

UNIwersytet PRZYRODniczy w LUBLINIE

Wydział Agrobiotechnologii  
Dyscyplina naukowa Rolnictwo i Ogrodnictwo

Aneta Koroluk

*Rozprawa doktorska*

**Charakterystyka puli genowej polskich odmian i linii hodowlanych owsa zwyczajnego  
(*Avena sativa* L.) oraz ocena możliwości jej poszerzenia  
poprzez krzyżowanie międzygatunkowe**

*Characteristics of the gene pool of Polish cultivars and breeding lines of common oat  
(*Avena sativa* L.) and the possibility of its broadening by interspecific crosses*

Rozprawa doktorska wykonana w  
Instytucie Genetyki Hodowli i Biotechnologii Roślin

Promotor: dr hab. Edyta Paczos-Grzęda, profesor uczelni  
Promotor pomocniczy: dr Sylwia Sowa

Lublin 2024

*Serdeczne podziękowania kieruję w stronę Pani Promotor,  
dr hab. Edyty Paczos-Grzędy prof. uczelni,  
za nieocenioną pomoc, wsparcie i opiekę naukową w trakcie  
prowadzonych badań i przygotowania rozprawy doktorskiej.  
Szczególnie dziękuję za zaszczepienie we mnie wiele lat temu  
fascynacji światem nauki i doświadczeniami nad owsem  
oraz za zaufanie i wiarę wobec moich naukowych możliwości.*

*Specjalne podziękowania składam  
Pani Promotor dr Sylwii Sowie,  
za wiele cennych wskazówek oraz merytorycznych rad  
w opracowaniu rozprawy doktorskiej.  
Bardzo dziękuję za koleżeńskie i naukowe wsparcie.*

*Wyrażam wdzięczność pracownikom  
Instytutu Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin  
za życzliwość oraz wszelką okazaną pomoc.*

*Niniejszą pracę dedykuję mojemu mężowi Tomaszowi  
za wspieranie mnie na drodze rozwoju osobistego,  
dzieciom Celinie i Filipowi, którzy byli dla mnie motywacją  
oraz rodzicom za bezwarunkową pomoc.*

*mgr inż. Aneta Koroluk*

Oświadczenie promotora rozprawy doktorskiej

Oświadczam, że niniejsza rozprawa doktorska została przygotowana pod moim kierunkiem i stwierdzam, że spełnia ona warunki do przedstawienia jej w postępowaniu o nadanie stopnia naukowego.

*Edyta Pecos-Gusda*

Data 15.02.2024 r.

Podpis promotora .....

Oświadczenie autora rozprawy doktorskiej

Świadom/a odpowiedzialności prawnej oświadczam, że:

- niniejsza rozprawa doktorska została przygotowana przez mnie samodzielnie pod kierunkiem Promotora i Promotora pomocniczego i nie zawiera treści uzyskanych w sposób niezgodny z obowiązującymi przepisami.
- przedstawiona rozprawa doktorska nie była wcześniej przedmiotem procedur związanych z uzyskaniem stopnia naukowego.
- niniejsza wersja rozprawy doktorskiej jest tożsama z załączoną na płycie CD/pendrive wersją elektroniczną.

*Ameta Korduli*

Data 15.02.2024 r.

Podpis autora .....

## Wykaz powiązanych tematycznie prac naukowych wchodzących w skład cyklu publikacji stanowiących rozprawę doktorską

Wyniki niniejszej rozprawy doktorskiej zostały opublikowane w oryginalnych artykułach naukowych o sumarycznym IF wynoszącym 12,9 i łącznej liczbie punktów MEiN = 340. We wszystkich pracach jestem pierwszym autorem. Przeprowadzone badania były częścią projektu pt. „Mapowanie sprzężeniowe i asocjacyjne owsa zwyczajnego”, realizowanego w Instytucie Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin UP w Lublinie w latach 2014-2020 w ramach badań podstawowych na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej, finansowanego przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi, którego kierownikiem była dr hab. Edyta Paczos-Grzęda, profesor uczelni.

- P.1. Koroluk A., Paczos-Grzęda E.\*, Sowa S., Boczkowska M., Toporowska J. 2022. Diversity of Polish oat cultivars with a glance at breeding history and perspectives. Agronomy-Basel 12(10), 2423. DOI: 10.3390/agronomy12102423.**

**IF: 3,7; MEiN: 100 pkt**

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na udziale w opracowaniu koncepcji badań i sformułowaniu hipotezy badawczej. Przygotowałam i pobierałam materiał roślinny, prowadziłam izolację DNA, ocenę jego parametrów oraz analizy molekularne. Brałam udział w procesie analizy statystycznej uzyskanych danych oraz uczestniczyłam w tworzeniu pierwotnej wersji manuskryptu. Mój udział procentowy szacuję na 50%.*

- P.2. Koroluk A., Sowa S., Boczkowska M., Paczos-Grzęda E.\* 2023. Utilizing Genomics to Characterize the Common Oat Gene Pool—the Story of More than a Century of Polish Breeding. Int. J. Mol. Sci. 24(7), 6547. DOI: 10.3390/ijms24076547.**

**IF: 5,6; MEiN: 140 pkt**

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na współudziale w tworzeniu koncepcji badań; zaplanowaniu doświadczenia i przeprowadzeniu analiz laboratoryjnych obejmujących przygotowanie i pobieranie materiału roślinnego, izolację DNA, ocenę parametrów ilościowych i jakościowych uzyskanych preparatów oraz przygotowanie materiału do wysyłki w celu przeprowadzenia analiz przez firmę zewnętrzną. Uczestniczyłam w analizie statystycznej uzyskanych danych oraz tworzyłam pierwotną wersję manuskryptu. Mój udział procentowy szacuję na 50%.*

- P.3. Koroluk A., Sowa S., Paczos-Grzęda E.\* 2022. Characteristics of progenies derived from bidirectional *Avena sativa* L. and *Avena fatua* L. crosses. Agriculture 12(11), 1758. DOI: 10.3390/agriculture121117**

**IF: 3,6; MEiN: 100 pkt**

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na udziale w opracowaniu koncepcji badań, zaplanowaniu i przeprowadzeniu eksperymentu polowego, pielęgnacji roślin w trakcie wegetacji, ocenie cech plonotwórczych roślin w warunkach polowych oraz po zbiorze. Byłam zaangażowana w proces analizy statystycznej uzyskanych danych oraz pisanie manuskryptu. Mój udział procentowy szacuję na 60%.*

## Spis treści

---

Spis treści.....	5
Streszczenie .....	6
Summary.....	8
1. Wprowadzenie .....	10
1.1. Podstawowe informacje o rodzaju <i>Avena</i> .....	10
1.2. Udomowienie <i>Avena sativa</i> .....	11
1.3. Charakterystyka <i>Avena sativa</i> .....	11
1.4. Hodowla owsa w Polsce .....	12
1.5. Gatunki dzikie jako źródło zmienności genetycznej w hodowli owsa.....	13
1.6. <i>Avena fatua</i> jako chwast i rezerwuar korzystnych alleli.....	14
1.7. Badania zmienności genetycznej owsa.....	16
2. Hipotezy i cele badawcze.....	17
3. Materiał i metody badawcze.....	18
4. Omówienie wyników badań z elementami dyskusji.....	23
4.1. Analiza rodowodów oraz zróżnicowania genetycznego polskich historycznych i współczesnych odmian owsa zwyczajnego .....	23
4.2. Ocena zróżnicowania genetycznego polskich materiałów hodowlanych owsa na tle odmian krajowych i zagranicznych. ....	27
4.3. Ocena cech plonotwórczych mieszańców międzygatunkowych owsa zwyczajnego z <i>A. fatua</i> .32	
5. Stwierdzenia i wnioski .....	37
6. Bibliografia .....	39
7. Publikacje wchodzące w skład rozprawy doktorskiej.....	47
8. Oświadczenia doktoranta i współautorów dotyczące ich wkładu w przygotowanie publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej.....	109

## Streszczenie

---

Owies zwyczajny (*Avena sativa* L.) jest zbożem wykorzystywanym w żywieniu człowieka i zwierząt, o udokumentowanych właściwościach prozdrowotnych, mającym duże znaczenie gospodarcze nie tylko w Europie, ale również w Australii, Ameryce Płn. i Azji. Hodowla tego gatunku koncentruje się przede wszystkim na poprawie zdolności plonotwórczych. Zwiększenie efektywności tradycyjnej hodowli można osiągnąć wykorzystując precyzyjne genotypowanie dostarczające wiedzy na temat różnorodności alleli dostępnych w zasobach genetycznych, a w kolejnym etapie selekcję wspomaganą markerami.

Celem rozprawy doktorskiej było zbadanie zróżnicowania oraz struktury genetycznej współczesnych i historycznych polskich odmian i linii hodowlanych owsa zwyczajnego w oparciu o analizę rodowodów oraz ocenę polimorfizmu markerów molekularnych typu ISSR, REMAP oraz SNP. Na podstawie analiz cech agronomicznych mieszańców międzygatunkowych owsa zwyczajnego z owsem głuchym określono również możliwość poszerzenia puli genowej gatunku uprawnego o nowe allele występujące u spokrewnionych form dzikich.

Analiza rodowodowa pozwoliła na identyfikację pięciu głównych przodków polskich odmian owsa oraz wykazała duży udział odmian niemieckich w kształtowaniu puli genetycznej wykorzystywanej w polskiej hodowli tego gatunku. Analiza struktury genetycznej polskich odmian owsa z wykorzystaniem metod ISSR i REMAP potwierdziła małe zróżnicowanie genetyczne współczesnych odmian, a jednocześnie ich odrębność od odmian historycznych postulowaną we wcześniejszych badaniach. Zastosowanie nowoczesnych narzędzi genomicznych umożliwiło szczegółową charakterystykę 487 form owsa, w tym linii hodowlanych pochodzących z trzech firm hodowlanych, współczesnych i historycznych odmian polskich oraz odmian zagranicznych. Przeprowadzone analizy mutacji punktowych typu SNP identyfikowanych metodą DArTseq wykazały, że podczas 120-letniego procesu hodowli owsa w Polsce tylko 67 alleli z historycznej puli genów zostało utraconych, a obecne programy hodowlane wprowadziły do puli genowej owsa 673 nowe allele. Analiza markerów DArTseq wykazała, że ślady ukierunkowanej selekcji są szczególnie widoczne na subgenomach A i D, głównie na chromosomie 6A i w mniejszym stopniu na chromosomie 5D, a jednocześnie zmiany następowały najrzadziej w chromosomach subgenomu C. Z przeprowadzonych badań wynika także, że polska

hodowla owsa oparta głównie na tradycyjnych metodach hodowli i nastawiona na doskonalenie ważnych agronomicznie cech, tj. plonu i jakości ziarna oraz odporności na choroby czy zdolności adaptacyjnych do warunków środowiska, nie zawężyła w istotny sposób puli genowej owsa. Polscy hodowcy stworzyli odmiany, które są nie tylko konkurencyjne na rynku europejskim, ale stanowią także rezerwuar nowych alleli, których nie ma w analizowanych materiałach zagranicznych.

Z uwagi na to, że wykazano małe zróżnicowanie genetyczne odmian owsa, równolegle prowadzono liczne krzyżowania międzygatunkowe, w wyniku których otrzymywano materiały wyjściowe do hodowli. Jednym z podjętych problemów badawczych było określenie wpływu kierunku krzyżowania z *A. fatua* na fenotyp uzyskiwanych mieszańców. Najważniejszymi wnioskami wypływającymi z oceny cech fenotypowych mieszańców owsa zwyczajnego z owsem głuchym jest brak korelacji pomiędzy osypywaniem, charakterystycznym dla form dzikich, a analizowanymi cechami agronomicznymi oraz brak wpływu kierunku krzyżowania na badane cechy z wyjątkiem długości dokłosa, która w badanych populacjach dziedziczona była po linii matecznej. Na tej podstawie można stwierdzić, że krzyżowanie z *A. fatua* przyczynia się do poszerzenia zmienności genetycznej owsa, ale z uwagi na ogólnie mniejszą użyteczność agronomiczną powstałych mieszańców potencjał hodowlany wykazują tylko niektóre transgresywne segreganty.

Analiza uzyskanych wyników nie tylko umożliwiła ocenę efektów dotychczasowych prac prowadzonych w ramach polskich programów hodowlanych owsa, ale stanowi również cenną wskazówkę do opracowania planów przyszłych działań w tym gatunku.

**Słowa kluczowe:** DArTseq, mieszańce międzygatunkowe, owies zwyczajny, ukierunkowana selekcja, zróżnicowanie genetyczne

## Summary

---

Common oat (*Avena sativa* L.) is a cereal used in human and animal nutrition, with documented health-promoting properties and of great economic importance not only in Europe but also in Australia, North America and Asia. Oat breeding focuses primarily on improving its yield-producing abilities. An increase in traditional breeding efficiency can be achieved by using precise genotyping, which provides knowledge about the diversity of alleles available in genetic resources, followed by marker-assisted selection.

The doctoral dissertation aimed to examine the diversity and genetic structure of contemporary and historical Polish varieties and breeding lines of common oat based on the pedigree analysis and the assessment of ISSR, REMAP and SNP molecular markers polymorphism. Based on the analysis of the agronomic traits of common oat and wild *A. fatua* interspecific hybrids, the possibility of expanding the *A. sativa* gene pool with new alleles occurring in related wild species was also determined.

Pedigree analysis allowed the identification of five main ancestors of Polish oat cultivars and showed a large contribution of German varieties in shaping the gene pool used in Polish oat breeding. The genetic structure analysis of Polish oat varieties using the ISSR and REMAP methods confirmed the low genetic diversity of modern cultivars and, simultaneously, their distinctiveness from historical varieties, which was postulated in previous studies. The use of modern genomic tools enabled a detailed characterization of 487 oat forms, including breeding lines from three breeding companies, contemporary and historical Polish cultivars and foreign varieties. The analyzes of DArTseq identified SNP point mutations demonstrated, that during the 120-year oat breeding process in Poland, only 67 alleles from the historical gene pool were lost, and current breeding companies introduced 673 new alleles to the oat gene pool. The DArTseq markers analysis revealed the particular presence of directed selection traces on the A and D subgenomes, mainly on chromosome 6A and, to a lesser extent, on chromosome 5D, with the least frequent changes in the C subgenome chromosomes. The research also shows that Polish oat breeding, based mainly on traditional breeding methods and focused on improving agronomically important features, i.e. grain yield and quality, disease resistance and adaptability to environmental conditions, has not significantly narrowed the oat gene pool. Polish breeders have created cultivars that are not only competitive on the European market but also constitute a reservoir of new alleles that are not present in the analyzed foreign materials.



Due to the low genetic diversity of oat cultivars, numerous interspecific crosses were carried out in parallel to obtain oat breeding starting materials. One of the research goals was to determine whether crossbreeding with *A. fatua* and the crossing direction affects the phenotype of the obtained hybrids. The assessment of the phenotypic traits of *A. sativa* and *A. fatua* hybrids allowed to conclude the lack of correlation between shattering, typical trait of wild forms, and the remaining agronomic characteristics. Furthermore, no influence of the crossing direction on the hybrid populations examined parameters was found, except for the length of the first internode below the panicle which seemed to be inherited from the maternal form. On this basis, it can be concluded that crossbreeding with *A. fatua* contributes to the oats genetic variability expansion, but due to the generally lower agronomic usefulness of the obtained hybrids, only some transgressive segregants show breeding potential.

The analysis of the obtained results enabled the assessment of Polish oat breeding programs' current work and above all may be a guide to developing long-term strategies beneficial to modern oat breeding.

**Key words:** DARTseq, interspecific hybrids, common oat, targeted selection, genetic diversity

# 1. Wprowadzenie

---

## 1.1. Podstawowe informacje o rodzaju *Avena*

Owies zwyczajny (*Avena sativa* L.) należy do rodzaju *Avena* L., podplemienia *Aveninae* Presl, płemienia *Aveneae* Dumort, podrodziny *Pooideae* Macfarlane & Watson, rodziny *Poaceae* Barnh (Frey i Rutkowski 2002). Rodzaj *Avena* L. obejmuje zarówno gatunki uprawne, jak i dzikie, różniące się poziomem ploidalności: diploidalne, tetraploidalne oraz heksaploidalne, o podstawowej liczbie chromosomów  $x=7$  (Rajhathy i Thomas 1974, Leggett i Thomas 1995). Według systematyki opracowanej przez Bauma (1977), a uaktualnionej przez Zellera (1998), Mohler'a i in. (2023) oraz Jellen'a i in. (2024) rodzaj ten obejmuje 30 gatunków, w tym 16 diploidalnych ( $2n=2x=14$ ), 8 tetraploidalnych ( $2n=4x=28$ ) i 6 heksaploidalnych ( $2n=6x=42$ ). Wszystkie gatunki z wyjątkiem *A. macrostachya* Bal. ex. Coss. et Dur. są jednoroczne i samopylne, a zdecydowana większość z nich to formy dzikie (Leggett 1996). Największe znaczenie wśród form uprawnych mają gatunki heksaploidalne: *A. sativa* L. (owies zwyczajny) oraz *A. byzantina* C. Koch. (owies bizantyjski, owies czerwony). Na mniejszą skalę uprawiany jest diploidalny *Avena strigosa* Scheb. (owies szorstki), niewielki udział mają również diploidy *A. nuda* L., *A. brevis* Rotch. i *A. hispanica* Ard. (Baum 1977) oraz tetraploid *A. abyssinica* Hochst (Zeller 1998).

