
170	BOHT_808
171	BOHT_800

Lp	Genotyp
172	BOHT_830
173	BOHT_821
174	BOHT_781
175	MAH 35193-1
176	MAH 34964-1
177	MAH 34964-2
178	MAH 34964-3
179	MAH 34964-4
180	MAH 34394-1
181	MAH 34948-1
182	MAH 34739-1
183	MAH 34777-1
184	MAH 35455-1
185	MAH 35571-1
186	MAH 35574-1
187	MAH 35111-1
188	MAH 35114-1
189	MAH 35140-1
190	MAH 35151-1
191	MAH 35172-1
192	MAH 35182-1
193	MAH 35198-1
194	MAH 35231-1
195	MAH 35266-1
196	MAH 35296-1
197	MAH 35297-1
198	MAH 35306-1
199	MAH 35317-1
200	MAH 35330-1
201	MAH 34985-5
202	MAH 34762-6
203	MAH 34814-1
204	MAH 34859-2
205	MAH 34069-2
206	MAH 34159-1
207	MAH 34159-2
208	MAH 34070-4
209	L-9
210	MAH 34615-5
211	MAH 33881-15
212	MAH 33881-15
213	MAH 33938-1
214	MAH 34740-1
215	MAH 34752-5

Lp	Genotyp
216	MAH 34861-2
217	MAH 34877-1
218	MAH 33742-1
219	MAH 33072-2
220	MAHD 35188-1
221	MAHD 35188-2
222	MAHD 35188-3
223	MAHD 35188-4
224	MAHD 35188-5
225	MAHD 35188-6
226	MAHD 35188-7
227	MAHD 35188-8
228	MAHD 35188-9
229	MAHD 35188-10
230	MAHD 35188-11
231	MAHD 35188-12
232	MAHD 35188-13
233	MAHD 35188-14
234	MAHD 35188-15
235	MAHD 35188-16
236	MAHD 35188-17
237	MAHD 35188-18
238	MAHD 35013-1
239	MAHD 35081-7
240	MAHD 35205-1
241	MAHD 35269-1
242	MAHD 35318-1
243	MAHD 35323-1
244	MAHD 35318-4
245	MAH 34097-1
246	MAH 34752-1
247	MAH 34732-1
248	MAH 34863-4
249	MAHD 34831-1
250	MAH 35657-1
251	MAH 34858-17
252	MAH 35226-1
253	MAH 35062-1
254	MAH 34615-10
255	MAH 34837-1
256	MAH 33097-2
257	MAHD 35032-95
258	MAH 35008-71

Lp	Genotyp
259	MAH 35008-72
260	MAH 35015-2
261	Cyrkon
262	DANKO_1
263	DANKO_2
264	DANKO_3
265	DANKO_4
266	DANKO_5
267	DANKO_6
268	DANKO_7
269	DANKO_8
270	DANKO_9
271	DANKO_10
272	DANKO_11
273	DANKO_12
274	DANKO_13
275	DANKO_14
276	DANKO_15
277	DANKO_16
278	DANKO_17
279	DANKO_18
280	DANKO_19
281	DANKO_20
282	DANKO_21
283	DANKO_22
284	DC_719/07/1
285	DC_719/07/2
286	DC_08220-4
287	DC_07051/01/1
288	DC_07051/01/2
289	DC_07063/01
290	DC_07063/03
291	DC_07073/05
292	DC_07254/01
293	DD_61/11
294	DD_76/11
295	DD_144/11
296	DD_175/11
297	DT_270/11
298	DD_293/11
299	DL_643/09
300	DL_378/10
301	DL_402/11
302	DL_525/11

Lp	Genotyp
303	DL_593/11
304	DL_1112/10
305	DL_1113/10
306	LM_18/12
307	CM_15/13
308	LM_58/13
309	DS_4211/11
310	DS_2882/12
311	CT 08006/12
312	CT 08033/13/1
313	CT 08033/13/2
314	CT 08108/04
315	CT 08203/05
316	CT 08221/08
317	CT 08224/05
318	CT 08255/05
319	DD 166/12
320	DD 167/12
321	DD 208/12
322	DD 220/12
323	DL 292/12
324	DL 1213/12
325	DL 1246/12
326	DL 1247/12
327	DL 1248/12
328	CM 31/13
329	SM 7/13
330	SM 12/13
331	DS 2607/11
332	DS 3072/12
333	DS 3217/12
334	DS 3468/12
335	DS 3981/11
336	DS 2888/11
337	DS 4320/13
338	DS 1424/14
339	cL 368/08
340	cD 197/08
341	TJ 07276/01
342	CT 10169-12
343	CT 10258-12
344	CT 10275-27
345	CT 10047-78
346	CT 10047-127



Lp	Genotyp
347	CT 10104-62
348	CT 10104-74
349	DD 436/12
350	DD 455/12
351	DD 456/12
352	DL 532/12
353	DL 1299/12
354	DL 1337/12
355	DL 1420/12
356	LM 15/13
357	SM 17/13
358	SM 27/13
359	DS 2432/14
360	DS 2551/14
361	DS 4660/10-1
362	DS 4101/11-1
363	DS 4397/13
364	DS 1929/14
365	DS 1475/14
366	CT 08045/01
367	cD 175/08
368	cD 233/08/1
369	cD 233/08/2
370	cD 371/08
371	CT 10009-13
372	CT 10035-36
373	CT 10035-39
374	CT 10169-11
375	CT 10254-12
376	DD 225/12
377	DD 339/12
378	DL 384/12
379	DL 446/12
380	DL 451/12
381	DL 472/12
382	DL 1227/12
383	DL 1256/12
384	DL 1261/12
385	DS 2817/11
386	DS 4043/13
387	DS 4254/13
388	CT 10047-106

Lp	Genotyp
389	CT 10047-125
390	CT 10047-159
391	CT 10047-190
392	CT 10047-192
393	CT 10047-229
394	CT 10047-232
395	CT 10047-233
396	CT 10240-48
397	DD 379/12
398	DD 381/12
399	DL 496/12
400	DL 541/12
401	DL 551/12
402	DL 678/12
403	DL 1343/12
404	DL 1400/12
405	DL 1410/12
406	LM 52/13
407	DS 4048/13
408	DS 4019/13
409	DS 1426/14
410	Fredro
411	Tomko
412	Meloman
413	Subito
414	DD_333/09
415	LAD_2/07
416	LAD_5/07
417	LAD_20/11
418	DS 2931/11
419	DL 593/07
420	LAD 21/11
421	LAD 23/12
422	DC 07064-16
423	DL 26/13
424	LD_122/08
425	LAD_3/07
426	LAD_6/07
427	LAD_9/08
428	LAD_16/09
429	Gringo
430	DC_228/05/02

Lp	Genotyp
431	DL 643/09
432	DL 386/10
433	LAD 11/08
434	DC 06013/03
435	DL 1113/10
436	LAD 22/11
437	DC 169/06
438	DS 3
439	DC 07004-4
440	DS 9
441	DS 4550/11
442	L-138
443	L-139
444	L-140
445	L-141
446	L-142
447	L-143
448	L-144
449	L-145
450	L-146
451	L-147
452	L-148
453	L-149
454	L-150
455	L-200
456	L-201
457	L-202
458	L-203
459	L-204
460	L-205
461	L-206
462	L-207
463	L-208
464	L-209
465	L-210
466	L-211
467	Triticale 1
468	Triticale 2
469	Triticale 3
470	Triticale 4

Z roślin badanych genotypów pszenżyta pobrano w warunkach doświadczenia polowego młode liście bez objawów porażenia w celu izolacji DNA z przeznaczeniem do analiz techniką DArTseq.

Pobraną tkankę zamrożono i przechowywano w temperaturze -80°C do czasu ekstrakcji DNA. Każda z roślin z których pobrano materiał genetyczny została oznaczona, a przed fazą kwitnienia dokonano izolacji trzech pojedynczych kłosów celem uzyskania na drodze samozapylenia ziarniaków przeznaczonych do wykorzystania na kolejnych etapach projektu.

Izolację DNA wykonano w laboratorium Instytutu Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. Zamrożoną tkankę homogenizowano w temperaturze ciekłego azotu za pomocą młynka i tłuczka. Uzyskany homogenat przenoszono do 2 ml probówek Eppendorfa, a następnie izolowano całkowity DNA z zastosowaniem komercyjnego zestawu odczynników opartego na oczyszczaniu kwasu nukleinowego na złożu w kolumnkach - DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen). W pierwszym etapie dokonano próbnej izolacji niewielkiej partii materiału i na podstawie uzyskanych wyników dokonano optymalizacji protokołu zalecanego przez producenta zestawu w kierunku zwiększenia efektywności odzysku kwasu nukleinowego ze złoża. Wyizolowane preparaty DNA poddano ocenie jakościowej i ilościowej za pomocą spektrofotometru NanoDrop 2000 oraz analizie integralności przy użyciu elektroforezy w 1,5% żelu agarozowym.

Uzyskane preparaty DNA doprowadzono następnie do jednakowego stężenia 100 ng/μl i przesłano do firmy Diversity Array Technology Ltd. (Canberra) w celu wykonania genotypowania. Genotypowanie wykonano techniką DArTseq w wersji z wykorzystaniem najbardziej obszernego dostępnego zestawu markerów.

### Wyniki

Spośród wyizolowanych preparatów DNA do analizy techniką DArTseq skierowano 470 prób charakteryzujących się ilością DNA wystarczającą do wykonania badania oraz wysokim stopniem integralności.

W wyniku analizy metodą DArTseq w przypadku każdego z badanych genotypów uzyskano profil dla 87 493 markerów. Po obróbce wyselekcjonowano z nich 24 353 markery z przeznaczeniem do mapowania. Dla badanych genotypów wykonano również analizę silico DArT, pozwalającą na identyfikację markerów dominujących. W wyniku tej analizy dla każdego genotypu uzyskano profil w oparciu o 87 860 markerów, z których po weryfikacji wyselekcjonowano 32 167.

### Dyskusja

Pszenżyto, będące wynikiem międzyrodzajowego krzyżowania pomiędzy rodzajami *Triticum* i *Secale*, charakteryzuje się występowaniem form o zróżnicowanym składzie genomowym i stopniach ploidalności. Największe znaczenie w praktyce ma pszenżyto heksaploidalne o składzie genomowym AABBRR (Ammar i in. 2004). Opracowanie platformy markerów DArT dla pszenżyta oparte było na integracji markerów specyficznych dla pszenicy z markerami specyficznymi dla żyta (Badea i in. 2011). Polimorfizm markerów DArT jest rezultatem występowania polimorfizmów pojedynczych nukleotydów (SNP) oraz insercji/delecji (INDEL) zarówno w obrębie sekwencji rozpoznawanych przez enzymy restrykcyjne, jak i w obrębie fragmentów restrykcyjnych (White i in. 2008).

Wartość średnia współczynnika PIC (Polymorphic Information Content) dla wszystkich markerów wynosiła 0,273 (od 0,002 do 0,499). Wartość ta nie odbiega od wartości tego współczynnika uzyskiwanych dla pszenżyta ozimego w badaniach innych Autorów (m.in. Badea i in. 2011, Alheit i in. 2013, Niedziela i in. 2016) i pozwala na wiarygodną analizę zróżnicowania genetycznego analizowanych form.