W powstawaniu gatunków w obrębie rodzaju *Avena* podstawową rolę odegrały dwa mechanizmy: strukturalne różnicowanie chromosomów oraz krzyżowanie i podwajanie liczby chromosomów u mieszańców (Rajhathy i Thomas 1974, Mohler i in. 2023). Analizując strukturę kariotypów oraz oceniając sposób koniugacji chromosomów podczas mejozy, zidentyfikowano 4 podstawowe homeologiczne genomy występujące w obrębie rodzaju: A, B, C oraz D w kombinacjach: AA i CC u diploidów, AABB, CCDD i DDDD u tetraploidów oraz AACCCDD u heksaploidów (Rajhathy i Thomas 1974, Loskutov i Rines 2011, Yan i in. 2016; Yan i in. 2021, Tomaszewska i in. 2022). Odrębne oznaczenie dla genomów wieloletniego, autotetraploidalnego owsa *A. macrostachya* (EEEE) zaproponowano ze względu na jego wyjątkowy kariotyp (Badaeva i in. 2010) i trudności w krzyżowaniu z gatunkami *Avena* posiadającymi genomy A, B lub D, przy nieco większej zgodności z genomem C (Jellen i in. 2024).

## 1.2. Udomowienie *Avena sativa*

Owies zwyczajny (*Avena sativa* L.) to wtórny gatunek uprawny, który na początku towarzyszył jako chwast segetalny uprawom jęczmienia i pszenicy, będącymi pierwotnymi zbożami udomowionymi przez człowieka na Bliskim Wschodzie w erze neolitycznej (Murphy i Hoffman 1992). Choć wysiłki ówczesnego człowieka były skierowane na udomowienie pierwotnych roślin uprawnych, to wywarły również niezamierzoną presję selekcyjną na będące chwastami trawy, takie jak żyto i owies (Zohary i Hopf 1993). Chwasty te ostatecznie zyskały status wtórnych roślin uprawnych wypierając pierwotne rośliny uprawne w rejonach o niesprzyjających warunkach glebowych i/lub klimatycznych. Najstarsze europejskie znaleziska owsa pochodzą z okresu brązu i dotyczą głównie owsa szorstkiego (ok. 2400 lat p.n.e.) (Lewicki i Mazurek 1971), zaś dostępne dowody archeologiczne dotyczące owsa zwyczajnego świadczą, że gatunek ten był uprawiany w centralnej i północnej Europie w epoce brązu i żelaza (Klichowska 1972, Baum 1977, Górny 2005).

## 1.3. Charakterystyka *Avena sativa*

W przeszłości owies zwyczajny uprawiano głównie z przeznaczeniem na paszę, obecnie, z uwagi na wysoką wartość odżywczą, doceniany jest również jako pokarm dla człowieka (Bartnikowska i in. 2000). Na wyjątkowe walory żywieniowe ziarna składają się m.in. wysoka zawartość tłuszczu (5-10%), w którym przeważają wielonienasycone kwasy tłuszczowe: oleinowy i linolowy oraz wysoka zawartość białka (11 do 15% s.m.) z dużym udziałem aminokwasów egzogennych, frakcją globulin stanowiącą 50-80% oraz prolamin, zwanych u owsa aveninami – 20% (Gašiorowski 1999). Włókno pokarmowe stanowi w owsie pozbawionym plew do 12,5%, z czego 50% to rozpuszczalne w wodzie  $\beta$ -glukany o działaniu przeciwmiażdżycowym, przeciwcukrzycowym i zapobiegające otyłości (Pisulewska i in. 1999). Ziarno owsa jest bogatym źródłem witamin (B1, E, kwasu pantotenowego), lecytyny oraz składników mineralnych takich jak: żelazo, wapń, magnez, mangan, cynk, krzem i miedź (Mazurek i in. 1993, Jasińska 1999, Pizło i in. 1999). Zawiera również całą gamę związków fenolowych: flawonony, flawonole, flawony, chalkony, antocyjanidyny, aminofenole, chinony, kwas benzoesowy i cynamonowy (Pizło i in. 1999). Owies znajduje zastosowanie również jako surowiec w przemyśle kosmetycznym i farmaceutycznym (Jasińska 1999, Lentini i in. 2022).

Owies zwyczajny jest gatunkiem o mniejszych, w porównaniu z innymi zbożami, wymaganiach glebowych. Rośnie niemal na wszystkich glebach, które dobrze utrzymują

wodę, lecz nie są podmokłe. Nieprzydatne do jego uprawy są natomiast suche i ubogie rędziny. Wrażliwość owsa na odczyn gleby jest niewielka, jednak wysokie plony, a szczególnie wyższą efektywność nawożenia mineralnego, można uzyskać na glebach o pH powyżej 5,5 (Mazurek i in. 1993). Duże znaczenie ma uprawa owsa jako rośliny fitosanitarnej. Liczne doświadczenia wykazały, że jęczmień i pszenica uprawiane po owsie plonują lepiej niż po innych zbożach (Pawłowska i in. 1999).

Na początku ubiegłego wieku owies był jednym z najpowszechniej uprawianych zbóż na świecie. Obecnie areal jego uprawy wynosi ok. 9,5 mln ha, co stanowi 4,3% powierzchni zajmowanej przez pszenicę (219 mln ha) (FAOSTAT 2023). W przeszłości swoją popularność zawdzięczał głównie wykorzystaniu w żywieniu koni, jednak mechanizacja rolnictwa i transportu znacznie ograniczyła liczebność tych zwierząt, co wpłynęło także na niższą produkcję owsa (Spiss 2003). Przed II wojną światową owies w Polsce uprawiano na 2 mln ha, w latach 60. XX w. na ponad 1,5 mln ha (Spiss 2003), zaś obecnie, pomimo swoich cennych walorów odżywczych, owies uprawia się na niecałym 0,5 mln ha (GUS 2023). Pomimo to, od 2018 roku Polska jest czwartym producentem ziarna owsa na świecie, po Kanadzie, Federacji Rosyjskiej i Australii (FAOSTAT 2023). Niemniej jednak pod względem średniej wielkości plonu z hektara wynoszącym 3,2 t Polska plasuje się dopiero na 20 pozycji, podczas gdy liderzy rankingu, Irlandia, Wielka Brytania i Nowa Zelandia osiągają plony odpowiednio 8,3; 6,3 i 6,0 t z hektara zasiewów (FAOSTAT 2023).

#### **1.4. Hodowla owsa w Polsce**

Hodowla owsa zwyczajnego w Polsce, podobnie jak w Niemczech, Wielkiej Brytanii czy Szwecji, rozpoczęła się pod koniec XIX wieku. Pierwszą polską odmianą datowaną na 1893 r., wyhodowaną przez profesora Antoniego Sempołowskiego był 'Sobieszyński'. W okresie przedwojennym w uprawie znajdowały się głównie odmiany miejscowe oraz odmiany, których hodowlę prowadziły spółki hodowlane i prywatni hodowcy (Słaboński 1949). Niektóre z tych odmian uprawiane były jeszcze długo po wojnie np. Bartek Udycki czy Biały Mazur (Świerczewski i Mazaraki 1993). Jako, że wiele materiałów hodowlanych zostało utraconych w czasie II wojny światowej, w okresie powojennym polska hodowla owsa musiała zostać gruntownie przebudowana. Początkowo większość odmian uprawianych w kraju stanowiły selekcje z odmian niemieckich np. Przebój I i Przebój II, czy Proporczyk (Świerczewski i Mazaraki 1993, Spiss 2003). Nowe polskie odmiany będące efektem krzyżowania z odmianami i liniami zagranicznymi zaczęły pojawiać się w polskim rejestrze odmian rolniczych po roku 1977. Od tego czasu wpisano na listę kilkadziesiąt

nowych odmian, z których np. ‘Dragon’ pozostawał na liście aż 22 lata, a ‘Komes’ lat 14 (COBORU 2023). Badania zmienności genetycznej polskich odmian owsa pokazują, że zróżnicowanie zarówno w obrębie historycznych, jak i współczesnych pul genowych jest dość wąskie (Paczos-Grzęda 2004, Paczos-Grzęda 2007; Boczkowska i in. 2015; Boczkowska i Onyśk 2016). Istnieją jednakże duże różnice między tymi dwiema pulami, co oznacza, że historyczne odmiany owsa mogą być cennym źródłem korzystnych genów dla współczesnej hodowli. Co istotne, zarówno badania rodowodów, jak i analizy genetyczne wskazują, że tylko nieliczne odmiany historyczne znalazły zastosowanie w tworzeniu odmian współczesnych (Sowa i Paczos-Grzęda 2020a, Boczkowska i Onyśk 2016).

### 1.5. Gatunki dzikie jako źródło zmienności genetycznej w hodowli owsa

Jak wykazano w wielu badaniach, owies zwyczajny jest przykładem gatunku uprawnego o dość wąskiej puli genowej (Fu i in. 2005, Diederichsen 2007, Boczkowska i Tarczyk 2013), w którym postęp hodowlany pod koniec XIX i na początku XX wieku polegał głównie na powolnym lecz stałym wzroście plonu ziarna uzyskiwanym w efekcie krzyżowań międzyodmianowych. W połowie XX wieku odkryto, że źródłem zmienności genetycznej dla owsa zwyczajnego mogą być pokrewne gatunki dzikie z rodzaju *Avena* (Langer i in. 1978, Rodgers 1983, Frey 1986, Frey 1992), które przyporządkowano do trzech pul genowych, o różnym stopniu pokrewieństwa do owsa zwyczajnego, a więc o różnym nasileniu barier genetycznych wynikających z różnego poziomu ploidalności lub braku homologii genomów ograniczających wprowadzenie korzystnych genów z tych gatunków (Harlan i de Wet, 1971, Leggett i Thomas 1995). Do pierwszej puli genowej zaliczane są wszystkie gatunki heksaploidalne (*A. byzantina*, *A. sterilis*, *A. fatua*, *A. occidentalis*, *A. ludoviciana*). Swobodne przekazywanie genów do form uprawnych odbywa się poprzez konwencjonalne krzyżowanie i krzyżowanie wypierające. Do drugiej puli genowej zaliczane są tetraploidy o składzie genomowym CCDD: *A. magna*, *A. murphyi* oraz *A. insularis*. Przekazywanie genów z tej puli do heksaploidalnych form uprawnych jest tylko częściowo ograniczone, gdyż pentaploidalne mieszańce F<sub>1</sub> można otrzymać stosunkowo łatwo i pomimo, że są one samosterylne to charakteryzują się częściową żeńskopłodnością, więc poprzez krzyżowanie wsteczne można przywrócić im płodność. Do trzeciej puli genowej zaliczone zostały gatunki tetraploidalne o składzie genomowym AABB: *A. barbata*, *A. abyssinica*, *A. vavilovonia* i *A. agadiriana* oraz wszystkie diploidy. Przeniesienie genów z tych gatunków do form uprawnych jest ograniczone i wymaga przełamania barier krzyżowalności poprzez stosowanie kultur *in vitro* oraz poliploidyzacji.

Zmienność pokrewnych gatunków, nawet z pierwszej puli genowej, nie zawsze w równym stopniu jest dostępna dla hodowców, a przeszkodą w poszerzeniu zmienności genetycznej owsa zwyczajnego jest obecność w genomie licznych translokacji, inwersji czy duplikacji utrudniających lub uniemożliwiających zachodzenie rekombinacji (Thomas 1992). Najczęściej spotykane są translokacje z genomu C do D, mniej częste z A do C lub z D do C (Tinker i in. 2022, Tomaszewska i in. 2022). Zidentyfikowano jednak również rzadkie translokacje z A do D i z D do A (Tomaszewska i in. 2022). Analizy genomów gatunków z rodzaju *Avena* ujawniły utratę co najmniej 226 Mbp bogatych w geny regionów z genomu C heksaploidów na rzecz genomów A i D (Kamal i in. 2022). W odmianach owsa zwyczajnego zidentyfikowano dwie bardzo częste translokacje 7C-17A (1C/1A) (Jellen i Beard 2000) i 3C-14D (6C/5D) (Jellen i n. 1997), których obecność ogranicza możliwość udoskonalania odmian między innymi poprzez supresję crossing-over w tych regionach, gdzie jak stwierdzono, zlokalizowane są istotne dla postępu hodowlanego w tym gatunku loci cech ilościowych, QTL (quantitative trait loci) (Kianian i in. 1997, Tinker i in. 2022).

#### **1.6. *Avena fatua* jako chwast i rezerwar korzystnych alleli**

Owies głuchy (*Avena fatua* L.) jest problematycznym chwastem występującym na polach uprawnych na całym świecie, powodującym straty w plonach szczególnie w uprawach zbóż jarych i ozimych, a także roślin okopowych (Khan i in. 2010, Trzcńska-Tacik i in. 2010). *A. fatua* rośnie również na nieużytkach, można go spotkać wzdłuż brzegów rzek, pasów autostrad i torów kolejowych (Baum 1977). Łatwo przystosowuje się do różnych warunków środowiskowych ze względu na szczególne cechy morfologiczne oraz wytwarzanie dużej ilości osypujących się po dojrzeniu nasion charakteryzujących się wydłużonym okresem spoczynku (4 do 6 lat) (Darmency i Aujas 1992, Blanco i in. 2014, Bajwa i in. 2017, Nečajeva i in. 2021). Ponadto osypywanie pojedynczymi ziarniakami ułatwia rozsiewanie z udziałem wiatru na dalsze odległości z uwagi na małą, w porównaniu z całym kłosem, masę. Owies głuchy rozprzestrzenia się więc bardzo łatwo i jest trudny do zwalczenia, a ponadto coraz częściej identyfikowane są genotypy tego gatunku charakteryzujące się odpornością na herbicydy (Thill i in. 1994, Owen i in. 2009, Adamczewski i in. 2013).

Mimo problemów, jakie *A. fatua* i pozostałe dzikie gatunki z rodzaju *Avena* sprawiają na polach uprawnych, ograniczenie puli genowej owsa zwyczajnego spowodowało, że hodowla zaczęła w dzikich formach poszukiwać nowych, korzystnych z rolniczego punktu widzenia, alleli (Zeller, 1998; Loskutov, 2001). W programach hodowlanych

najczęściej wykorzystywany jest *A. sterilis*, w mniejszym stopniu *A. fatua* (Leggett i Markhand 1995). Wielu badaczy udowodniło jednak, że *A. fatua* jest bogatym źródłem przydatnych genów i ma ogromny potencjał w zakresie udoskonalania odmian owsa. Owies głuchy stosowano w programach hodowlanych z uwagi na: wczesność, mrozoodporność, karłowatość, odporność na suszę, wysoką zawartość białka i tłuszczu w ziarniakach, odporność na rdzę koronową, śnieć, mączniaka prawdziwego, skrzypionki zbożowe, tolerancję na wirusa żółtej karłowatości jęczmienia (BYDV), odporność na herbicydy, długi okres spoczynku nasion czy szybki wzrost wegetatywny (Suneson i Marshall 1967, Suneson 1969, Briggie i Youngs 1975, Rines i in. 1980, Luby i Stuthman 1983, Burrows 1986, Frey 1986, Frey 1991, Brown i Patterson 1992, Leggett 1992, Leggett 1996, Cavan i in. 1998, Milach i in. 1997, Zeller 1998, Loskutov 2001). Z tego względu, mimo daleko zakrojonych wysiłków w celu wyeliminowania tego chwastu z pól uprawnych, jednocześnie podejmowano działania, których celem było zachowanie genetycznego zróżnicowania zarówno tego, jak i innych dzikich gatunków z rodzaju *Avena* w bankach genów (Zeller, 1998; Loskutov i Rines, 2011).

*A. fatua* jest najbardziej znany jako źródło genów wczesności skracających okres wegetacji do nawet 81 dni (Loskutov 1998), czy genu karłowatości *Dw8*, który wpływa na długość międzywęzła, nie zmniejszając ich liczby i przyczynia się do redukcji wysokości roślin nawet o 50% nie zmieniając niekorzystnie morfologii wiechy, jak to się dzieje w przypadku genów *Dw6* czy *Dw7* (Morikawa i in. 2007). W amerykańskich programach hodowlanych wykorzystano genotypy *A. fatua* do uzyskania odmian ekstremalnie wczesnych jak 'Rapida' czy odpornych na suszę 'Sierra', 'Mesa' czy 'Montezuma' (Thompson 1967, Suneson 1969). Rines i Halstead (1988) uzyskali linie *A. fatua* × *A. sativa* zawierające cytoplazmę *A. fatua*, które rekomendowali jako przydatne do hodowli odmian o zwiększonej odporności na choroby i poprawionej jakości ziarna przy jednoczesnym braku negatywnego wpływu na wysokość plonowania. Luby i Stuthman (1983) stwierdzili, że *A. fatua* może wносить allele wpływające na zawartość tłuszczu w ziarnie (9,2%). Ponadto *A. fatua* syntetyzuje wyższy, w porównaniu z innymi gatunkami *Poaceae* poziom esterazy i lipazy, dlatego też może stanowić dobry surowiec do produkcji przemysłowej tych enzymów (Mohamed i in. 2000). W innych badaniach wykazano, że ziarno *A. fatua* zawierało ponad 20% białka, 8% lipidów i 55% skrobi oraz było bogate w niezbędne minerały i witaminy (Sosulski i Sosulski 1985). *A. fatua* był źródłem genów odporności na wirusa żółtej karłowatości jęczmienia (BYDV) (Rines i in. 1980), a najnowsze badania

wskazują, że może być cennym źródłem genów odporności na rdzę koronową (Paczos-Grzęda i in. 2018) czy mączniaka prawdziwego (Okoń i in. 2014).