### Wnioski

1. Poziom polimorfizmu uzyskany w badaniach własnych jest wystarczający dla pewnej i wiarygodnej oceny zróżnicowania genetycznego analizowanych form pszenżyta ozimego.

#### Mierniki dla tematu badawczego 1 (podać w tabeli)

Lp.	Miernik <sup>2</sup>	Wartość miernika podana w opisie zadania	Wartość miernika zrealizowana
1	Liczba genotypów pszenżyta ze zdefiniowanym profilem markerów DArT	500	470*

\*Redukcja 30 genotypów wynika z faktu, że jednostkowy koszt genotypowania techniką DArT stanowi analiza pojedynczej płytki, na której możliwe jest umieszczenie jednocześnie 94 próbek. W kalkulacji projektu na rok 2016

<sup>2</sup> Podać miernik – np. ilość testów, prób, badanych genotypów etc.

przyjęto analizę 5 płytek co stanowi 470 prób, a nie jak błędnie założono przygotowując opis zadania - 500. W związku z powyższym ze względu na dostępne środki finansowe ilość badanych obiektów ograniczono do 470.

## 2.2. Temat badawczy 2: Fenotypowanie linii wsobnych oraz linii DH pszenżyta.

### Cel tematu badawczego 2

Założonym celem tematu badawczego było opracowanie schematu i założenie doświadczeń polowych na potrzeby oceny plonu analizowanych genotypów pszenżyta.

W roku bieżącym poszerzono zakres tematu badawczego 2 względem planowanego i dokonano również analizy plonowania genotypów pszenżyta, z których pobrany został materiał do genotypowania, co nie było ujęte w planie na rok 2016.

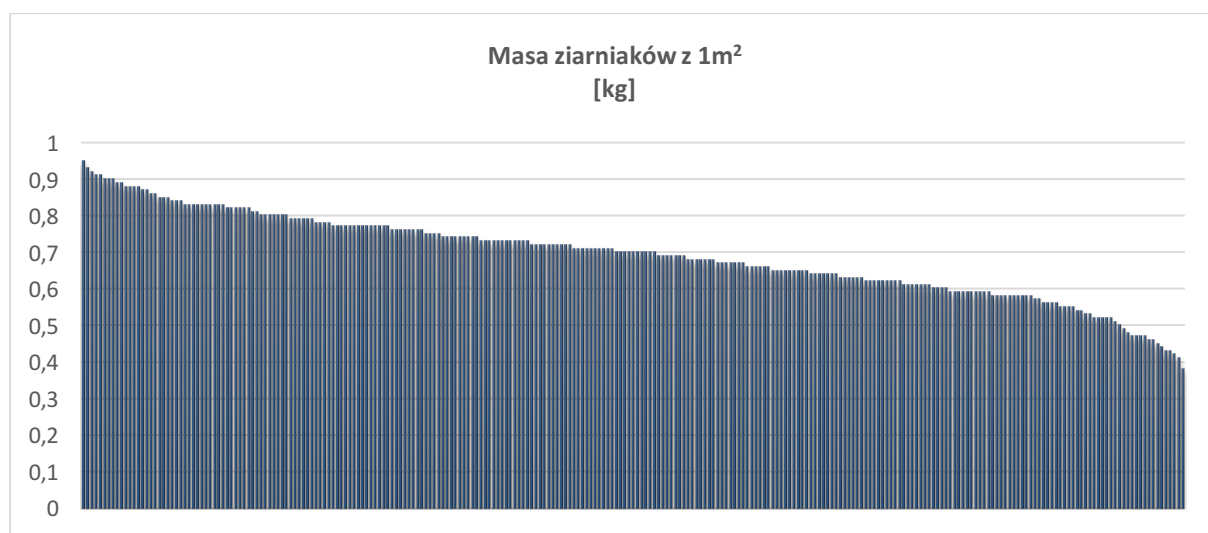
### Materiały i metody

W ramach zadania opracowany został schemat doświadczeń polowych w celu oceny plonowania form pszenżyta zgenotypowanych w zadaniu 1. Zastosowany schemat doświadczenia polowego zakłada wysiew ziarniaków badanych form na poletka doświadczalne o równej powierzchni, wynoszącej 10 m<sup>2</sup> przy gęstości zasiewu wynoszącej 350 ziarniaków/m<sup>2</sup>. Badane formy pszenżyta wysiano na poletka doświadczalne w stacjach hodowli roślin należących do spółek DANKO Hodowla Roślin oraz Hodowla Roślin Strzelce, Grupa IHAR. Każdy badany obiekt wysiany został w trzech oddalonych od siebie lokalizacjach. Przed oraz po siewie wykonano wszystkie niezbędne zabiegi uprawowe, zgodnie ze schematem stosowanym przez spółki hodowli roślin dla doświadczeń międzyzakładowych.

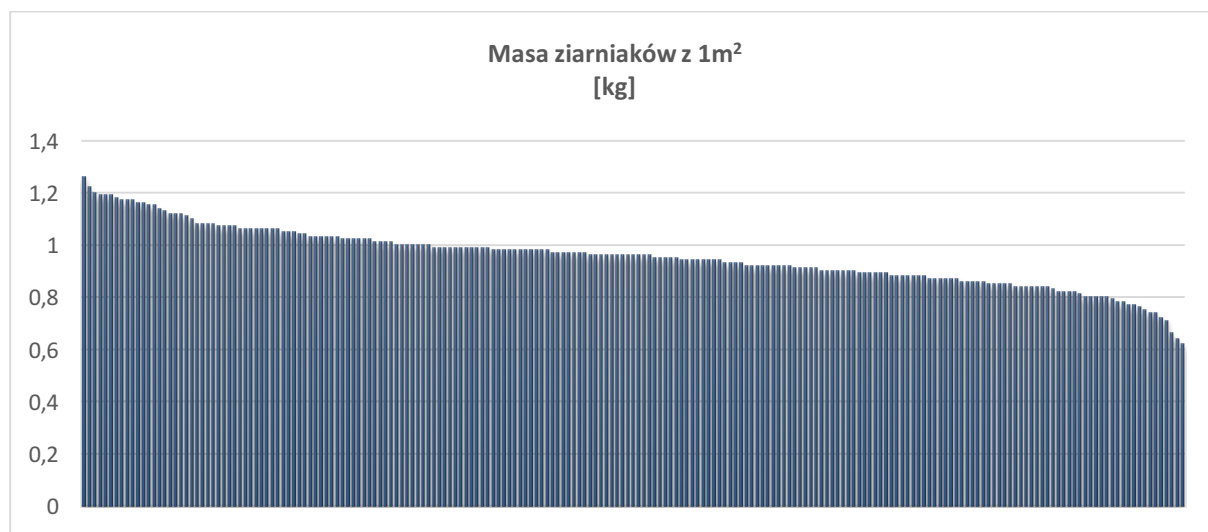
### Wyniki

Dla badanych genotypów ozimego pszenżyta heksaploidalnego średni plon z jednostki powierzchni (1m<sup>2</sup>) w roku 2016 wyniósł 0,8 kg/m<sup>2</sup>. Najniższy średni plon uzyskano dla rodu BOHT\_790 (0,38 kg/m<sup>2</sup>) natomiast najwyższy dla rodu DC\_07051/01/2 (1,26 kg/m<sup>2</sup>). Rozkład masy ziarniaków uzyskanej dla badanych genotypów pszenżyta zaprezentowano w formie graficznej na rysunkach 1 i 2.

**Rys. 1.** Rozkład masy ziarniaków uzyskanych z 1m<sup>2</sup> powierzchni poletka doświadczalnego dla genotypów pszenżyta pochodzących ze spółki Hodowla Roślin Strzelce.



**Rys. 2.** Rozkład masy ziarniaków uzyskanych z 1m<sup>2</sup> powierzchni poletka doświadczalnego dla genotypów pszenżyta pochodzących ze spółki DANKO Hodowla Roślin.



Pełne wyniki fenotypowej oceny plonowania badanych genotypów pszenżyta zaprezentowano w formie zestawień tabelarycznych (Tab. 2, Tab. 3, Tab. 4).

**Tabela 2.** Plonowanie analizowanych genotypów pochodzących ze spółki Hodowla Roślin Strzelce.

Lp	Genotyp	Masa ziarniaków z 1m <sup>2</sup> [kg]
1	BOHT_739	0,86
2	BOH_2117-3	0,91
3	BOH_1401-1	0,77
4	BOH_1684-2	0,88
5	BOH_3933-1	0,79
6	BOH_1732-1	0,79
7	BOHT_746	0,83
8	BOHT_797	0,79
9	BOH_2207-1	0,77
10	BOH_2381-1	0,80
11	BOH_1439-8	0,93
12	BOH_2083-1	0,82
13	BOH_1821-3	0,89
14	BOH_2385-3	0,91
15	BOH_2215-1	0,90
16	BOHD_2303-2	0,84
17	BOH_1439-7	0,85
18	BOH_2208-2	0,67
19	BOH_2188-4	0,77
20	BOHD_3935-1	0,73
21	BOHT_749	0,74
22	BOHT_798	0,74
23	BOH_2188-5	0,73
24	BOH_2121-1	0,83
25	BOH_2366-3	0,72
26	BOH_2188-3	0,82
27	BOH_1684-3	0,77

Lp	Genotyp	Masa ziarniaków z 1m <sup>2</sup> [kg]
28	BOH_1825-1	0,88
29	BOH_2366-2	0,74
30	BOH_1439-9	0,90
31	BOHT_740	0,90
32	BOH_1515-3	0,71
33	BOHT_748	0,75
34	BOHT_794	0,80
35	BOH_2085-2	0,70
36	BOHT_741	0,67
37	BOH_2381-3	0,71
38	BOH_2366-1	0,70
39	BOH_2274-1	0,84
40	BOH_1823-1	0,88
41	BOH_2207-2	0,80
42	BOHT_750	0,73
43	BOH_2381-2	0,86
44	BOH_1639-2	0,82
45	BOH_1409-7	0,81
46	BOH_2184-2	0,92
47	BOH_2330-1	0,68
48	BOHD_2113-1	0,78
49	BOH_1622-9	0,83
50	BOH_3934-1	0,77
51	BOH_969-26	0,63
52	BOHT_795	0,72
53	BOH_2099-2	0,49
54	BOHD_2291-1	0,71