### **1.7. Badania zmienności genetycznej owsa**

W dotychczasowych badaniach różnicowania genetycznego puli genowej polskich odmian wykorzystywano głównie losowy polimorfizm DNA (RAPD – Random Amplified Polymorphic DNA), polimorfizm długości amplifikowanych fragmentów restrykcyjnych (AFLP – Amplified Fragment Length Polymorphism), polimorfizm sekwencji retrotranspozonowych i mikrosatelitarnych (REMAP – Retrotransposon-Microsatellite Amplified Polymorphism) oraz polimorfizm sekwencji zlokalizowanych pomiędzy sekwencjami mikrosatelitarnymi (ISSR – Inter Simple Sequence Repeat) (Paczos-Grzęda 2004, Paczos-Grzęda i in. 2014, Boczkowska i in. 2014). Wymienione techniki markerowe wykorzystano do analizy różnicowania genetycznego 23 historycznych odmian owsa wyhodowanych w Polsce przed 1939 rokiem (Boczkowska i in. 2014), 19 odmian owsa zarejestrowanych w Polsce w latach 1984–2004 (Paczos-Grzęda i Bednarek, 2014) oraz wybranych historycznych i współczesnych odmian hodowlanych, a także odmian miejscowych (Boczkowska i Tarczyk 2013, Boczkowska i Onyśk, 2016). Pomimo, że metody oparte na PCR (Polymerase Chain Reaction) są szeroko wykorzystywane, stosunkowo niedrogo i wielokrotnie wykazano ich przydatność do analizy różnicowania genetycznego, to zastosowanie technik opartych na wysokorzepustowym sekwencjonowaniu DNA umożliwia znaczny wzrost liczby polimorfizmów identyfikowanych w jednym eksperymencie. Wśród wielu dostępnych technik bardzo popularne i często stosowane jest genotypowanie *DArTseq*. Jest to metoda typu GBS (genotyping by sequencing) oparta na sekwencjonowaniu z wykorzystaniem technologii nowej generacji firmy Illumina zredukowanej reprezentacji genomu uzyskanej poprzez trawienie restrykcyjne (Kilian i in. 2012, Kilian i Graner 2012, Cruz i in. 2013). W metodzie tej uzyskiwane są dwa typy markerów, dominujące - *silicoDArT* oraz kodominujące – *DarTseq* (Diversity Arrays Technology). Technologię *DArT* wykorzystano do identyfikacji markerów dla genów odporności na rdzę koronową (Sowa i Paczos-Grzęda 2020b, Toporowska i in. 2021) i mączniaka prawdziwego (Herrmann i Mohler 2018, Okoń i in. 2018, Ociepa i in. 2020, Ociepa i Okoń 2022), bądź oceny różnicowania genetycznego i analiz typu GWAS (genome wide association studies) (Montilla-Bascon i in. 2015, Rispaill i in. 2018, Rio i in. 2021).



## 2. Hipotezy i cele badawcze

---

W niniejszej pracy doktorskiej przyjęto następujące hipotezy badawcze:

1. Właściwie prowadzony proces hodowlany nie prowadzi do zawężenia zmienności genetycznej owsa zwyczajnego.
2. Odmiany historyczne charakteryzują się wyższym poziomem zmienności aniżeli odmiany współczesne i linie hodowlane.
3. Odmiany zagraniczne posiadają inne allele niż odmiany polskie i mogą być wykorzystane do poszerzania zmienności genetycznej.
4. Poziom korelacji wyników oceny podobieństwa genetycznego oszacowanego z wykorzystaniem systemów markerowych oraz na podstawie rodowodów jest niski.
5. Systemy markerowe bazujące na sekwencjonowaniu są bardziej wydajnym narzędziem oceny polimorfizmu międzyodmianowego, aniżeli techniki będące modyfikacjami metody PCR.
6. Ukierunkowana selekcja prowadzona w ramach procesu hodowlanego wprowadza zmiany w genomie rośliny uprawnej.
7. Gatunki z rodzaju *Avena*, w tym *Avena fatua* L., wprowadzają nową zmienność genetyczną do puli genowej owsa zwyczajnego możliwą do zaobserwowania na poziomie fenotypu i wykorzystania w hodowli nowych odmian.

Aby zweryfikować powyższe hipotezy wyznaczono następujące cele badawcze:

1. Ocena zróżnicowania genetycznego i struktury populacji 72 polskich odmian owsa zwyczajnego wyhodowanych w latach 1893-2008 z wykorzystaniem metod ISSR oraz REMAP (P.1).
2. Analiza rodowodów 72 polskich odmian owsa i identyfikacja form wyjściowych, które zapoczątkowały polską hodowlę (P.1).
3. Oszacowanie korelacji wyników oceny zmienności genetycznej uzyskanych z wykorzystaniem systemów markerowych ISSR, REMAP oraz analizy rodowodów (P.1).
4. Ocena zróżnicowania genetycznego i struktury populacji 487 polskich i zagranicznych odmian i linii hodowlanych owsa zwyczajnego z wykorzystaniem wysokoprzepustowego genotypowania metodą DArTseq (P.2).
5. Charakterystyka puli allelicznej wykorzystywanej w polskich programach hodowlanych (P.2).
6. Określenie zmian w obrębie subgenomów owsa wywołanych ukierunkowaną selekcją w trakcie trwającego niemal 120 lat procesu hodowlanego (P.2).
7. Ocena efektów dwukierunkowego krzyżowania *Avena fatua* L. z owsem zwyczajnym w kontekście możliwości wykorzystania gatunków dzikich do poszerzania puli genowej odmian *A. sativa* (P.3).

### 3. Materiał i metody badawcze

---

Materiał roślinny wykorzystany do przeprowadzenia badań w ramach pracy doktorskiej stanowiły:

- 72 historyczne i współczesne odmiany owsa zwyczajnego wyhodowane w latach 1983-2008. Stare odmiany, sprzed roku 1986, uzyskano z Krajowego Centrum Roślinnych Zasobów Genowych w Radzikowie. Nasiona pozostałych odmian (42) zostały dostarczone przez trzy polskie firmy hodowlane: Hodowlę Roślin Strzelce, Małopolską Hodowlę Roślin Polanowice i Hodowlę Roślin DANKO. (P.1)
- 487 odmian i linii hodowlanych *A. sativa*, w tym 41 współczesnych polskich odmian, 26 polskich odmian historycznych, 43 odmiany zagraniczne, 136 linii hodowlanych z MHR Polanowice, 145 z HR Strzelce oraz 96 z HR DANKO. Odmiany zagraniczne sprowadzono z banków genów National Small Grain Collection (USDA-ARS), Aberdeen, Idaho w Stanach Zjednoczonych oraz Plant Gene Resources of Canada, Saskatoon, Saskatchewan w Kanadzie. Linie hodowlane otrzymano bezpośrednio od hodowców. (P.2)
- mieszańce pokoleń F<sub>2</sub> uzyskane w efekcie prowadzonych samodzielnie krzyżowań: *A. sativa* L. cv. Sam × *A. fatua* L. 51532 (152 rośliny F<sub>2</sub>) oraz *A. fatua* L. 51532 × *A. sativa* L. cv. Sam (158 roślin F<sub>2</sub>) i ich formy rodzicielskie. (P.3)

#### Metody badawcze:

##### *Analiza rodowodów odmian*

Rodowody 72 odmian zostały odtworzone na podstawie informacji dostępnych w bazie danych Krajowego Centrum Roślinnych Zasobów Genowych (<https://bankgenow.edu.pl/en>) i POOL (Pedigrees of Oat Lines), (<https://triticeaetoolbox.org/POOL>, Tinker i Deyl 2005). Współczynniki rodzicielstwa (COP - coefficient of parentage) obliczono w MS Excel (Wang i Lu 2006).

##### *Izolacja DNA i genotypowanie*

Ekstrakcję całkowitego, genomowego DNA odmian i linii przeprowadzono z młodych liści 10-20 siewek uzyskanych z ziarniaków pochodzących z pojedynczych, losowych roślin. W przypadku 72 odmian analizowanych w ramach publikacji P.1 izolację prowadzono metodą CTAB (Doyle i Doyle, 1987), natomiast w przypadku 487 obiektów analizowanych w ramach publikacji P.2 izolację wykonano przy użyciu zestawu DNasy Plant Mini Kit (Qiagen®, Hilden, Niemcy). Czystość i ilość wyekstrahowanego DNA

oceniano spektrofotometrycznie (NanoDrop2000), zaś integralność elektroforetycznie. Genotypowanie 72 odmian owsa przeprowadzono metodą ISSR wykorzystując do amplifikacji 36 starterów ISSR (Ziętkiewicz i in. 1994) oraz metodą REMAP przy użyciu startera REMAP-LTR specyficznego dla LTR retrotranspozonu BARE-1 w kombinacji z 21 starterami ISSR (Kalendar i in. 1999). Produkty amplifikacji rozdzielono na 2,5% żelach agarozowych w buforze TBE. Obecność/brak poszczególnych fragmentów ISSR i REMAP w badanych próbach zapisano w postaci matryc binarnych. Analiza metodą DArTseq, polegająca na sekwencjonowaniu technikami nowej generacji (Illumina HiSeq 2500) zredukowanej reprezentacji genomu została przeprowadzona przez Diversity Arrays Technology Pty Ltd. (DArT, Canberra, Australia) (Kilian i in. 2012). Dane uzyskano w postaci plików Excel zawierających matryce binarne, dane sekwencyjne oraz lokalizację genomową poszczególnych fragmentów DNA w odniesieniu do wersji v2 genomu *A. sativa* OT3098 (<https://wheat.pw.usda.gov/jb/?data=/ggds/oat-ot3098-pepsico>).

#### *Analiza danych molekularnych*

Analiza danych molekularnych uzyskanych metodami ISSR i REMAP obejmowała określenie: poziomu informacyjności starterów (PIC) (Roldan-Ruiz i in.2000), indeksu markera (MI) (Varshney i in. 2007), zdolności rozdzielczej (RP) (Prevost i Wilkinson 1999). Przeprowadzono test Mantela, aby zweryfikować związek między markerami molekularnymi a rodowodami odmian. Wykorzystano metodę grupowania Warda oraz skonstruowano dendrogramy w XLSTAT Ecology (Addinsoft XLSTAT 2019.4.1). W celu identyfikacji grup jednorodnych przeprowadzono analizę dyskryminacyjną (DA). Przeprowadzono również analizę głównych współrzędnych (PCoA – principal coordinate analysis) w oparciu o macierze odległości, aby zwizualizować wzór grupowania i przedstawić graficzną reprezentację zależności między odmianami. Zmienność genotypową oceniano w grupach utworzonych na podstawie czasu hodowli i ośrodka hodowlanego za pomocą analizy wariancji molekularnej (AMOVA) w GenAlEx (Peakall i Smouse 2012). Strukturę populacji oszacowano za pomocą podejścia opartego na modelu bayesowskim, zaimplementowanego w programie STRUCTURE v. 2.3.4 (Wright 1965). Zastosowano model mieszany ze skorelowanymi częstościami alleli. Odmiany o współczynniku przynależności niższym niż 0,8 zostały zidentyfikowane jako zmieszane.

Dane molekularne uzyskane metodą DArTseq wykorzystano do analizy struktury i zróżnicowania populacji w programie Rstudio (1.4.1106) (<https://www.r-project.org/>). Na etapie filtrowania usunięto markery, które były monomorficzne, z brakującymi odczytami

$\geq 5\%$ , o powtarzalności (Re-pAvg)  $<1$  lub jeśli względna częstość alleli rzadkich (MAF – minor allele frequency) wynosiła  $<0,01$  (Gruber i in. 2018). W kolejnym kroku określono proporcję każdego typu mutacji i obliczono podstawowe współczynniki, takie jak zawartość informacji polimorficznej (PIC), obserwowaną ( $H_o$ ) i oczekiwaną ( $H_e$ ) heterozygotyczność oraz współczynnik wsobności ( $F$ ) (Dziurdziak i in. 2021). Do oceny alokacji SNP, PIC i  $H_o$  wzdłuż chromosomów w trzech homeologicznych subgenomach zastosowano metodę przesuwanego okna z odstępami 500 kb (Gu i in. 2014). Wyniki przedstawiono w układzie kołowym jako średnie wartości dla 250 punktów na chromosom. Wykorzystując program HP-RARE oszacowano zawartość alleli (AR allelic richness) (Kalinowski 2005). Parametr  $F_{ST}$  Wrighta wykorzystano do oszacowania zróżnicowania całego genomu (Wright 1984). Do weryfikacji istotności różnic wykorzystano analizę wariancji (ANOVA) oraz test post hoc Tukey'a. Następnie, podobnie jak w przypadku danych z ISSR i REMAP przeprowadzono analizę struktury genetycznej populacji w programie STRUCTURE (Hubisz i in. 2009). Na podstawie uzyskanych danych wyodrębniono również zbiór podstawowy badanych obiektów (core collection) (Kim i in. 2007).

#### *Wyprowadzenie populacji międzygatunkowych*

W celu uzyskania mieszańców *A. sativa* L. cv. Sam  $\times$  *A. fatua* L. '51532' oraz *A. fatua* L. '51532'  $\times$  *A. sativa* L. cv. Sam w 2016 roku w warunkach polowych w Gospodarstwie Doświadczalnym Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie zlokalizowanym w Czesławicach koło Nałęczowa przeprowadzono krzyżowania międzygatunkowe. Zastosowano 2 terminy wysiewu w odstępie 2-tygodniowym by zsynchronizować termin kwitnienia komponentów rodzicielskich do krzyżowań. Kilka dni przed kwitnieniem kastrowano kwiaty w wiechach odmiany owsa zwyczajnego 'Sam' oraz w wiechach owsa głuchego (*A. fatua* '51532') przeznaczonych na formy maceczne. W każdym kłosku *A. sativa* do krzyżowania przeznaczono tylko jeden, pierwszy kwiat, z którego ręcznie usuwano wszystkie pylniki. Z kolei w kłoskach *A. fatua* pozostawiano dwa dolne kwiaty w kłosku. Na wiechy zakładano izolatory z folii, a po 3 dniach na dojrzałe znamiona słupka nanoszono pęsetą świeży pyłek pobrany z roślin ojcowskich. Zapylenie powtarzano po dwóch kolejnych dniach. Do krzyżowań przeznaczono po pięć roślin owsa zwyczajnego i pięć owsa głuchego. Celem było uzyskanie ziarniaków mieszańcowych kombinacji *A. fatua*  $\times$  *A. sativa* oraz *A. sativa*  $\times$  *A. fatua* pochodzących od dwóch roślin rodzicielskich, z których jedna roślina była formą maceczną w pierwszej kombinacji i formą ojcowską w drugiej, z kolei druga roślina była formą ojcowską w pierwszej kombinacji

i formą mateczną w kombinacji drugiej. Z każdej z roślin rodzicielskich ziarniki pochodzące z samozapylenia zebrano osobno. Uzyskane ziarniki mieszańcowe wysiano punktowo w 2017 roku w warunkach polowych otrzymując rośliny pokolenia F<sub>1</sub>. Kwitnące wiechy izolowano w celu zabezpieczenia przed obcozapyleniem. W fazie dojrzałości pełnej z roślin zebrano ziarniki stanowiące pokolenie F<sub>2</sub>.

### *Eksperyment polowy*

Ziarniki wszystkich form przeznaczonych do fenotypowania wysiewano na poletkach Gospodarstwa Doświadczalnego Uniwersytetu Przyrodniczego w Czesławicach koło Nałęczowa na glebie brunatnej wytworzonej z lessu, należącej do II klasy bonitacyjnej. Komponenty rodzicielskie do krzyżowań, mieszańce pokolenia F<sub>1</sub> i F<sub>2</sub> oraz pochodzące z samozapylenia ziarniki zebrane z konkretnych form rodzicielskich w kolejnych latach wysiewano punktowo w rzędach o długości 1 m w rozstawie 10 cm × 20 cm. Przedplonem w każdym roku badań były ziemniaki. Przed siewem stosowano nawożenie w ilości: N 60 kg·ha<sup>-1</sup>, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 80 kg·ha<sup>-1</sup>, K<sub>2</sub>O 100 kg·ha<sup>-1</sup>. W okresie wegetacji wykonywano zabiegi pielęgnacyjne. W fazie krzewienia poletka opryskiwano preparatem Chwastox D w ilości 0,8 l/ha w celu zwalczania chwastów. W późniejszym okresie chwasty usuwano ręcznie. Wykonywano również oprysk przeciwko mszycom i skrzypionkom preparatem Fastac 10EC w ilości 0,1 l/ha. Rośliny form mieszańcowych i należące do gatunku *A. fatua* zabezpieczono przed osypywaniem ziarniaków zakładając na wiechy izolatory z celofanu.