Lp	Genotyp	Masa ziarniaków z 1m <sup>2</sup> [kg]
55	BOH_1823-2	0,88
56	BOH_1439-5	0,89
57	BOHT_799	0,67
58	BOH_1409-8	0,80
59	BOH_2176-1	0,83
60	BOH_2207-3	0,83
61	BOH_2385-1	0,95
62	BOH_2085-1	0,83
63	BOH_1422-2	0,76
64	BOHT_796	0,73
65	BOH_2385-2	0,85
66	BOH_2039-2	0,77
67	BOH_2762-4	0,77
68	BOH_1409-6	0,77
69	BOH_2083-3	0,73
70	BOH_1439-6	0,77
71	BOHT_747	0,68
72	BOH_2039-1	0,70
73	BOH_1086-2	0,69
74	BOHD_2303-3	0,71
75	BOH_2184-1	0,87
76	BOH_1982-1	0,64
77	BOH_1439-4	0,74
78	BOHT_745	0,70
79	BOH_1831-1	0,62
80	BOH_1684-1	0,82
81	BOH_1838-2	0,73
82	BOH_1515-4	0,58
83	BOH_2175-2	0,70
84	BOH_2083-2	0,62
85	BOHD_2352-1	0,60
86	BOH_2208-1	0,55
87	BOH_1838-1	0,59
88	BOHT_744	0,65
89	BOHT_806	0,68
90	BOHT_751	0,68
91	BOHT_772	0,75
92	BOHT_845	0,59
93	BOHT_774	0,64
94	BOHT_783	0,77
95	BOHT_832	0,65
96	BOHT_818	0,72
97	BOHT_838	0,65
98	BOHT_764	0,76

Lp	Genotyp	Masa ziarniaków z 1m <sup>2</sup> [kg]
99	BOHT_793	0,59
100	BOHT_775	0,73
101	BOHT_843	0,58
102	BOHT_823	0,76
103	BOHT_826	0,69
104	BOHT_763	0,78
105	BOHT_822	0,83
106	BOHT_815	0,59
107	BOHT_847	0,58
108	BOHT_792	0,66
109	BOHT_833	0,64
110	BOHT_816	0,84
111	BOHT_807	0,61
112	BOHT_837	0,64
113	BOHT_814	0,83
114	BOHT_773	0,71
115	BOHT_778	0,74
116	BOHT_836	0,76
117	BOHT_765	0,66
118	BOHT_752	0,71
119	BOHT_766	0,61
120	BOHT_789	0,72
121	BOHT_813	0,65
122	BOHT_803	0,59
123	BOHT_768	0,65
124	BOHT_840	0,54
125	BOHT_834	0,47
126	BOHT_824	0,59
127	BOHT_776	0,62
128	BOHT_819	0,68
129	BOHT_810	0,59
130	BOHT_839	0,52
131	BOHT_770	0,51
132	BOHT_755	0,72
133	BOHT_812	0,71
134	BOHT_829	0,63
135	BOHT_805	0,68
136	BOHT_769	0,68
137	BOHT_846	0,58
138	BOHT_742	0,59
139	BOHT_817	0,72
140	BOHT_804	0,76
141	BOHT_825	0,67
142	BOHT_777	0,72

Lp	Genotyp	Masa ziarniaków z 1m <sup>2</sup> [kg]
143	BOHT_761	0,70
144	BOHT_835	0,57
145	BOHT_758	0,70
146	BOHT_809	0,70
147	BOHT_820	0,67
148	BOHT_841	0,47
149	BOHT_802	0,58
150	BOHT_759	0,58
151	BOHT_831	0,42
152	BOHT_842	0,46
153	BOHT_791	0,43
154	BOHT_844	0,47
155	BOHT_753	0,44
156	BOHT_801	0,52
157	BOHT_762	0,45
158	BOHT_787	0,50
159	BOHT_790	0,38
160	BOHT_743	0,46
161	BOHT_827	0,47
162	BOHT_811	0,54
163	BOHT_788	0,66
164	BOHT_760	0,61
165	BOHT_780	0,55
166	BOHT_779	0,48
167	BOHT_771	0,63
168	BOHT_786	0,74
169	BOHT_767	0,74
170	BOHT_808	0,66
171	BOHT_800	0,59
172	BOHT_830	0,52
173	BOHT_821	0,58
174	BOHT_781	0,57
175	MAH 35193-1	0,76
176	MAH 34964-1	0,80
177	MAH 34964-2	0,83
178	MAH 34964-3	0,71
179	MAH 34964-4	0,79
180	MAH 34394-1	0,69
181	MAH 34948-1	0,58
182	MAH 34739-1	0,55
183	MAH 34777-1	0,61
184	MAH 35455-1	0,80
185	MAH 35571-1	0,73
186	MAH 35574-1	0,77

Lp	Genotyp	Masa ziarniaków z 1m <sup>2</sup> [kg]
187	MAH 35111-1	0,73
188	MAH 35114-1	0,87
189	MAH 35140-1	0,85
190	MAH 35151-1	0,79
191	MAH 35172-1	0,52
192	MAH 35182-1	0,80
193	MAH 35198-1	0,79
194	MAH 35231-1	0,72
195	MAH 35266-1	0,82
196	MAH 35296-1	0,72
197	MAH 35297-1	0,83
198	MAH 35306-1	0,76
199	MAH 35317-1	0,78
200	MAH 35330-1	0,82
201	MAH 34985-5	0,77
202	MAH 34762-6	0,65
203	MAH 34814-1	0,69
204	MAH 34859-2	0,75
205	MAH 34069-2	0,77
206	MAH 34159-1	0,73
207	MAH 34159-2	0,74
208	MAH 34070-4	0,63
209	L-9	0,63
210	MAH 34615-5	0,77
211	MAH 33881-15	0,67
212	MAH 33881-15	0,74
213	MAH 33938-1	0,62
214	MAH 34740-1	0,70
215	MAH 34752-5	0,69
216	MAH 34861-2	0,75
217	MAH 34877-1	0,43
218	MAH 33742-1	0,78
219	MAH 33072-2	0,71
220	MAHD 35188-1	0,58
221	MAHD 35188-2	0,62
222	MAHD 35188-3	0,60
223	MAHD 35188-4	0,55
224	MAHD 35188-5	0,62
225	MAHD 35188-6	0,52
226	MAHD 35188-7	0,61
227	MAHD 35188-8	0,65
228	MAHD 35188-9	0,62
229	MAHD 35188-10	0,59
230	MAHD 35188-11	0,56

Lp	Genotyp	Masa ziarniaków z 1m <sup>2</sup> [kg]
231	MAHD 35188-12	0,65
232	MAHD 35188-13	0,73
233	MAHD 35188-14	0,62
234	MAHD 35188-15	0,64
235	MAHD 35188-16	0,64
236	MAHD 35188-17	0,69
237	MAHD 35188-18	0,58
238	MAHD 35013-1	0,70
239	MAHD 35081-7	0,56
240	MAHD 35205-1	0,72
241	MAHD 35269-1	0,81
242	MAHD 35318-1	0,73
243	MAHD 35323-1	0,64
244	MAHD 35318-4	0,63
245	MAH 34097-1	0,71
246	MAH 34752-1	0,67

Lp	Genotyp	Masa ziarniaków z 1m <sup>2</sup> [kg]
247	MAH 34732-1	0,69
248	MAH 34863-4	0,61
249	MAHD 34831-1	0,65
250	MAH 35657-1	0,76
251	MAH 34858-17	0,41
252	MAH 35226-1	0,60
253	MAH 35062-1	0,56
254	MAH 34615-10	0,62
255	MAH 34837-1	0,53
256	MAH 33097-2	0,56
257	MAHD 35032-95	0,66
258	MAH 35008-71	0,60
259	MAH 35008-72	0,61
260	MAH 35015-2	0,53
261	Cyrkon	0,66

**Tabela 3.** Plonowanie analizowanych genotypów pochodzących ze spółki DANKO.

Lp	Genotyp	Masa ziarniaków z 1m <sup>2</sup> [kg]
1	DANKO_1	0,99
2	DANKO_2	0,97
3	DANKO_3	1,10
4	DANKO_4	1,06
5	DANKO_5	0,91
6	DANKO_6	0,92
7	DANKO_7	0,89
8	DANKO_8	0,88
9	DANKO_9	0,85
10	DANKO_10	0,87
11	DANKO_11	0,91
12	DANKO_12	0,90
13	DANKO_13	0,99
14	DANKO_14	0,96
15	DANKO_15	1,00
16	DANKO_16	1,00
17	DANKO_17	1,02
18	DANKO_18	0,96
19	DANKO_19	0,97
20	DANKO_20	0,97
21	DANKO_21	0,94
22	DANKO_22	1,01
23	DC_719/07/1	1,16
24	DC_719/07/2	1,19

Lp	Genotyp	Masa ziarniaków z 1m <sup>2</sup> [kg]
25	DC_08220-4	1,07
26	DC_07051/01/1	1,22
27	DC_07051/01/2	1,26
28	DC_07063/01	1,19
29	DC_07063/03	1,14
30	DC_07073/05	1,15
31	DC_07254/01	1,16
32	DD_61/11	0,99
33	DD_76/11	1,19
34	DD_144/11	1,18
35	DD_175/11	1,12
36	DT_270/11	1,17
37	DD_293/11	1,06
38	DL_643/09	1,12
39	DL_378/10	1,03
40	DL_402/11	0,95
41	DL_525/11	1,13
42	DL_593/11	1,17
43	DL__1112/10	0,87
44	DL__1113/10	0,86
45	LM_18/12	1,20
46	CM_15/13	1,03
47	LM_58/13	1,11
48	DS_4211/11	1,06

Lp	Genotyp	Masa ziarniaków z 1m <sup>2</sup> [kg]
49	DS_2882/12	1,07
50	CT 08006/12	1,05
51	CT 08033/13/1	1,06
52	CT 08033/13/2	1,06
53	CT 08108/04	1,00
54	CT 08203/05	1,08
55	CT 08221/08	0,96
56	CT 08224/05	0,95
57	CT 08255/05	0,88
58	DD 166/12	0,89
59	DD 167/12	0,94
60	DD 208/12	0,89
61	DD 220/12	0,83
62	DL 292/12	0,84
63	DL 1213/12	0,92
64	DL 1246/12	0,74
65	DL 1247/12	0,98
66	DL 1248/12	0,85
67	CM 31/13	0,88
68	SM 7/13	0,90
69	SM 12/13	1,00
70	DS 2607/11	0,87
71	DS 3072/12	0,98
72	DS 3217/12	0,64
73	DS 3468/12	0,97
74	DS 3981/11	0,99
75	DS 2888/11	0,93
76	DS 4320/13	0,98
77	DS 1424/14	0,91
78	cL 368/08	0,95
79	cD 197/08	0,71
80	TJ 07276/01	0,93
81	CT 10169-12	0,82
82	CT 10258-12	0,91
83	CT 10275-27	0,85
84	CT 10047-78	0,93
85	CT 10047-127	0,82
86	CT 10104-62	0,96
87	CT 10104-74	0,72
88	DD 436/12	0,92
89	DD 455/12	0,86
90	DD 456/12	0,91
91	DL 532/12	0,88
92	DL 1299/12	0,92