W okresie wegetacyjnym roku 2018 wykonano obserwacje polowe, w fazie dojrzałości pełnej wybrano 152 pojedyncze rośliny spośród mieszańców F<sub>2</sub> *A. sativa* L. cv. Sam × *A. fatua* L. '51532' oraz 158 roślin F<sub>2</sub> *A. fatua* L. '51532' × *A. sativa* L. cv. Sam, a także po 30 roślin z form rodzicielskich do oceny cech plonotwórczych. W trakcie wegetacji określono datę wiechowania i wysokość roślin (cm). Po zbiorze oceniono: liczbę pędów produkcyjnych i nieprodukcyjnych, liczbę międzywęźli w źdźble głównym, długość dokłosa (cm), średnicę drugiego od dołu międzywęźla w źdźble głównym (mm), długość wiechy głównej (cm), liczbę kłosków z wiechy głównej, liczbę i masę (g) ziarniaków z wiechy głównej. W przypadku osypujących roślin *A. fatua* i potomstwa F<sub>2</sub> liczbę kłosków i ziarniaków oceniano po ostrożnym usunięciu z wiech celofanowych izolatorów. Dodatkowo obliczono: płodność kłoska, masę 1000 ziaren (MTZ) (g) oraz współczynnik wylegania Lc (Milczarski 2008).

### *Analiza danych fenotypowych*

Dla każdej analizowanej cechy obliczono średnią, medianę, minimum, maksimum i odchylenie standardowe. Dopasowanie cech do rozkładu normalnego oceniono za pomocą testu normalności Shapiro-Wilka ( $\alpha=0,05$ ). Jednorodność wariancji zbadano za pomocą testu Bartletta. Wielokrotne porównania między wszystkimi genotypami przeprowadzono zgodnie z testem Tukeya lub porównaniem post-hoc średnich rang ( $p < 0,05$ ). Analizy chi-kwadrat ( $\chi^2$ ) danych dotyczących fenotypowania potomstwa  $F_2$  przeprowadzono w celu zbadania dopasowania obserwowanych do oczekiwanych stosunków rozszczepień. Dla wszystkich danych obliczono współczynnik korelacji Spearmana. Analizę statystyczną wykonano za pomocą programów STATISTICA 13.3 (TIBCO Software) oraz PAST 4.1 (Hammer i in. 2001).

## 4. Omówienie wyników badań z elementami dyskusji

---

### 4.1. Analiza rodowodów oraz zróżnicowania genetycznego polskich historycznych i współczesnych odmian owsa zwyczajnego

- P.1. Koroluk A., Paczos-Grzęda E.\*, Sowa S., Boczkowska M., Toporowska J. 2022. Diversity of Polish oat cultivars with a glance at breeding history and perspectives. *Agronomy-Basel* 12(10), 2423. DOI: 10.3390/agronomy12102423.

Początki hodowli owsa w Polsce sięgają końca XIX wieku, a w ciągu ponad 120 lat funkcjonowania polskiej hodowli tego gatunku powstało wiele nowych odmian i obecnie około 80% z nich, znajdujących się na Krajowej Liście Odmian Roślin Rolniczych COBORU (COBORU 2023), pochodzi z polskich firm hodowlanych. W pracy P.1 badano 72 polskie odmiany owsa zwyczajnego, z których najstarszą był Sobieszyński (1893 r.), zaś najmłodszy Berdysz i Zuch (2008 r.). Celem pracy była ocena zróżnicowania i struktury populacji badanych polskich odmian owsa. Analizę oparto na danych rodowodowych oraz polimorfizmie markerów ISSR i REMAP. Badany zestaw odmian przypisano do czterech grup ze względu na okres w jakim zostały wyhodowane i dopuszczone do uprawy na terenie kraju (przed 1945, 1945–1969, 1970–2000 i po 2000 r.) oraz do sześciu grup ze względu na miejsce wyhodowania (HR Strzałce, HR DANKO, HR Rogaczewo, MHR Polanowice, MHR Borowo i inne).

Analiza rodowodów wykazała, że badane polskie odmiany owsa zwyczajnego wywodzą się ze 124 rodzicielskich odmian i linii hodowlanych oraz odmian miejscowych, z których pięć: ‘Markische Landsorte’, ‘selekcja z owsa Ligowo’, ‘Fransk Svarthavre’, ‘Blanche de Sibirie’ i ‘selekcja z Schleswig-Holstein’ pojawiały się najczęściej. Stwierdzono, że co najmniej jedna z wyżej wymienionych form była obecna w 78% rodowodów analizowanych obiektów. Najbardziej rozbudowane były rodowody odmian wyhodowanych po 1977 roku oraz odmian współczesnych. Najwięcej, bo aż 19 spośród 72 badanych odmian zostało wyhodowanych w HR Strzelce, a ich rodowody rozpisano do 56 przodków. Większość z tych odmian posiadała w swoim rodowodzie ‘Markische Landsorte’, ‘selekcję z owsa Ligowo’ i ‘Blanche de Sibirie’. Z HR DANKO pochodziło 16 odmian z badanego zestawu i wywodziły się one głównie z ‘selekcji z owsa Ligowo’ i ‘Fransk Svarthavre’, zaś w ich rodowodach zidentyfikowano 75 form ancestralnych. Trzecia z prowadzących współcześnie hodowlę owsa spółek - MHR Polanowice reprezentowana była przez 5 odmian, dla których rodowody rozpisano do 43 przodków. Po likwidacji HR Rogaczewo i HR Borowo materiały z tych hodowli zostały przejęte przez

MHR Polanowice, stąd w rodowodach odmian wyhodowanych przez MHR Polanowice pojawiła się odmiana 'Milton' charakterystyczna dla form uzyskanych w hodowli Rogaczewo. Na podstawie przeprowadzonej analizy można stwierdzić, że hodowla niemiecka, ze względów historycznych i geograficznych miała duży wpływ na polską pulę genetyczną owsa. Niemieckie odmiany wywodzą się również z kilku linii genetycznych, w których występują zidentyfikowane w badaniach własnych odmiany rodzicielskie, a mianowicie 'Lochows Gelb' (odmiana pochodząca z 'Markische Landsorte'), 'Probsteir' (wywodzący się z 'selekcji z Schleswig-Holstein'), 'Fransk Svarthavre', 'selekcja z owsa Ligowo' czy 'Blanche de Sibirie' (Bickelman 1989). Potwierdza to, że odmiany owsa polskiego i niemieckiego wywodziły się z niewielkiej liczby blisko spokrewnionych odmian i linii hodowlanych oraz odmian miejscowych, co wskazuje na stosunkowo wąską ancestralną pulę genetyczną.

W wyniku analizy DNA przeprowadzonej metodą ISSR z zastosowaniem 36 starterów uzyskano 203 produkty amplifikacji, z których 99,5% było polimorficznych. Nieobciążona oczekiwana heterozygotyczność według Nei (uHe) obliczona na podstawie danych ISSR wyniosła 0,256. Uwzględniając grupy wyodrębnione na podstawie czasu wyhodowania najwyższą wartością tego parametru i największym zróżnicowaniem charakteryzowały się odmiany wyhodowane w latach 1970-1999 (0,236), z kolei uwzględniając miejsce hodowli najbardziej zróżnicowane odmiany pochodziły z HR Strzelce (0,241), zaś najniższym zróżnicowaniem charakteryzowały się odmiany wyhodowane przez MHR Polanowice (0,155).

Na podstawie AMOVA stwierdzono, że większość zaobserwowanej zmienności genetycznej wynikała ze zróżnicowania w obrębie grup utworzonych w zależności od czasu wyhodowania (91%) lub pomiędzy odmianami w ramach firm hodowlanych (93%). Analiza wartości  $\Phi_{PT}$  wykazała, że im dłuższy odstęp czasu pomiędzy grupami wyodrębnionymi w oparciu o datę wprowadzenia do rejestru, tym większe są między nimi różnice. Analiza  $\Phi_{PT}$  wykazała także brak istotnych różnic pomiędzy odmianami pochodzącymi z różnych współcześnie funkcjonujących ośrodków hodowlanych, a jednocześnie znaczne różnice pomiędzy odmianami przedwojennymi a współczesnymi.

Podobieństwo Gowera pomiędzy parami odmian wahało się od 0,94 do 0,64, a algorytm grupowania Warda i analiza PCoA wyodrębniły trzy główne skupienia. Analiza dyskryminacyjna wykazała, że w analizie rodowodów i ISSR do tych samych grup przypisano 58,33% odmian. Analiza STRUCTURE wyodrębniła dwie subpopulacje, obejmujące odpowiednio 21 i 28 odmian, pozostałe 23 odmiany posiadały powyżej 20%



alleli pochodzących z drugiej z subpopulacji. Odmiany historyczne, odmiany wyhodowane w latach 1945–1969 i cztery odmiany z lat 1970–1999 zaliczono do grupy pierwszej. Grupę drugą stanowiło 28 odmian pochodzących z dwóch ostatnich czasookresów.

Stosując 21 par starterów REMAP, uzyskano w sumie 178 fragmentów, z czego 87,1% było polimorficznych. Nieobciążona oczekiwana heterozygotyczność według Nei (uHe) obliczona na podstawie REMAP była nieco wyższa niż określona na podstawie ISSR i wyniosła 0,308. Najbardziej zróżnicowana była grupa odmian najnowszych (0,289), szczególnie pochodzących z HR DANKO (0,288) i HR Strzelce (0,283). Wyniki AMOVA oparte na danych REMAP były zgodne z wynikami uzyskanymi dla ISSR i wykazały, że zmienność pomiędzy odmianami wyhodowanymi w tym samym czasie była istotnie większa niż zmienność pomiędzy wyznaczonymi czasookresami. Różnice między odmianami pochodzącymi z jednej hodowli były również większe niż między odmianami pochodzącymi z różnych firm. Wyniki analizy  $\Phi_{PT}$  nie były zgodne z wynikami uzyskanymi na podstawie ISSR, i tak na przykład różnica pomiędzy odmianami najstarszymi i najbardziej współczesnymi nie była aż tak duża jak pomiędzy odmianami najstarszymi a odmianami z okresu 1977-2000. Podobnie jak w analizie ISSR odmiany pochodzące z historycznych ośrodków hodowlanych różniły się istotnie od odmian z ośrodków funkcjonujących współcześnie.

Podobieństwo genetyczne pomiędzy odmianami obliczone na podstawie współczynnika Gowera zawierało się w przedziale 0,59–0,88. Na podstawie macierzy odległości genetycznych przeprowadzono analizę skupień Warda, która wykazała obecność trzech głównych skupień obejmujących 27, 11 i 34 odmiany. Przynależność odmian do grup była identyczna aż w 79,17% dla analiz REMAP i ISSR, ale tylko w 58,33% w porównaniu z przynależnością określoną na podstawie rodowodów. Analiza STRUCTURE wyodrębniła dwie grupy, w grupie pierwszej znalazły się głównie odmiany wyhodowane przed rokiem 1970, zaś w grupie drugiej odmiany późniejsze.

Dla trzech macierzy zróżnicowania genetycznego, uzyskanych w oparciu o rodowody, polimorfizm ISSR i REMAP przeprowadzono parami test Mantela stwierdzając obecność istotnej statystycznie korelacji ( $r = 0,419$ , wartość  $p < 0,0001$ ) jedynie przy porównaniu macierzy ISSR i REMAP. Dla połączonych macierzy binarnych uzyskanych z analiz ISSR i REMAP przeprowadzono aglomeracyjne hierarchiczne grupowanie (AHC) przy użyciu metody Warda. Wykazano obecność trzech głównych grup skupień, zawierających odpowiednio 19, 18 i 35 odmian. Analiza dyskryminacyjna wykazała, że wyniki AHC dla połączonych macierzy były w 77,78% zgodne z grupowaniem uzyskanym na podstawie

wyników ISSR i w 86,11% zgodne z wynikami uzyskanymi z REMAP. Zgodność grupowania połączonych macierzy z wynikami uzyskanymi z analizy rodowodowej wyniosła 58,33% i była taka sama jak dla każdej z analiz molekularnych z osobna. Analiza struktury genetycznej w programie STRUCTURE wykazała obecność trzech subpopulacji. Grupę pierwszą reprezentowały odmiany najstarsze, z niewielkim udziałem pozostałych grup. W grupie drugiej dominowały odmiany z lat 1970-1999, podczas gdy najnowsze odmiany należały zarówno do subpopulacji drugiej, jak i trzeciej.

Analiza rodowodowa pozwoliła na identyfikację pięciu głównych przodków polskich odmian oraz ustalenie wpływu odmian zagranicznych na analizowany materiał. Przeprowadzona analiza polimorfizmu DNA umożliwiła zbadanie zmian w puli genowej odmian owsa na przestrzeni blisko 120 lat hodowli w Polsce. Spadek obserwowanej heterozygotyczności w obrębie grup stwierdzono dopiero w okresie powojennym (1945–1969), a nowe allele wprowadzono w wyniku ekstensywnych krzyżówek z materiałami obcymi. Struktura genetyczna populacji była dość prosta i składała się z dwóch lub trzech odrębnych pul genowych, w zależności od metody oceny polimorfizmu. Analizy ISSR i REMAP wskazują, że obecnie uprawiane odmiany są podobne genetycznie, choć pochodzą z różnych firm hodowlanych, a ich pula genowa znacznie różni się od puli genów starszych odmian. Potwierdza to niezaprzeczalną odrębność pul genowych dawnych i współczesnych polskich odmian, postulowaną przez badaczy we wcześniejszych badaniach różnorodności owsa (Boczkowska i in. 2014, Boczkowska i in. 2015, Boczkowska i in. 2016). Odróżnienie historycznej puli genowej od współczesnych odmian owsa wynika ze zniszczenia polskiego materiału hodowlanego w czasie II wojny światowej (Spiss 2003), skutkowało to również utratą alleli charakterystycznych dla przedwojennej puli genowej, niemniej jednak tego typu produktów zidentyfikowano zaledwie 4 w analizie ISSR oraz 2 w REMAP. Na podstawie wyników uzyskanych w niniejszej pracy stwierdzono, że grupa najnowszych odmian była najbardziej zróżnicowana. Oznacza to, że w wyniku wysiłków hodowców i zainicjowanych w latach 70-tych licznych krzyżowań z materiałami zagranicznymi do puli genowej owsa wprowadzono nowe allele (Świerczewski i Mazaraki 1993). Można to zaobserwować w wynikach analiz molekularnych, gdzie w przypadku ISSR zidentyfikowano aż 13, a REMAP - 11 alleli specyficznych dla odmian z lat 1970-1999.

Analiza porównawcza metod zastosowanych w badaniu wykazała, że skuteczniejsze w ocenie zróżnicowania genetycznego były markery REMAP niż ISSR, ale wyniki uzyskane z udziałem obu metod wykazują istotną statystycznie korelację.

#### 4.2. Ocena zróżnicowania genetycznego polskich materiałów hodowlanych owsa na tle odmian krajowych i zagranicznych.

- P.2. Koroluk A., Sowa S., Boczkowska M., Paczos-Grzęda E.\* (2023). Utilizing Genomics to Characterize the Common Oat Gene Pool—the Story of More than a Century of Polish Breeding. *Int. J. Mol. Sci.* 24(7), 6547. DOI: 10.3390/ijms24076547.

Kolejnym etapem badań, przedstawionym w publikacji P.2, była ocena zróżnicowania i struktury genetycznej populacji obejmującej 487 form owsa, w tym głównie zaawansowanych linii hodowlanych z współczesnych programów trzech polskich firm hodowlanych zajmujących się tym gatunkiem (DC – HR Danko, POB – MHR Polanowice, STH – HR Strzelce), a także współczesnych (P) i historycznych (H) odmian polskich oraz odmian zagranicznych (F). Jednoczesna analiza genetyczna linii i odmian pozwoliła określić potencjał dostępnej puli genetycznej do kreowania nowych, doskonalszych od dotychczasowych, odmian. Analizę oparto na 7 411, spośród 32 253 SNP zidentyfikowanych metodą DArTseq, przyporządkowanych do trzech subgenomów (A, C, D) genomu referencyjnego owsa OT3098 v2 (<https://wheat.pw.usda.gov/jb/?data=/ggds/oat-ot3098-pepsico>). Dotychczas w badaniach gatunków z rodzaju *Avena* DArTseq stosowano głównie do identyfikacji markerów związanych z opornością na choroby (Herrmann i Mohler 2018, Sowa i Paczos-Grzęda 2020b, Toporowska i in. 2021). U owsa zwyczajnego, podobnie jak u innych gatunków poliploidalnych, ze względu na obecność homeologicznych subgenomów, genotypowanie jest skomplikowane i wymaga filtrowania markerów w celu wyeliminowania tych, które pochodzą z więcej niż jednego locus (Huang i in. 2014). W badanym zestawie odmian i linii *A. sativa* wykryto wszystkie możliwe typy SNP z nieco większą liczbą mutacji typu tranzycji (53,05%) niż transwersji (46,95%). Nadmiar tranzycji SNP obserwowano także we wcześniejszych badaniach, np. dla jęczmienia, pszenicy czy ryżu (Vasumathy i in. 2020, Dziurdziak i in. 2021), co wynika z większego prawdopodobieństwa zachowania funkcji i struktury białka (Wakeley 1996). Większość analizowanych SNP zlokalizowana była na chromosomie 4D (524), a najmniej na chromosomie 2A (148). Już wcześniej donoszono o nierównym rozkładzie markerów pomiędzy subgenomami, np. w pszenicy (Tyrka i in. 2021). Rozkład badanych loci wzdłuż każdego chromosomu był podobny, z największą liczbą loci na końcach chromosomów zmniejszającą się stopniowo w kierunku centromeru.