Lp	Genotyp	Masa ziarniaków z 1m <sup>2</sup> [kg]
93	DL 1337/12	0,98
94	DL 1420/12	0,80
95	LM 15/13	1,03
96	SM 17/13	1,05
97	SM 27/13	1,02
98	DS 2432/14	0,84
99	DS 2551/14	0,86
100	DS 4660/10-1	1,00
101	DS 4101/11-1	0,99
102	DS 4397/13	1,01
103	DS 1929/14	0,77
104	DS 1475/14	1,15
105	CT 08045/01	1,12
106	cD 175/08	1,17
107	cD 233/08/1	1,08
108	cD 233/08/2	0,90
109	cD 371/08	1,06
110	CT 10009-13	0,94
111	CT 10035-36	0,94
112	CT 10035-39	0,96
113	CT 10169-11	0,99
114	CT 10254-12	1,04
115	DD 225/12	1,06
116	DD 339/12	1,02
117	DL 384/12	1,05
118	DL 446/12	0,94
119	DL 451/12	1,03
120	DL 472/12	1,03
121	DL 1227/12	0,99
122	DL 1256/12	1,07
123	DL 1261/12	0,99
124	DS 2817/11	1,08
125	DS 4043/13	0,97
126	DS 4254/13	0,96
127	CT 10047-106	0,97
128	CT 10047-125	1,06
129	CT 10047-159	0,96
130	CT 10047-190	1,01
131	CT 10047-192	0,94
132	CT 10047-229	1,08
133	CT 10047-232	0,95
134	CT 10047-233	0,94
135	CT 10240-48	1,03
136	DD 379/12	0,89



Lp	Genotyp	Masa ziarniaków z 1m <sup>2</sup> [kg]
137	DD 381/12	0,88
138	DL 496/12	0,90
139	DL 541/12	0,92
140	DL 551/12	0,89
141	DL 678/12	1,02
142	DL 1343/12	0,88
143	DL 1400/12	0,80
144	DL 1410/12	0,90
145	LM 52/13	0,99
146	DS 4048/13	0,98
147	DS 4019/13	0,85
148	DS 1426/14	0,96
149	Fredro	0,90
150	Tomko	0,84
151	Meloman	0,99
152	Subito	0,98
153	DD_333/09	0,96
154	LAD_2/07	0,62
155	LAD_5/07	1,07
156	LAD_20/11	0,78
157	DS 2931/11	0,79
158	DL 593/07	0,92
159	LAD 21/11	0,75
160	LAD 23/12	0,89
161	DC 07064-16	0,84
162	DL 26/13	0,95
163	LD_122/08	0,86
164	LAD_3/07	0,80
165	LAD_6/07	0,74
166	LAD_9/08	0,82
167	LAD_16/09	0,66
168	Gringo	0,80
169	DC_228/05/02	0,94
170	DL 643/09	0,92
171	DL 386/10	0,84

Lp	Genotyp	Masa ziarniaków z 1m <sup>2</sup> [kg]
172	LAD 11/08	0,86
173	DC 06013/03	0,99
174	DL 1113/10	0,81
175	LAD 22/11	0,97
176	DC 169/06	0,92
177	DS 3	0,96
178	DC 07004-4	0,90
179	DS 9	0,98
180	DS 4550/11	0,82
181	L-138	0,80
182	L-139	0,96
183	L-140	1,01
184	L-141	1,00
185	L-142	0,98
186	L-143	0,84
187	L-144	0,77
188	L-145	0,76
189	L-146	0,98
190	L-147	0,78
191	L-148	0,87
192	L-149	1,02
193	L-150	0,87
194	L-200	0,92
195	L-201	0,96
196	L-202	0,88
197	L-203	0,93
198	L-204	0,84
199	L-205	1,00
200	L-206	0,98
201	L-207	0,87
202	L-208	1,04
203	L-209	0,85
204	L-210	1,02
205	L-211	0,98

**Tabela 4.** Plonowanie analizowanych genotypów pochodzących z kolekcji Instytutu Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin, Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie.

Lp	Genotyp	Masa ziarniaków z 1m <sup>2</sup> [kg]
1	Triticale 1	1,04
2	Triticale 2	0,98
3	Triticale 3	0,89
4	Triticale 4	0,81

## Dyskusja

Średni plon pszenżyta w warunkach Polski wynosi obecnie według danych literaturowych ok. 4,2 Mg/ha (Jaśkiewicz 2016, Sobkowicz i in. 2016). Najwyższe plony pszenżyta uzyskuje się na glebach zaliczanych do glin lekkich, pyłów zwykłych, a także do piasków gliniastych mocnych położonych na glinach lekkich. Bardzo ważnym czynnikiem wpływającym na plonowanie pszenżyta jest odpowiednie nawożenie (Małecka i in. 2004). W badaniach własnych średni plon pszenżyta uzyskany dla analizowanych genotypów wynosił 8 Mg/ha. Wynik ten sugerować może, że w warunkach doświadczeń polowych prowadzonych na potrzeby projektu według ustalonych założeń, badane formy pszenżyta ujawniają w pełni swój potencjał plonotwórczy. Jest to warunkiem koniecznym do poprawnej determinacji zależności pomiędzy plonowaniem, a profilem markerów DArT uzyskanym w zadaniu 1.

## Wnioski

1. Średni plon pszenżyta uzyskany w badaniach wyniósł 8 Mg/ha i był znacznie wyższy niż średni plon uzyskiwany dla tego zboża w warunkach uprawy w gospodarstwach rolnych w Polsce, co potwierdza poprawność założeń przyjętego schematu doświadczeń polowych.
2. Analizowane formy pszenżyta charakteryzowały się dość dużym stopniem zróżnicowania pod względem plonowania (od 3,8 do 12,6 Mg/ha), co pozwoli na określenie profilu markerów DArT dla form zarówno o bardzo niskim, jak i wysokim plonowaniu.