Heterogeniczność analizowanego materiału była bardzo niska, gdyż badano jedynie odmiany i wysoce homozygotyczne linie hodowlane. Odsetek loci heterozygotycznych w każdym subgenomie nie wykazał znaczących różnic statystycznych, ale stwierdzono

istotne statystycznie różnice w poziomach średniej heterogeniczności w obrębie badanych grup i tak, najwyższą wartość  $H_o$  zaobserwowano w liniach POB (0,109), a najniższą w grupie współczesnych odmian polskich (P) (0,075). Podobne wartości, typowe dla gatunków samopylnych, uzyskano w badaniu struktury genetycznej 509 genotypów pszenicy reprezentujących zarejestrowane odmiany i zaawansowane linie hodowlane z wykorzystaniem metody GBS (Tyrka i in. 2021). Szczegółowa analiza heterogeniczności na poziomie chromosomów wykazała maksymalną  $H_o$  na chromosomach 5A i 6A. Natomiast najbardziej jednorodne loci zlokalizowano na chromosomach 7C i 4A.

Średnia wartość współczynnika chowu wsobnego  $F$  w badanej populacji wyniosła 0,75. Była ona najwyższa w grupie polskich odmian współczesnych, a najniższa w grupie POB. Bogactwo alleli wahało się od 1,49 (P - polskie odmiany historyczne) do 1,95 (linie STH), ze średnią 1,78. Różnice w poziomach tego współczynnika pomiędzy grupami były istotne statystycznie.

Analiza głównych składowych (PCA), analiza głównych współrzędnych (PCoA) oraz analizy skupień i STRUCTURE dały zgodne wyniki, które pokazują, że większość badanych odmian i materiałów z polskich programów hodowlanych utworzyła główne grupy genotypów, a tylko niektóre formy pochodzące z HR Strzelce oraz odmiany zagraniczne były na tyle odmienne od pozostałych obiektów, że znalazły się poza grupami głównymi. Na dendrogramie uzyskanym na podstawie dystansu genetycznego Provesti powstało 15 skupień. W ramach największego skupienia można było wyróżnić dwie podgrupy. Pierwszą podgrupę stanowiło 435 obiektów, wszystkie odmiany polskie (P) (41) i historyczne (H) (26), 30 z 43 odmian zagranicznych (F), 134 ze 136 linii POB, 94 z 96 linii DC oraz 109 ze 145 linii STH. Druga podgrupa zawierała 33 linie STH i jedną linię hodowlaną POB (POB 20). Najbardziej odrębne od pozostałych obiektów w badanej populacji było 6 odmian zagranicznych: Kanota, Quoll, Potoroo, Wallaroo, Ugorny i Ogle oraz 3 linie: STH 42, STH 43 i STH 54. Analiza 487 obiektów w programie STRUCTURE wskazała na istnienie dwóch puli genowych obejmujących odpowiednio 80% i 20% analizowanych obiektów. W pierwszej z nich dominowały linie DC i POB oraz odmiany historyczne (H) i polskie współczesne (P), zaś w drugiej znalazła się większość odmian zagranicznych (F) i niektóre linie z HR Strzelce (STH).

Aby zidentyfikować bardziej subtelne różnice w strukturze populacji badanych materiałów hodowlanych i odmian, przeprowadzono analizę STRUCTURE dla każdej grupy oddzielnie. Uzyskane wyniki wskazały, że wyodrębniona w badaniu wszystkich obiektów łącznie grupa druga reprezentowała formy, które zawierały allele charakterystyczne dla

australijskich i amerykańskich programów hodowlanych, czyli reprezentatywne dla pozaeuropejskiej zmienności genetycznej. Warto zauważyć, że odmiany zagraniczne wyhodowane w Europie reprezentowały pierwszą pulę genową. We wcześniejszych badaniach prowadzonych na dużych panelach linii owsa w oparciu o markery DArT lub GBS zaobserwowano słabą strukturę populacji w obrębie analizowanych form (Huang i in. 2014, Tumino i in. 2016, Winkler i in. 2016, Bjørnstad i in. 2017, Rio i in. 2021). Analiza wtórnej struktury genetycznej polskich odmian współczesnych (P) wykazała istnienie siedmiu pul, z których tylko w odmianach z HR DANKO wykryto wszystkie siedem pul genów, w MHR Polanowice – trzy, a HR Strzełce wykorzystywała komponenty reprezentujące pięć pul genowych.

Analiza występowania unikalnych alleli wykazała, że poszczególne grupy różniły się istotnie pod tym względem. Najmniejsze różnice wystąpiły przy porównaniu polskich odmian współczesnych z liniami POB. Obie grupy różniły się zaledwie 16 allelami, co świadczy o braku dopływu nowych alleli do puli genowej w tej hodowli. W liniach pochodzących z HR Strzełce i HR DANKO liczba nowych alleli, nieobecnych we współczesnych polskich odmianach wyniosła odpowiednio 59 i 116. Natomiast w odmianach zagranicznych stwierdzono od 84 do 169 alleli, których nie było we współczesnych polskich materiałach hodowlanych. Jednocześnie w liniach DC znajdowało się 90 alleli nieobecnych u odmian zagranicznych, w liniach STH było to 48 alleli, zaś POB tylko dwa unikalne allele. Warto zauważyć, że aż 303 allele obecne we współczesnych odmianach zagranicznych nie były obecne w odmianach historycznych, a jednocześnie tylko 20 alleli charakterystycznych dla odmian historycznych nie zostało zachowanych w odmianach zagranicznych. Współczesne programy hodowlane wprowadziły do puli genowej od 90 (POB) do 347 (DC) nowych alleli w porównaniu do odmian historycznych. Dla kontrastu, w porównaniu do współczesnych odmian, w liniach hodowlanych pojawiło się od 12 (POB) do 116 (DC) nowych alleli. Jednocześnie współczesny materiał hodowlany nie zawierał od 60 (STH) do 108 (DC) alleli występujących u odmian historycznych. Porównując odmiany historyczne i współczesne odmiany polskie, można zauważyć, że w procesie hodowlanym trwającym 120 lat, 67 alleli ze starej puli genowej zostało utraconych i zastąpionych nowymi allelami podczas gdy w polskim jęczmieniu jarym straty dotyczą około 600 alleli (Dziurdziak i in. 2022). Uzyskane wyniki wskazują, że w obrębie polskiej puli genowej rodzimego owsa nie zaobserwowano poważnej erozji genetycznej. Co więcej, obecne programy hodowli owsa wprowadziły do puli genowej 673 nowe allele w porównaniu z odmianami historycznymi.

Jednocześnie, we współczesnym materiale hodowlanym było tylko 187 nowych alleli w porównaniu ze współczesnymi odmianami.

Wyniki wskazują także, że w rodowodach współczesnych polskich odmian znalazły się komponenty pochodzące z programów hodowlanych prowadzonych poza Europą, co świadczy o prężnym rozwoju polskiej hodowli i potwierdza systematyczny dopływ materiału hodowlanego, czyli nowych alleli z zewnątrz. Z danych wynika jednak, że wymiana materiału hodowlanego pomiędzy programami na różnych kontynentach była znacznie mniejsza niż pomiędzy krajami europejskimi.

Analiza rodowodowa współczesnych polskich odmian, zwłaszcza pochodzących z HR Strzelce, wykazała, że do krzyżowań często wykorzystywano mutanta wyselekcjonowanego z odmiany 'Swan'. 'Swan' to australijska odmiana jara o podwójnym przeznaczeniu (słoma i ziarno), wypuszczona na rynek w 1967 roku i pochodząca ze skrzyżowania odmian Kent (USA) i Ballidu (Australia Zachodnia) (Troup i in. 2018). Pierwszą polską odmianą mającą w rodowodzie mutanta odmiany 'Swan', zarejestrowaną w 1993 r. i wykreśloną z rejestru 27 lat później, była 'Sławko' (COBORU 2023). Odmiana ta została wysoko oceniona przez rolników ze względu na tolerancję na stres oraz zdolność adaptacji do zmieniających się warunków środowiska (Sowa i Paczos-Grzęda 2020a). 'Swan mut.' pojawił się w rodowodach wielu polskich odmian wpisanych do krajowego rejestru po 2000 roku, m.in. w najlepiej znanej na rynku europejskim polskiej odmianie 'Bingo'. W prowadzonych badaniach zidentyfikowano 142 allele unikalne dla 'Swan mut.', z czego największą ich liczbę wykryto na chromosomach subgenomu D (40,8%) w tym aż 34 na 4D. De Koeper i in. (2004) oraz Tinker i in. (2022) zlokalizowali QTLe na chromosomie 4D, które są odpowiedzialne za wysokość plonu ziarna, masę 1000 ziaren, tendencję do wylegania, stopień wypełnienia ziarniaków, przydatność do przetwórstwa. Na chromosomie 4D znaleziono również QTLe związane z czasem kwitnienia, fotoperiodem i odpowiedzią na wernalizację (Chaffin i in. 2016, Bekele i in. 2018). Wszystkie te cechy są ważne z agronomicznego punktu widzenia, a nowe allele warunkujące korzystniejsze wartości cech można poddać ukierunkowanej selekcji w procesie hodowlanym.

Jednym z najciekawszych aspektów pracy była identyfikacja w genomie owsa regionu/regionów, w których pod wpływem prac hodowlanych, krzyżowania i selekcji, zaszły największe zmiany polegające na utrwaleniu we współczesnych odmianach i liniach hodowlanych nowych alleli w porównaniu z odmianami historycznymi. Analiza współczynników  $F_{ST}$  wykazała, że większość zmian w stosunku do odmian historycznych nastąpiła w obrębie subgenomu A, ze szczególnym uwzględnieniem chromosomu 6A.

Co istotne, regiony, w których zaszły zmiany, były rozmieszczone wzdłuż całego chromosomu, a nie tylko na jego końcach. Chromosom 6A zawiera główne QTL odpowiedzialne za zawartość tłuszczu,  $\beta$ -glukanu i masę tysiąca ziaren (Kianian i in. 1999, Kianian i in. 2000, Carlson i in. 2019, Fogarthy i in. 2020, Tinker i in. 2022). Programy hodowlane nie wprowadziły prawie żadnych zmian w chromosomach 2A i 7A. Ukierunkowane zmiany były szczególnie rzadkie w subgenomie C, jednak wszystkie linie hodowlane wykazały obecność zmian na końcu chromosomu 4C. Co ciekawe, zmiany tej nie zaobserwowano w grupie współczesnych polskich odmian. W subgenomie D wyraźnie ukierunkowana zmiana nastąpiła na końcu chromosomu 5D. Natomiast w przypadku chromosomów 2D i 3D programy hodowlane nie wprowadziły znaczących zmian.

Subgenomy owsa, w wyniku częstych rearanżacji genomowych, charakteryzują się mozaikową architekturą (Chaffin i in. 2016, Yan i in. 2016), a efektem licznych translokacji jest zróżnicowana liczba genów przypadająca na poszczególne genomy. Badanie chromosomów owsa ujawniło najniższą liczbę genów w subgenomie C w wyniku translokacji regionów bogatych w geny z subgenomu C do A i D (Kamal i in. 2022, Peng i in. 2022). Przykładami genów, które nie występują w subgenomie C są kodujące białka zapasowe, aweniny i globuliny, geny zidentyfikowane jedynie na chromosomach subgenomów A (1A, 4A, 7A) i D (1D, 3D, 4D) (Kamal i in. 2022). Co ciekawe, ze względu na dużą liczbę powtarzających się sekwencji subgenom C jest o około 20% większy niż A i D (Peng i in. 2022). Ponadto, badanie różnic w ekspresji genów pochodzących z różnych subgenomów ujawniło preferencyjną ekspresję z subgenomów D lub A, w porównaniu z C (Kamal i in. 2022, Peng i in. 2022).

W pracy podjęto również próbę wyodrębnienia kolekcji bazowej, czyli minimalnej grupy odmian reprezentującej całe zróżnicowanie genetyczne badanej populacji. Z przebadanych 487 form wyodrębniono 289, wśród których znalazło się: 27 współczesnych polskich odmian, 35 odmian zagranicznych, 15 odmian historycznych, 54 linie DC, 81 linii POB i 76 - STH. Szczególny nacisk należy położyć na utrzymanie tych materiałów hodowlanych i odmian w bankach genów, aby ułatwić przyszłe wykorzystanie tych zasobów genetycznych przez naukowców i hodowców.

Przeprowadzone badania wykazały, że polska hodowla owsa oparta głównie na tradycyjnych metodach hodowli – choć nastawiona na zwiększenie plonu i jakości ziarna oraz poprawę zdolności adaptacyjnych – nie zawęziła znacząco puli genowej owsa i wykształciła odmiany, które nie tylko są konkurencyjne na rynku europejskim, ale są także rezerwuarem nowych alleli, których nie stwierdzono w analizowanych materiałach obcych.

#### 4.3. Ocena cech plonotwórczych mieszańców międzygatunkowych owsa zwyczajnego z *A. fatua*.

P.3. Koroluk A., Sowa S., Paczos-Grzęda E.\* (2022). Characteristics of progenies derived from bidirectional *Avena sativa* L. and *Avena fatua* L. crosses. *Agriculture* 12(11), DOI: 10.3390/agriculture12111758

Dotychczasowe badania potwierdzają, że owies zwyczajny ma bardzo wąską pulę genów (Paczos-Grzęda 2004, Montilla-Bascon i in. 2013, Boczkowska i in. 2015, Koroluk i in. 2022). W celu poszerzenia zmienności genetycznej owsa od lat 70. ubiegłego wieku prowadzono krzyżowania międzygatunkowe gdyż udowodniono, że będące przodkami owsa zwyczajnego gatunki dzikie są bogatym źródłem korzystnych alleli (Sowa i in. 2016, Okoń i in. 2018, Paczos-Grzęda i in. 2019, Paczos-Grzęda i in. 2021). Jako źródło nowych alleli wykorzystywano *A. sterilis* i *A. fatua* (Rines i in. 1980, Luby i Stuthman 1983, Morikawa i in. 2007). W rodzaju *Avena* nie istnieją bariery krzyżowalności w obrębie gatunków heksaploidalnych, a mieszańce pomiędzy *A. sativa*, *A. byzantina*, *A. fatua* i *A. sterilis* można uzyskać stosunkowo łatwo, niemniej jednak z uwagi na morfologię wiechy owsa efektywność krzyżowań, nawet międzyodmianowych, jest bardzo niska i wynosi maksymalnie 2-3% (Rajhathy i Thomas 1974).

Hodowcy, głównie ze względów ekonomicznych, wykorzystują do krzyżowań już istniejące odmiany lub linie będące efektem krzyżowań w obrębie *A. sativa*, aby uniknąć niepożądanych alleli pochodzących od dzikich przodków mogących negatywnie wpływać na plon (Koroluk i in. 2022). Ciągła selekcja w obrębie potomstwa mieszańców uzyskanych w wyniku krzyżowania między sobą wysoce spokrewnionych materiałów umożliwia wytworzenie wysoko plonujących odmian dobrze przystosowanych do warunków uprawy bez konieczności eliminacji niepożądanych cech, co znacznie przyspiesza proces hodowlany, jednak niesie za sobą ryzyko znacznego zawężenia puli genowej gatunku, czyli „erozji genetycznej” (Harlan 1972, Li i in. 2022). Dlatego też, za tworzenie mieszańców międzygatunkowych odpowiedzialne są bardzo często instytucje naukowe dostarczające wstępnie ocenionych i wyselekcjonowanych linii. Podczas selekcji uwzględnia się wiele cech fenotypowych, pośrednio lub bezpośrednio wpływających na plon i decydujących o wartości hodowlanej mieszańców (Boczkowska i in. 2016).

Krzyżowania międzygatunkowe polskich odmian *A. sativa* z *A. sterilis* i *A. fatua* prowadzono w Instytucie Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin UP w Lublinie od 1997 r. W obrębie segregującego potomstwa identyfikowano linie charakteryzujące się korzystnymi cechami i przekazywano hodowcom do dalszych krzyżowań lub selekcji (Chrząstek i Paczos-Grzęda 2003, Paczos-Grzęda 2003, Chrząstek i in. 2010). Badania



opisane w publikacji P.3 są kontynuacją wcześniejszych wysiłków i próbą określenia wpływu kierunku krzyżowania na cechy agronomiczne, w tym możliwości poszerzenia zmienności genetycznej owsa poprzez krzyżowanie z *A. fatua*.