## Mierniki dla tematu badawczego 2 (podać w tabeli)

Lp.	Miernik <sup>3</sup>	Wartość miernika podana w opisie zadania	Wartość miernika zrealizowana
1	Liczba genotypów pszenżyta wysianych w warunkach doświadczenia polowego	500	470*

\* do wysiewu przeznaczono tylko formy zgenotypowane w zadaniu 1

## 2.3. Temat badawczy 3: Mapowanie genetyczne/asocjacyjne oraz wybór na podstawie uzyskanych wyników komponentów rodzicielskich do krzyżowań.

### Cel tematu badawczego 3

Celem tematu badawczego była obróbka bioinformatyczna uzyskanych wyników genotypowania i przygotowanie danych wsadowych dla procedury mapowania asocjacyjnego.

### Materiały i metody

Przed przystąpieniem do procedury mapowania dane uzyskane z genotypowania techniką DArTseq zostały poddane kontroli jakości oraz obróbce bioinformatycznej, tak aby uzyskać plik wsadowy o strukturze właściwej dla oprogramowania TASSEL. Dane uzyskane w formie markerów przekształcone zostały w maczyce binarne i usystematyzowane w oparciu o lokalizację chromosomową. W celu minimalizacji błędów z dalszych analiz wykluczono obiekty w przypadku których ilość danych utraconych przekroczyła poziom 30%.

### Wyniki

W wyniku realizacji zadania dokonano przekształcenia surowego zestawu danych otrzymanych z Diversity Arrays Technology do postaci usystematyzowanego pliku wsadowego, umożliwiającego wykonanie procedury mapowania z wykorzystaniem dedykowanego oprogramowania (rys. 3).

<sup>3</sup> Podać miernik – np. ilość testów, prób, badanych genotypów etc.

**Rys. 3.** Fragment pliku wsadowego przeznaczony do procedury mapowania.

W wyniku kontroli jakości uzyskanych danych, spośród 470 obiektów poddanych genotypowaniu z dalszych analiz wykluczono 15, ze względu na ilość utraconych danych przekraczającą 30%.

### Dyskusja

W przypadku wysokoprzepustowych analiz genetycznych nie zawsze możliwe jest uzyskanie 100% danych dla każdego z badanych obiektów. W przypadku techniki DArT średnia ilość danych utraconych przypadająca na pojedynczy marker wynosi od 2% do 4% (Poland i in. 2012, Zhang i in. 2012, Iehisa i in. 2014). Mając na uwadze fakt, że duża ilość danych utraconych w przypadku pojedynczej badanej formy wpłynąć może na znaczne zwiększenie błędu i wnioskowanie, przed przystąpieniem do ich analizy standardowo dokonuje się kontroli jakości i usuwa obiekty charakteryzujące się dużą ilością danych utraconych. W projekcie przyjęto wartość graniczą danych utraconych nie przekraczającą 30%. Obiekty nie spełniające tego założenia zostały całkowicie wykluczone z dalszych etapów analizy. W dotychczasowych badaniach wykorzystujących technikę DArT u pszenżyta ilość obiektów wykluczanych z analizy na bazie danych utraconych wynosiła ok. 3% (Niedziela i in. 2012). W bieżącym projekcie uzyskano analogiczny rezultat – 3,2% badanych genotypów charakteryzowała utrata powyżej 30% danych.

### Wnioski

1. Usunięcie 15 obiektów o ilości danych utraconych >30% nie wpłynie znacząco na charakterystykę genetyczną badanej populacji form pszenżyta, przyczyni się natomiast do obniżenia błędu w trakcie dalszych analiz.

### Mierniki dla tematu badawczego 3 (podać w tabeli)

Lp.	Miernik <sup>4</sup>	Wartość miernika podana w opisie zadania	Wartość miernika zrealizowana
1	Zestaw danych wsadowych do mapowania	1	1

### 3. 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 <sup>5</sup>	Liczba prezentacji podana w opisie zadania	Liczba prezentacji zrealizowana
1	-	-	0	0
Publikacje w monografiach/czasopismach recenzowanych				

<sup>4</sup> Podać miernik – np. ilość testów, prób, badanych genotypów etc.

<sup>5</sup> Podać, czy chodzi o wykład plenarny, doniesienie konferencyjne czy poster.

Lp.	Monografia/Czasopismo	Publikacja <sup>6</sup>	Liczba publikacji podana w opisie zadania	Liczba publikacji zrealizowana
1	-	-	0	0

Jeśli któryś z mierników nie został zrealizowany należy podać przyczyny.

Załączniki<sup>7</sup>:

Nie dotyczy

#### 4. Miernik zadania – stopień realizacji

Lp.	Miernik	Wartość miernika podana w opisie zadania	Wartość miernika zrealizowana	Stopień realizacji zadania
1	2	3	4	5
<b>Temat badawczy 1</b>				
1.1	Liczba genotypów pszenżyta ze zdefiniowanym profilem markerów DArT	500	470	0,94
<b>Temat badawczy 2</b>				
2.1	Liczba genotypów pszenżyta wysianych w warunkach doświadczenia polowego	500	470	0,94
<b>Temat badawczy 3</b>				
3.1	Zestaw danych wsadowych do mapowania	1	1	1,00
			<b>ŚREDNIA</b>	0,96
			<b>% REALIZACJI ZADANIA</b>	<b>96,0%</b>

Sporządzono: 11.01.2017 r.

<sup>6</sup> Podać, czy chodzi o publikację oryginalną, czy np. polemika, list do edytora, rozdział w monografii etc.

<sup>7</sup> Podać listę oraz dołączyć do sprawozdania kopie posterów/wyciągi z materiałów konferencyjnych/publikacje etc. W nawiasie podać, na której stronie sprawozdania znajdują się prezentowane wyniki.