Ocenie fenotypowej poddano 30 roślin każdej z badanych form rodzicielskich oraz 158 roślin pokolenia F<sub>2</sub> z kombinacji mieszańcowej *A. fatua* L. '51532' × *A. sativa* L. cv. Sam i 152 rośliny *A. sativa* L. cv. Sam × *A. fatua* L. '51532'. Wysokość badanych form rodzicielskich wyniosła średnio 130 cm dla odmiany 'Sam' i 139,7 cm dla *A. fatua* '51532', zaś wysokość mieszańców zawierała się w przedziale 65 - 156 cm w kombinacji 'Sam' × '51532' (średnio 121 cm) oraz 98 - 170 cm w '51532' × cv. Sam (średnio 135 cm). Rośliny populacji 'Sam' × '51532' były istotnie niższe od form rodzicielskich oraz roślin populacji '51532' × cv. Sam, natomiast rośliny populacji '51532' × cv. Sam nie różniły się istotnie od form rodzicielskich. Średnica drugiego od dołu międzywęźla pędu głównego różniła się istotnie u obu form rodzicielskich i w obu populacjach. U odmiany 'Sam' średnica drugiego od dołu międzywęźla wynosiła średnio 6,5 mm, natomiast u *A. fatua* '51532' była znacznie mniejsza, średnio 3,6 mm. U osobników obu populacji mieszańcowych międzywęźla miały zróżnicowaną grubość; w przypadku 'Sam' × '51532' średnica międzywęźla wahała się od 2,1 do 7,6 mm, a dla populacji '51532' × cv. Sam wynosiła od 2,9 do 7,7 mm. Wysokość roślin i średnica drugiego od dołu międzywęźla umożliwiały oszacowanie współczynnika wylegania, którego najniższą, a zarazem najbardziej pożądaną, wartość zaobserwowano u *A. sativa* cv. Sam (20,2), zaś najwyższą u *A. fatua* '51532' (39,6). W przypadku populacji F<sub>2</sub> większe zróżnicowanie cechy zaobserwowano u mieszańców '51532' × cv. Sam, ale korzystniejsze współczynniki uzyskano dla roślin z populacji cv. Sam × '51532', co wskazuje na potencjalnie mniejszą tendencję osobników z tej kombinacji mieszańcowej do wylegania.

Oceniając krzewienie badanych roślin stwierdzono istotnie większą liczbę zarówno pędów produkcyjnych, jak i nieprodukcyjnych u formy rodzicielskiej *A. fatua* '51532', co jest typowe dla gatunków dzikich (Chrzastek i Paczos-Grzęda 2003). Zarówno w roślinach rodzicielskich, jak i roślinach pokolenia F<sub>2</sub> powstawało więcej pędów produkcyjnych niż nieprodukcyjnych. Dodatkowo w populacjach F<sub>2</sub> odnotowano znaczny wzrost liczby pędów produkcyjnych i nieprodukcyjnych w porównaniu z *A. sativa* 'Sam', co wskazuje na zwiększone krzewienie u mieszańców z *A. fatua* obserwowane już we wcześniejszych pracach (Chrzastek i Paczos-Grzęda 2003).

Liczba międzywęźli w pędzie głównym odmiany 'Sam' wynosiła od 5 do 6, podczas gdy rośliny *A. fatua* formowały od 3 do 6 międzywęźli. Minimalna liczba międzywęźli

zaobserwowana w populacjach wynosiła 3; maksymalna od 6 do 7. Średnia długość dokłosa w odmianie 'Sam' wyniosła 50 cm, zaś u *A. fatua* '51532' 55,7 cm. Duże zróżnicowanie badanej cechy stwierdzono w populacjach mieszańcowych, gdzie wartość ta zawierała się w przedziale 31 - 79 cm oraz 22 - 90 cm, odpowiednio w populacjach '51532' × cv. Sam i cv. Sam × '51532'. Długość wiech form rodzicielskich wahała się od 22 do 29 cm u roślin odmiany 'Sam' i od 14 do 28 cm u roślin *A. fatua* '51532'. Zaobserwowano, że rośliny odmiany Sam i mieszańce '51532' × cv. Sam miały znacznie dłuższe wiechy główne w porównaniu do *A. fatua* '51532' i mieszańców Sam × '51532'. Najdłuższe wiechy (35 - 36 cm) występowały u mieszańców F<sub>2</sub> obu populacji. Krzyżowanie z *A. fatua* może powodować u mieszańców redukcję liczby międzywęzli oraz wydłużenie dokłosa i wiechy. Tego typu zmiany, następujące pod wpływem genów *A. fatua*, można wykorzystać w krzyżowaniach z formami posiadającymi gen *Dw6* redukujący długość źdźbła. Obecność genu *Dw6* wpływa na skrócenie dokłosa i wiechy, co skutkuje niepełnym wysuwaniem się wiechy z pochwy liściowej, negatywnie wpływa na plon i ogranicza wykorzystanie tego genu w hodowli owsa (Paczos-Grzęda i Grądzielewska 2012). Można rozważyć krzyżowanie krótkosłomych form owsa posiadających *Dw6* z *A. fatua*.

Kolejną analizowaną cechą była wczesność wyrażona jako liczba dni od 1 maja do daty wiechowania. Cecha ta nie była skorelowana z żadnym z analizowanych parametrów. Wiechy *A. fatua* '51532' pojawiały się najpóźniej, średnio 58,7 dnia licząc od 1 maja, co statystycznie odróżniało tę grupę od analizowanych populacji. U *A. sativa* 'Sam' okres ten był o kilka dni krótszy i wynosił średnio 54,3 dnia, zaś w populacjach Sam × '51532' oraz '51532' × Sam, odpowiednio 53,5 i 54,1 dnia, przy czym w obu populacjach zaobserwowano formy kwitnące wcześniej niż obie formy rodzicielskie, czyli 46-47 dni po 1 maja. Jednocześnie nie stwierdzono roślin mieszańcowych, które kwitłyby później, aniżeli *A. fatua*. Owies jest szczególnie podatny na suszę w okresie kwitnienia, dlatego termin wiechowania ma fundamentalne znaczenie w klimacie umiarkowanym, gdyż wczesne wiechowanie umożliwia uniknięcie suszy (Canales i in. 2021) i może być kluczowe dla światowej hodowli owsa w warunkach systematycznie ocieplającego się klimatu.

Największą średnią liczbę kłosek w wieszce stwierdzono u odmiany 'Sam' (103,3), a najmniejszą (38,7) u *A. fatua* '51532'. Średnia liczba kłosek w obu populacjach była na porównywalnym poziomie 53,2 dla Sam × '51532' i 55,2 dla '51532' × cv. Sam. Cecha ta była bardzo zróżnicowana w potomstwie i wahała się od 15 do 139 w populacji cv. Sam × '51532' i od 11 do 131 w '51532' × cv. Sam. Konsekwencją zróżnicowania liczby kłosek było zróżnicowanie liczby i masy ziarniaków z wiechy głównej. Średnia liczba, a także masa

ziarniaków z wiechy głównej w populacjach była wyższa niż formy rodzicielskiej ‘51532’; jednak znacznie niższa niż u odmiany ‘Sam’. Rośliny obu populacji wytworzyły wiechy o tej samej średniej masie ziarniaków (2,3 g) i porównywalnej liczbie ziarniaków wynoszącej maksymalnie 289 w populacji cv. Sam × ‘51532’ i 217 w populacji ‘51532’ × cv. Sam. Płodność kłoska była najwyższa w odmianie ‘Sam’ i wynosiła średnio 2,1, podczas gdy u *A. fatua* osiągała średnio 1,7. W populacjach mieszańcowych obserwowano istotne zróżnicowanie tej cechy, od 0,4 do 3,0. Analiza MTZ wykazała największą wartość (34,9 g) dla odmiany ‘Sam’, a najniższą (20,1 g) dla *A. fatua* ‘51532’. Zróżnicowanie tej cechy u mieszańców było duże i wahało się od 5,9 do 46,4 g w populacji Sam × ‘51532’ i od 2,5 do 38 g w populacji ‘51532’ × Sam. Niektóre rośliny badanych populacji charakteryzowały się wartością cech fenotypowych przewyższającą obie formy rodzicielskie. Dotyczyło to liczby kłosek w wieszce, liczby ziarniaków z wiechy, płodności kłoska czy MTZ i częściej takie rośliny obserwowano w populacji cv. Sam × ‘51532’. Występowanie szerszego zakresu zmienności cech w porównaniu z formami rodzicielskimi wynika z dużego zróżnicowania allelicznego form rodzicielskich, wielogenowe go dziedziczenia badanych cech oraz addytywnego działania genów (Xu i in. 2017). Zjawisko transgresji zaobserwowano m.in. dla parametrów związanych z czasem kwitnienia i wysokością plonowania u jęczmienia (Tondelli i in. 2014). Segregacja transgresywna i heterozja stanowią podstawę efektywnej hodowli roślin, umożliwiając uzyskanie genotypów o wartościach cech niespotykanych u form rodzicielskich (Mackay i in. 2021).

Analizując korelację cech, najwięcej, bo aż 13 skorelowanych parametrów ( $r > 0,65$ ) stwierdzono w odmianie ‘Sam’ i tylko dwie w populacji ‘51532’ × cv. Sam. Liczba ziarniaków była skorelowana z masą ziarniaków z wiechy głównej ( $r \approx 0,87$ ,  $p > 0,05$ ), niezależnie od tego, czy analizowano cały zbiór danych, czy też dane grupowano według populacji. Podobnie liczba kłosek była pozytywnie skorelowana z liczbą ziarniaków z wiechy głównej, a średnica drugiego międzywęzła była negatywnie skorelowana ze współczynnikiem wylegania ( $L_c$ ) ( $r < -0,69$ ). Wysokość rośliny była dodatnio skorelowana z długością dokłosa ( $r > 0,65$ ,  $p > 0,05$ ).

W obu populacjach mieszańcowych obserwowano segregację pod względem sposobu rozsiewania ziaren odpowiadającą dziedziczeniu monogenicznemu, przy czym allel recesywny warunkował osypywanie pojedynczych ziaren, zaś dominujący - brak osypywania zarówno ziaren, jak i kłosek. Osypywanie u form dzikich warunkuje rozprzestrzenianie się nasion i umożliwia przetrwanie gatunku (Maity i in. 2021). Udomowienie umożliwiło kontrolę tego procesu i pozwoliło na zwiększenie efektywności

zbioru oraz ograniczenie strat w plonie (Shirtliffe i in. 2002). W niniejszej pracy większość cech nie wykazywała istotnej korelacji z osypywaniem, z wyjątkiem liczby nieprodukcyjnych pędów w populacji '51532' × cv. Sam, w której rośliny nieosypujące krzewiły się słabiej. Można więc stwierdzić, że osypywanie jest cechą łatwą do eliminacji w procesie hodowlanym.

Reasumując, krzyżowanie z *A. fatua* zwiększyło, w porównaniu z odmianą 'Sam', liczbę pędów produkcyjnych i nieprodukcyjnych u mieszańców, obniżyło liczbę międzywęźli w pędzie głównym, liczbę kłosek i ziarniaków, masę ziarniaków w wieszce głównej i masę tysiąca ziarniaków. Niezależnie od kierunku krzyżowania średnica drugiego od dołu międzywęźla w pędzie głównym ulegała zmniejszeniu w porównaniu z odmianą 'Sam', natomiast długość dokłosa wydawała się być dziedziczona po formie matecznej. Badacze twierdzą, że nawet w mniej odległych krzyżówkach owsa można spodziewać się możliwych efektów jądro-cytoplazmatycznych, takich jak zwiększony plon linii z cytoplazmą *A. sterilis* (Beavis i Frey 1987) czy zwiększony poziom odporności na choroby (Simons 1985). Dodatkowo odnotowano istotne interakcje pomiędzy genami cytoplazmatycznymi a genami jądrowymi oddziałującymi na zawartości białka w ziarnie w mieszańcach międzygatunkowych *A. sativa* i *A. sterilis* (Rezai i Frey 1989).

*A. fatua* jest cennym źródłem genów udoskonalających owies uprawny. Charakterystyka cech fenotypowych potomstwa pochodzącego z krzyżówek dwukierunkowych pozwoliła na ocenę wpływu krzyżowania z *A. fatua* na obniżenie użyteczności agronomicznej powstałych mieszańców. Prawie wszystkie średnie wartości analizowanych cech w populacjach wahały się pomiędzy wartościami obu form rodzicielskich, jednakże w obu kombinacjach zaobserwowano genotypy transgresywne, o cechach przewyższających formy rodzicielskie. Szczególnie genotypy o zwiększonej płodności kłosa i masie 1000 ziaren mogą stanowić ciekawy materiał hodowlany. Uzyskane wyniki potwierdziły także wcześniejsze doniesienia o korelacji pomiędzy wysokością roślin a długością dokłosa; nie zaobserwowano jednak silnej korelacji pomiędzy wysokością a długością wiechy. Unikalną cechą gatunków dzikiego owsa jest także niekorzystne agronomicznie osypywanie. Przeprowadzone badania potwierdziły potencjalnie jednogenne dziedziczenie tej cechy u *A. fatua* i wykluczyły korelację z większością analizowanych cech, z wyjątkiem liczby pędów nieprodukcyjnych. Analiza statystyczna nie wykazała wpływu kierunku krzyżowania na parametry agronomiczne badanych populacji uzyskanych z krzyżówek międzygatunkowych z wyjątkiem długości dokłosa, które w analizowanych populacjach ulegało dziedziczeniu po linii matecznej.

## 5. Stwierdzenia i wnioski

---

1. Przeprowadzone badania wykazały, że polska hodowla owsa prowadzona od niemal 120 lat tradycyjnymi metodami, takimi jak selekcja czy krzyżowania międzyodmianowe i międzygatunkowe, choć ukierunkowana na poprawę plonowania i tolerancji na stesy biotyczne i abiotyczne, nie zawęziła znacząco puli genowej owsa. Oznacza to, że właściwie prowadzony proces hodowlany nie prowadzi do zawężenia zmienności genetycznej owsa zwyczajnego.
2. W procesie hodowlanym utracono stosunkowo niewielką liczbę alleli z wyjściowej puli genowej historycznych odmian hodowlanych i odmian miejscowych, a jednocześnie wprowadzono na ich miejsce wiele nowych alleli zapobiegając w ten sposób erozji genetycznej.
3. W rodowodach 72 badanych odmian zidentyfikowano 124 wyjściowe odmiany hodowlane i miejscowe, a także linie hodowlane, spośród których wyodrębniono pięciu głównych przodków: 'Markische Landsorte', 'selekcję z owsa Ligowo', 'Fransk Svarthavre', 'Blanche de Siberie' i 'selekcję z Schleswig-Holstein'. Stwierdzono, że co najmniej jedna z wyżej wymienionych odmian była obecna w rodowodach 78% analizowanych form. Analiza rodowodów wykazała, że polska hodowla owsa bazowała na wąskiej grupie dość silnie spokrewnionych odmian hodowlanych pochodzących głównie z Niemiec i Szwecji oraz lokalnych odmianach miejscowych.
4. Odmiany historyczne, są genetycznie odmienne od odmian współczesnych, co jest efektem wprowadzenia do puli genowej wielu nowych alleli poprzez krzyżowania międzyodmianowe i międzygatunkowe prowadzone w latach 70. i 80. XX w.
5. Nie stwierdzono istotnych różnic genetycznych między współczesnymi odmianami pochodzącymi z różnych firm hodowlanych analizując 72 polskie odmiany z lat 1893 - 2008, jednak porównując współczesne linie z trzech niezależnych programów hodowlanych (HR DANKO, HR Strzelce i MHR Polanowice) wyraźnie widoczna jest ich odrębność, co oznacza, że każda z firm wytworzyła materiał hodowlany w oparciu o inne pule alleliczne, które w różnym stopniu reprezentowane są w zarejestrowanych dotychczas odmianach.
6. Polskie odmiany stanowią rezerwuar nowych alleli, których nie ma w analizowanych odmianach zagranicznych, a jednocześnie odmiany zagraniczne są również

atrakcyjnym źródłem nowych alleli mogących poszerzyć krajową pulę genetyczną owsa.

7. Analiza rodowodowa jest metodą przeszacowującą różnicowanie genetyczne pomiędzy badanymi odmianami, a wyniki takiej analizy są szczególnie mylące w przypadku uwzględnionych w badaniu polskich odmian owsa, które wywodziły się z niewielkiej grupy spokrewnionych przodków.
8. Poziom korelacji wyników oceny podobieństwa genetycznego oszacowanego z wykorzystaniem systemów markerowych identyfikujących polimorfizm DNA oraz na podstawie rodowodów jest niski.
9. Badania wykazały, że oparte na PCR systemy markerowe ISSR i REMAP są efektywnymi, informacyjnymi i wiarygodnymi technikami dostarczającymi wysoce skorelowanych wyników oceny różnicowania genetycznego niemniej jednak poziom polimorfizmu DNA identyfikowany z wykorzystaniem wysokoprzepustowego sekwencjonowania, w tym przypadku DArTseq, jest wielokrotnie wyższy, stąd właśnie ta metoda byłaby metodą rekomendowaną w dalszych badaniach nad tym gatunkiem.
10. Przeprowadzone analizy wykazały, że ukierunkowana selekcja prowadzona w polskich programach hodowlanych wywołała zmiany na subgenomach A i D, głównie na chromosomie 6A oraz w mniejszym stopniu na 5D.
11. Analiza cech płonotwórczych roślin F<sub>2</sub> uzyskanych w wyniku dwukierunkowego, międzygatunkowego krzyżowania *A. fatua* z owsem zwyczajnym wykazała obecność w segregującym potomstwie transgresywnych rekombinantów możliwych do wykorzystania jako materiały wyjściowe w hodowli owsa, co potwierdza, że krzyżowanie z dzikim gatunkiem *A. fatua* przyczynić się może do poszerzenia zmienności genetycznej *A. sativa*.
12. Badania wykazały brak wpływu kierunku krzyżowania *A. fatua* z *A. sativa* na wartości analizowanych parametrów z wyjątkiem długości dokłosa, które w analizowanych populacjach ulegało dziedziczeniu po linii matecznej.
13. Przeprowadzone badania potwierdziły jednogenowe dziedziczenie osypywania ziarniaków typowe dla *A. fatua* i wykluczyły korelację osypywania z większością analizowanych cech, z wyjątkiem liczby pędów nieprodukcyjnych.

## 6. Bibliografia

---

1. Adamczewski K., Kierzek R., Matysiak K. 2013. Wild Oat (*Avena fatua* L.) Biotypes resistant to acetolactate synthase and acetyl-CoA carboxylase inhibitors in Poland. *Plant Soil Environ.* 59, 432–437.
2. Addinsoft XLSTAT 2019.4.1 statistical and data analysis solution. Long Island, NY, USA. New York, USA. <https://www.xlstat.com> 2019.
3. *Avena sativa* – OT3098 v2, PepsiCo. GrainGenes: a database for *Triticeae* and *Avena*. <https://wheat.pw.usda.gov/jb?data=/ggds/oat-ot3098v2-pepsico>.
4. Badaeva E.D., Shelukhina O.Yu., Diederichsen A., Loskutov I.G., Pukhalskiy V.A. 2010. Comparative cytogenetic analysis of *Avena macrostachya* and diploid C-genome *Avena* species. *Genome*, 53(2): 125–37.
5. Bajwa A.A., Akhter M.J., Iqbal N., Peerzada A.M., Hanif Z., Manalil S., Hashim S. 2017. Biology and management of *Avena fatua* and *Avena ludoviciana*: two noxious weed species of agro-Ecosystems. *Env. Sci Pollut Res*, 24, 19465–19479, doi:10.1007/s11356-017-9810-y.
6. Bartnikowska E., Lange E. 2000. Znaczenie dietetyczne przetworów owsianych, ich wpływ na stężenie cholesterolu w osoczu oraz poposiłkową glikemię. *Żywność. Nauka Technologia Jakość* 1,22, 18–35.
7. Baum B.R. 1977. Oats: Wild and Cultivated. A monograph of the genus *Avena* L. (Poaceae). Monogr. No. 14. Canada Dep. of Agric. Supply and Services Canada, Ottawa, ON.
8. Beavis W.D., Frey K.J. 1987. Expression of nuclear-cytoplasmic interactions and heterosis in quantitative traits of oats (*Avena* Spp.). *Euphytica*, 36, 877–886, doi:10.1007/BF00051873.
9. Bekele W.A., Wight C.P., Chao S., Howarth C.J., Tinker N.A. 2018. Haplotype based genotyping-by-sequencing in oat genome research. *Plant Biotechnol. J.* 16, 1452–1463, doi:10.1111/pbi.12888.
10. Bickelmann U. 1989. The Pedigree of German oat cultivars (*Avena sativa* L.) and the occurrence of fatuoids. *Plant Breed* 103:163–170.
11. Bjørnstad Å., He X., Tekle S., Klos K., Huang Y.F., Tinker N.A., Dong Y., Skinnnes H. 2017. Genetic variation and associations involving Fusarium head blight and deoxynivalenol accumulation in cultivated oat (*Avena sativa* L.). *Plant Breed.* 136, 620–636, doi:10.1111/PBR.12502.
12. Blanco A. M., Chantre G.R., Lodovichi M.V., Bandoni J.A., López R.L., Vigna M.R., (...) Sabbatini, M.R. 2014. Modelling seed dormancy release and germination for predicting *Avena fatua* L. field emergence: A genetic algorithm approach. *Ecophysiological Modelling*, 272, 293–300.
13. Boczkowska M., Harasimiuk M., Onyśk A. 2015. Studies on genetic variation within old Polish cultivars of common oat. *Cereal Res. Commun.* 43, 12–21, doi:10.1556/crc.2014.0025.
14. Boczkowska M., Łapiński B., Kordulasińska I., Dostatny D.F., Czembor J.H. 2016. Promoting the use of common oat genetic resources through diversity analysis and core collection construction. *PLoS One*, 11, e0167855, doi:10.1371/journal.pone.0167855.
15. Boczkowska M., Nowosielski J., Nowosielska D., Podyma W. 2014. Assessing genetic diversity in 23 early Polish oat cultivars based on molecular and morphological studies. *Genet. Resour. Crop Evol.* 61, 927–941, doi:10.1007/s10722-014-0087-4.
16. Boczkowska M., Onyśk A. 2016. Unused Genetic Resources: A case study of Polish common oat germplasm. *Ann. Appl. Biol.* 169, 155–165, doi:10.1111/aab.12289.
17. Boczkowska M., Tarczyk E. 2013. Genetic diversity among Polish landraces of common oat (*Avena sativa* L.). *Genet. Resour. Crop Evol.* 60, 2157–2169, doi:10.1007/s10722-013-9984-1.
18. Briggie L.W., Youngs V.I. 1975. Collection and evaluation of *Avena fatua* L. *Oat Newsl.* 1975, 25, 9–10.
19. Burrows V.D. 1986. Breeding oats for food and feed: conventional and new techniques and materials. In *Oats: Chemistry and technology*. Webster F.H. red., St. Paul, Minnesota USA, 13–46.
20. Canales F.J., Montilla-Bascón G., Bekele W.A., Howarth C.J., Langdon T., Risipail N., Tinker N.A., Prats E. 2021. Population genomics of Mediterranean oat (*A. sativa*) reveals high genetic diversity and three loci for heading date. *Theor. Appl. Genet.* 134, 2063–2077, doi:10.1007/s00122-021-03805-2.

21. Carlson M.O., Montilla-Bascon G., Hoekenga O.A., Tinker N.A., Poland J., Baseggio M., Sorrells M.E., Jannink J.L., Gore M.A., Yeats T.H. 2019. Multivariate genome-wide association analyses reveal the genetic basis of seed fatty acid composition in oat (*Avena sativa* L.). *G3* 9, 2963–2975, doi:10.1534/G3.119.400228.
22. Cavan G., Biss P., Moss S. R. 1998. Herbicide resistance and gene flow in wild oats (*Avena fatua* and *Avena sterilis* ssp. *ludoviciana*). *Ann. Appl. Biol.* 133: 207 — 217.
23. Chaffin A.S., Huang Y.-F., Smith S., Bekele W.A., Babiker E., Gnanesh B.N., Foresman B.J., Blanchard S.G., Jay J.J., Reid R.W., i in. 2016. A consensus map in cultivated hexaploid oat reveals conserved grass synteny with substantial subgenome rearrangement. *Plant Genome* 9. doi.org/10.3835/plantgenome2015.10.0102.
24. Chrzastek M., Kruk K., Wójtowicz E. 2010. Zmienność mieszańców międzygatunkowych owsa pod względem niektórych cech plonotwórczych wiechy głównej. *Zesz. Probl. Postęp. Nauk Rol.* z. 556 Cz. I s. 357-365.
25. Chrzastek M., Paczos-Grzęda E. 2003. Analiza molekularna i cytologiczna oraz ocena niektórych cech ilościowych mieszańców międzygatunkowych *Avena sativa* L. × *A. fatua* L. *Biul. IHAR* 230: 387-397.
26. COBORU. 2023. Centralny Ośrodek Badania Odmian Roślin Uprawnych. Krajowa Lista Odmian Roślin Rolniczych. <http://coboru.gov.pl>.
27. Cruz V.M. V, Kilian A., Dierig D.A. 2013. Development of DArT marker platforms and genetic diversity assessment of the U.S. collection of the new oilseed crop lesquerella and related species. *PLoS One* 8, e64062, doi:10.1371/journal.pone.0064062.
28. Darmency H, Aujas C. 1992. Genetic diversity for competitive and reproductive ability in wild oats (*Avena fatua*). *Weed Sci.* 40(2):215-219, doi:10.1017/S0043174500057258.
29. DArT. 2023. Diversity Arrays Technology Pty Ltd. <http://www.diversityarrays.com>.
30. De Koeber D.L., Tinker N.A., Wight C.P., Deyl J., Burrows V.D., O'Donoghue L.S., Lybaert A., Molnar S.J., Armstrong K.C., Fedak G., i in. 2004. A molecular linkage map with associated QTLs from a hulless x covered spring oat population. *Theor. Appl. Genet.* 108, 1285–1298, doi:10.1007/S00122-003-1556-X/TABLES/6.
31. Diederichsen A. 2007. Assessments of genetic diversity within a world collection of cultivated hexaploid oat (*Avena sativa* L.) based on qualitative morphological characters. *Genet. Resour. Crop Evol.* 55, 419-440, doi.org/10.1007/s10722-007-9249-y.
32. Doyle J.J., Doyle J.L. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem. Bull.* 19, 11–15.
33. Dziurdziak J., Gryziak G., Groszyk J., Podyma W., Boczkowska M. 2021. DArTseq genotypic and phenotypic diversity of barley landraces originating from different countries. *Agronomy* 11, 2330, doi:10.3390/ agronomy11112330.
34. Dziurdziak J., Podyma W., Bujak H., Boczkowska M. 2022. Tracking changes in the spring barley gene pool in Poland during 120 years of breeding. *Int. J. Mol. Sci.* 23, 1–25. doi.org/10.3390/ ijms23094553.
35. FAOSTAT 2023. Database. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <https://www.fao.org/faostat/en/#data>
36. Fogarty M.C., Smith S.M., Sheridan J.L., Hu G., Islamovic E., Reid R., Jackson E.W., Maughan P.J., Ames N.P., Jellen E.N., i in. 2020. Identification of mixed linkage β-glucan quantitative trait loci and evaluation of AsCslF6 homoeologs in hexaploid oat. *Crop Sci.* 60, 914–933, doi:10.1002/CSC2.20015.
37. Frey K. J. 1986. Genetic resources and their use in oat breeding. W: Proc.of the 2nd Int Oat Conf. July 15–18, 1985 Aberystwyth, U.K. Red. D.A. Lawes, H. Thomas. [red.], Springer, Netherlands, 7–1.5
38. Frey K.J. 1992. Oat improvement with genes from *Avena species*. W: Barr AR, Medd RW (red.) Proceedings of the 4th international oat conference, vol 2: Wild oats in agriculture. 19-23 Oct 1992, Adelaide, SA, Australia, 61-64.
39. Frey L. 1991. Distribution of *Avena strigosa* (*Poaceae*) in Europe. *Fragm. Flor. Geobot.*, 36(2): 281-288.
40. Frey L., Rutkowski L. 2002. Wykaz gatunków (suplement 3) W: Polska księga traw. L. Frey. (red.) Kraków, Instyt. Bot. im. W. Szafera 87–95.



41. Fu Y.B., Peterson G.W., Williams D., i in. 2005. Patterns of AFLP variation in a core subset of cultivated hexaploid oat germplasm. *Theor. Appl. Genet.* 111, 530-539, doi.org/10.1007/s00122-005-2044-2.
42. Gąsiorowski H., 1999. Współczesny pogląd na walory fizjologiczno-żywniowe owsa. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość* 1,18, Supl., 193-195.
43. Górny A.G. 2005. Zarys genetyki owsa (rodzaj *Avena* L.). W: Górny, A.G. (Red.), *Zarys genetyki zbóż*, t. 2. Pszenica, kukurydza, owies. IGR PAN, Poznań, 311–422.
44. Gruber B., Unmack P.J., Berry O.F., Georges A. 2018. DArTR: An R package to facilitate analysis of SNP data generated from reduced representation genome sequencing. *Mol. Ecol. Resour.* 18, 691–699, doi:10.1111/1755-0998.12745.
45. Gu Z., Gu L., Eils R., Schlesner M., Brors B. 2014. circlize Implements and enhances circular visualization in R. *Bioinformatics* 30, 2811–2812, doi:10.1093/BIOINFORMATICS/BTU393.
46. GUS. 2023. Główny Urząd Statystyczny . <https://stat.gov.pl>.
47. Hammer Ø., Harper D.A.T., Ryan P.D. 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontol. Electron.* 4, 1–9.
48. Harlan J.R. 1972. Genetics of Disaster. *J. Environ. Qual.* 1, 212–215, doi:10.2134/JEQ1972.00472425000100030002X.
49. Harlan J.R., de Wet J.M.J. 1971. Toward a rational classification of cultivated plants. *Taxon* 20, 509–517.
50. Herrmann M.H., Mohler V. 2018. Locating two novel genes for resistance to powdery mildew from *Avena byzantina* in the oat genome. *Plant Breed.* 137, 832–838, doi:10.1111/pbr.12655.
51. Huang Y.F., Poland J.A., Wight C.P., Jackson E.W., Tinker N.A. 2014. Using Genotyping-By-Sequencing (GBS) for genomic discovery in cultivated oat. *PLoS One* 9, doi:10.1371/journal.pone.0102448.
52. Hubisz M.J., Falush D., Stephens M., Pritchard J.K. 2009. Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Mol. Ecol. Resour.* 9, 1322–1332.
53. Jellen E. N., Wight C. P., Spannagl M., Blake V. C., Chong J., Herrmann M. H., Howarth C J., Huang Y-F, Juqing J., Katsiotis A., Langdon T., Li Ch., Park R., Tinker N. A., Sen T. Z. 2024. A uniform gene and chromosome nomenclature system for oat (*Avena* spp.). *Crop & Pasture Sci.* 75, CP23247. doi.org/10.1071/CP23247.
54. Jellen E.N., Beard J. 2000. Geographical distribution of a chromosome 7C and 17 intergenomic translocation in cultivated oat. *Crop Sci.* 40, 256-263. doi.org/10.2135/cropsci2000.401256x.
55. Jellen E.N., Rines H.W., Fox S.L., Davis D.W., Phillips R.L., Gill B.S. 1997. Characterization of SUN II oat monosomics through C-banding and identification of eight new Sun II monosomics. *Theor. Appl. Genet.* 95, 1190-1195. doi.org/10.1007/s001220050680.
56. Kalendar R., Grob T., Regina M., Suoniemi A., Schulman A. 1999. IRAP and REMAP: Two new retrotransposon-based DNA fingerprinting techniques. *Theor. Appl. Genet.* 98, 704–711. doi:10.1007/s001220051124.
57. Kalinowski S.T. 2005. hp-rare 1.0: a computer program for performing rarefaction on measures of allelic richness. *Mol. Ecol. Notes* 5, 187–189. doi:10.1111/J.1471-8286.2004.00845.X.
58. Kamal N., Tsardakas R.N., Bentzer J., Gundlach H., Haberer G., Juhász A., Lux T., Bose U., Tye-Din J.A., Lang D., i in. 2022. The mosaic oat genome gives insights into a uniquely healthy cereal crop. *Nature* 606, 113–119. doi:10.1038/s41586-022-04732-y.
59. Khan I.A., Gul H., Khan B.M., Ihsanullah D., Syed M.A., Naqib U.K., Sheraz A.K., Farhatullah A. 2010. Interaction of wild oat (*Avena fatua* L.) with divergent wheat cultivars.. *Pak. J. Bot.* 42(2): 1051-1056,.
60. Kianian S.F., Egli M.A., Phillips R.L., Rines H.W., Somers D.A., Gengenbach B.G., Webster F.H., Livingston S.M., Groh S., O'Donoghue L.S., i in. 1999. Association of a major groat oil content QTL and an acetyl-CoA carboxylase gene in oat. *Theor. Appl. Genet.* 98, 884–894. doi:10.1007/S001220051147/METRICS.
61. Kianian S.F., Phillips R.L., Rines H.W., Fulcher R.G., Webster F.H., Stuthman D.D. 2000. Quantitative trait loci influencing  $\beta$ -glucan content in oat (*Avena sativa*,  $2n=6x=42$ ). *Theor. Appl. Genet.* 101, 1039–1048. doi:10.1007/S001220051578/METRICS.

62. Kianian S.F., Wu B.-Ch., Fox S.L., Rines H.W., Phillips R.L. 1997. Aneuploid marker assignment in hexaploid oat with the C genome as a reference for determining remnant homoeology. *Genome* 40, 386-396. doi.org/10.1139/g97-052.
63. Kilian A., Wenzl P., Huttner E., Carling J., Xia L., Blois H., Caig V., Heller-Uszynska K., Jaccoud D., Hopper C. i in. 2012. Diversity Arrays Technology: a generic genome profiling technology on open platforms. in data production and analysis in population genomics: methods and protocols, *Methods in Molecular Biology*; Pompanon F., Bonin A. (red.); Springer Science+Business Media: New York. Vol. 888, 67–89 ISBN 978-1-61779-869-6.
64. Kilian B., Graner A. 2012. NGS technologies for analyzing germplasm diversity in genebanks. *Briefings in functional genomics*. Vol.11. No 1: 38 — 50.
65. Kim K.W., Chung H.K., Cho G.T., Ma K.H., Chandrabalan D., Gwag J.G., Kim T.S., Cho E.G., Park Y.J. 2007. PowerCore: a program applying the advanced M strategy with a heuristic search for establishing core sets. *Bioinformatics* 23, 2155–2162. doi:10.1093/BIOINFORMATICS/BTM313.
66. Klichowska M. 1972. Rośliny naczyniowe w znaleziskach kulturowych Polski północno-zachodniej. PTPN, Wyd. Mat.-Przyr. Kom. Bot.
67. Koroluk A., Paczos-Grzęda E., Sowa S., Boczkowska M., Toporowska J. 2022. Diversity of Polish oat cultivars with a glance at breeding history and perspectives. *Agronomy-Basel* 12(10), 2423. doi:10.3390/agronomy12102423.
68. Krajowe Centrum Roślinnych Zasobów Genowych. 2023. <https://bankgenow.edu.pl/en>
69. Langer I., Frey K.J., Bailey T.B. 1978. Production response and stability characteristics of oat cultivars developed in different eras. *Crop Sci.* 18, 938-942. doi.org/10.2135/crops ci 1978.0011183X001800060006x.
70. Leggett J.M. 1992. Classification and Speciation in *Avena*. W: Oat Science and Technology; Marshall H.G., Sorrells M.E. (red.); Agronomy Monograph; American Society of Agronomy, Crop Science Society of America: Madison, WI, USA, Vol. Agronomy M, s. 29–52, ISBN 978-0-89118-225-2.
71. Leggett J.M. 1996. Using and conserving *Avena* genetic resources. W: Proc. 5th Int. Oat Conf. Canada, s. 128-132.
72. Leggett J.M., Markhand G.S. 1995. The genomic structure of *Avena* revealed by GISH. W: P.E. Brandham, M.D. Bennett (red.), Kew Chromosome Conference IV, Royal Botanic Gardens, s. 133-139.
73. Leggett J.M., Thomas H. 1995. Oat evolution and cytogenetics. W: Oat Crop Production and Utilization. Welch R. (red.), Chapman & Hall, London.
74. Lentini G., Nigro F., Colucci Cante R., Passannanti F., Gallo M., Budelli A.L., Nigro R. 2022. Functional Properties of an oat-based postbiotic aimed at a potential cosmetic formulation. *Fermentation* 8, 632. doi.org/10.3390/fermentation8110632.
75. Lewicki S., Mazurek J. 1971. Owies. PWRiL, Warszawa.
76. Li Y., Shi F., Lin Z., Robinson H., Moody D., Rattey A., Godoy J., Mullan D., Keeble-Gagnere G., Hayden M.J., i in. 2022. Benefit of introgression depends on level of genetic trait variation in cereal breeding programmes. *Front. Plant Sci.* 13, 1926. doi:10.3389/fpls.2022.786452.
77. Loskutov I.G. 1998. The collection of wild oat species of C.I.S. as a source of diversity in agricultural traits. *Genet. Resour. Crop Evol.* 45, 291-295. doi.org/10.1023/A:1008643705223.
78. Loskutov I.G. 2001. Interspecific crosses in the genus *Avena* L. *Rus. J Genet* 37(5): 467-475.
79. Loskutov I.G., Rines H.W. 2011. *Avena*. W: Wild crop relatives: genomic and breeding resources: Cereals. Kole C. (red.); Springer, Heidelberg s. 109-183.
80. Luby J.J., Stuthman D.D. 1983. Evaluation of *Avena sativa* L./ *A. fatua* L. progenies for agronomic and grain quality characters. *Crop Sci.* 23, 1047–1052. doi:10.2135/crops ci 1983.0011183x002300060007x.
81. Mackay I.J., Cockram J., Howell P., Powell W. 2021. Understanding the classics: the unifying concepts of transgressive segregation, inbreeding depression and heterosis and their central relevance for crop breeding. *Plant Biotechnol. J.* 19, 26–34. doi:10.1111/PBI.13481.

82. Maity A., Lamichaney A., Joshi D.C., Bajwa A., Subramanian N., Walsh M., Bagavathiannan M. 2021. Seed shattering: a trait of evolutionary importance in plants. *Front Plant Sci.* 12:657773; DOI=10.3389/fpls.2021.657773.
83. Mazurek J., Mazurek J., Król M. 1993. Wpływ odmiany, gleby i agrotechniki na plonowanie owsa. *Biologia i agrotechnika owsa*. Red. Mazurek J., IUNG, Puławy, 247-308.
84. Milach S.C., Rines H.W., Phillips R.L., Stuthman D.D., Morikawa T. 1997. Inheritance of a new dwarfing gene in oat. *Crop Sci.* 38, 356-360. doi.org/10.2135/cropsci.1998.0011183X003800020013x.
85. Milczarski P. 2008. Identification of QTL determining flag leaf length in two rye mapping populations *Secale cereale* L. *Biul. Inst. Hod. i Aklim. Roślin* 250, 203–209.
86. Mohamed M.A., Mohamed T.M., Mohamed S.A., Fahmy A.S. 2000. Distribution of lipases in the gramineae. partial purification and characterization of esterase from *Avena fatua*. *Bioresour. Technol.* 73, 227–234. doi:10.1016/S0960-8524(99)90162-1.
87. Mohler V., Paczos-Grzęda E., Sowa, S. 2023. Loving the alien: the contribution of the wild in securing the breeding of cultivated hexaploid wheat and oats. *Agriculture* 13, 2060. doi.org/10.3390/agriculture13112060.
88. Montilla-Bascón G., Rispaill N., Sánchez-Martín J., Rubiales D., Mur L.A.J., Langdon T., Howarth C.J., Prats E. 2015. Genome-wide association study for crown rust (*Puccinia coronata* f. sp. *avenae*) and powdery mildew (*Blumeria graminis* f. sp. *avenae*) resistance in an oat (*Avena sativa*) collection of commercial varieties and landraces. *Front. Plant Sci.* 6, 103.
89. Montilla-Bascón G., Sánchez-Martín J., Rispaill N., Rubiales D., Mur L., Langdon T., Griffiths I., Howarth C., Prats E. 2013. Genetic diversity and population structure among oat cultivars and landraces. *Plant Mol. Biol. Report.* 31, 1305–1314. doi:10.1007/s11105-013-0598-8.
90. Morikawa T., Sumiya M., Kuriyama S. 2007. Transfer of new dwarfing genes from the weed species *Avena fatua* into Cultivated Oat *A. byzantina*. *Plant Breed.* 126, 30–35. doi:10.1111/J.1439-0523.2007.01309.X.
91. Murphy J.P., Hoffman L.A. 1992. The Origin, History, and Production of Oat. W: Oat science and technology; Marshall H.G., Sorrells M.E. (red.), American Society of Agronomy. Agron. Monogr.: Madison. WI. USA, p. 27.
92. Nečajeva J., Bleidere M., Jansone Z., Gailīte A., Ruņģis D. 2021. Variability of seed germination and dormancy characteristics and genetic analysis of Latvian *Avena fatua* populations. *Plants.* 10:235. doi:10.3390/plants10020235.
93. Ociepa T., Okoń S. 2022. Chromosomal location of *Pm12* - a novel powdery mildew resistance gene from *Avena sterilis*. *Genes* 13, 2409. doi.org/10.3390/genes13122409.
94. Ociepa T., Okoń S.M., Nucia A., Leśniowska-Nowak J., Paczos-Grzęda E., Bisaga M. 2020. Molecular identification and chromosomal localization of new powdery mildew resistance gene *Pm11* in oat. *Theor. Appl. Genet.* 133, 179-185. doi.org/10.1007/s00122-019-03449-3.
95. Okoń S., Ociepa T., Paczos-Grzęda E., Ladizinsky G. 2018. Evaluation of resistance to *Blumeria graminis* (DC.) f. sp. *avenae*, in *Avena murphyi* and *A. magna* genotypes. *Crop Prot.* 106, 177-181. doi.org/10.1016/j.cropro.2017.12.025.
96. Okoń S.M., Chrzastek M., Kowalczyk K., Koroluk A. 2014. Identification of new sources of resistance to powdery mildew in oat. *Eur. J. Plant Pathol.* 139, 9–12. doi:10.1007/s10658-013-0367-4.
97. Owen M.J., Powles S.B. 2009. Distribution and frequency of herbicide-resistant wild oat (*Avena* Spp.) across the Western Australian Grain Belt. *Crop Pasture Sci.* 60, 25–31.
98. Paczos-Grzęda E. 2003. Charakterystyka wybranych cech ilościowych międzygatunkowych mieszańców heksaploidalnego owsa *Avena sativa* L. × *Avena sterilis* L. and Initial Forms. *Biul. Inst. Hod. i Aklim. Roślin* 33–41.
99. Paczos-Grzęda E., Bednarek P.T., Koroluk A., Nita Z., Banaszak Z., Bichonski A., Chmiel M., Gradzielewska A., Nowaczyk K., Szolkowska A., i in. 2014. Genetic similarity assessment among selected naked oat cultivars and breeding lines using ISSR markers. *Not. Bot. Horti Agrobot. Cluj-Napoca* 42, 66–72. doi:10.15835/nbha4219470.
100. Paczos-Grzęda E. 2004. Pedigree, RAPD and simplified AFLP-based assessment of genetic relationships among *Avena sativa* L. cultivars. *Euphytica* 138, 13–22. doi:10.1023/B:EUPH.0000047055.99322.7a.

101. Paczos-Grzęda E. 2007. Wykorzystanie metod ISSR i RAPD oraz analizy rodowodów do oceny podobieństwa międzyodmianowego *Avena sativa*. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol. 517, 547–558.
102. Paczos-Grzęda E., Bednarek P.T. 2014. Comparative analysis of hexaploid *Avena* species using REMAP and ISSR methods. Turk. J. Botany 38, 1103–1111. doi:10.3906/bot-1403-10.
103. Paczos-Grzęda E., Boczkowska M., Sowa S., Koroluk A., Toporowska J. 2021. Hidden diversity of crown rust resistance within genebank resources of *Avena sterilis* L. Agronomy 11, 315. doi.org/10.3390/agronomy11020315.
104. Paczos-Grzęda E., Grądzielewska A. 2012. Identyfikacja mieszańców międzyodmianowych *Avena sativa* L. oraz potencjalnych markerów dla genu karłowatości *Dw6* z wykorzystaniem metody ISSR. Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska, E Agric. 67(3) 44-53. doi:10.24326/as.2012.3.6.
105. Paczos-Grzęda E., Sowa S., Boczkowska M., Langdon T. 2019. Detached leaf assays for resistance to crown rust reveal diversity within populations of *Avena sterilis*. Plant Dis. 103, 832-840. doi:10.1094/PDIS-06-18-1045-RE.
106. Paczos-Grzęda E., Sowa S., Koroluk A., Langdon T. 2018. Characteristics of resistance to *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* in *Avena fatua* L. Plant Dis. 102, 2616-2624. doi.org/10.1094/PDIS-03-18-0528-RE.
107. Pawłowska J., Kozłowska-Ptaszyńska Z., Zych J. 1999. Charakterystyka i technologia uprawy odmian owsa. IUNG, IHAR, COBORU, Puławy, Radzików, Słupia Wielka, 33 s.
108. Peakall R., Smouse P.E. 2012. GenA1Ex 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update. Bioinformatics 28, 2537–2539. doi:10.1093/BIOINFORMATICS/BTS460.
109. Peng Y., Yan H., Guo L., Deng C., Wang C., Wang Y., Kang L., Zhou P., Yu K., Dong X., i in. 2022. Reference genome assemblies reveal the origin and evolution of allohexaploid oat. Nat. Genet. 54, 1248–1258. doi:10.1038/s41588-022-01127-7.
110. Pisulewska E., Witkowicz R., Borowiec F. 1999. Wpływ sposobu uprawy na plon oraz zawartość i skład kwasów tłuszczowych ziarna owsa nagoziarnistego. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość 1, 18, 240-245.
111. Pizlo H., Bobrecka-Jamro D., Tobiasz-Salach R. 1999. Skład chemiczny nowych rodów owsa uprawianego w warunkach Beskidu Niskiego. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość 1,18, 142–146.
112. POOL. 2023. Pedigrees of Oat Lines. <https://triticeaetoolbox.org/POOL>
113. Prevost A., Wilkinson M.J. 1999. A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. Theor. Appl. Genet. 98, 107–112. doi:10.1007/s001220051046.
114. Rajharthy T., Thomas H. 1974. Cytogenetics of oats (*Avena* L.). Misc. Publ. Genet. Soc. Ottawa, ON.
115. Rezaei A., Frey K.J. 1989. Cytoplasmic effect on groat protein content in interspecific matings of *Avena sativa* L. and *A. sterilis* L. J Iowa Acad Sci JIAS 96, 104-107.
116. Rines H.W., Halstead R.P. 1988. Agronomic evaluation of oat cultivars with substituted *Avena fatua* and *A. sterilis* cytoplasm. Crop Science 28: 805-809. doi.org/10.2135/cropsci1988.0011183X002800050017x.
117. Rines H.W., Stuthman D.D., Briggles L.W., Youngs V.I., Jedlinski H., Smith D.H., Webster J.A., Rothman P.G. 1980. Collection and evaluation of *Avena fatua* for use in oat improvement. Crop Sci. 63–68. doi:10.2135/cropsci1980.0011183X002000010015x.
118. Rio S., Gallego-Sánchez L., Montilla-Bascón G., Canales F.J., Isidro y Sánchez J., Prats E. 2021. Genomic prediction and training set optimization in a structured Mediterranean oat population. Theor. Appl. Genet. 134, 3595–3609. doi:10.1007/s00122-021-03916-w.
119. Rispaill N., Montilla-Bascón G., Sánchez-Martín J., Flores F., Howarth C., Langdon T., Rubiales D., Prats E. 2018. Multi-environmental trials reveal genetic plasticity of oat agronomic traits associated with climate variable changes. Front Plant Sci 9, 1358. doi.org/10.3389/fpls.2018.01358.
120. Rodgers D.M., Murphy J.P., Frey K.J. 1983. Impact of plant breeding on the grain yield and genetic diversity of spring oats. Crop Sci. 23, 737-740. doi.org/10.2135/cropsci1983.0011183X002300040032x.
121. Roldán-Ruiz I., Calsyn E., Gilliland T.J., Coll R., Van Eijk M.J.T., De Loose M. 2000. Estimating genetic conformity between related ryegrass (*Lolium*) varieties. 2. AFLP characterization. Mol. Breed. 6, 593–602.

122. R-project. 2023. RCoreTeam R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. The R Project for Statistical Computing. <https://www.r-project.org/>
123. Shirliff S.J., Kenkel N.C., Entz M.H. 2002. Fractal analysis of seed dispersal and spatial pattern in wild oats. *Comm. Ecol.* 3, 101–107. doi:10.1556/comec.3.2002.1.12.
124. Simons M.D. 1985. Association of Host Cytoplasm with Reaction to Puccinia Coronata in Progeny of Crosses between Wild and Cultivated Oats. *Plant Dis.*, 969-971.
125. Słaboński A. 1949. Odmiany owsa. PIWR Warszawa.
126. Sosulski F.W., Sosulski K. 1985. Processing and Composition of Wild Oat Groats (*Avena Fatua* L.). *J. Food Eng.* 4, 189–203. doi:10.1016/0260-8774(85)90003-2.
127. Sowa S., Paczos-Grzęda E. 2020a. A study of crown rust resistance in historical and modern oat cultivars representing 120 years of Polish oat breeding. *Euphytica* 216, 1–10. doi:10.1007/s10681-019-2545-8.
128. Sowa S., Paczos-Grzęda E. 2020b. Identification of molecular markers for the Pc39 gene conferring resistance to crown rust in oat. *Theor. Appl. Genet.* 133, 1081–1094. doi:10.1007/s00122-020-03533-z.
129. Sowa S., Paczos-Grzęda E., Koroluk A., Okoń S., Ostrowska A., Ociepa T., Chrzęstek M., Kowalczyk K. 2016. Resistance to Puccinia coronata f. sp. avenae in *Avena magna*, *A. murphyi*, and *A. insularis*. *Plant Dis.* 100, 1184–1191. doi:10.1094/PDIS-06-15-0671-RE.
130. Spiss L. 2003. History of oat breeding in Poland. *Biul. Inst. Hod. i Aklim. Roślin* 7–11.
131. Suneson C. A., Marshall H. G. 1967. Cold resistance in wild oats. *Crop Sci.* 7: 667-668. doi.org/10.2135/cropsci1967.0011183X000700060033x
132. Suneson C.A. 1969. Registration of Montezuma oats. *Crop Sci.* 9, 848–849. doi.org/10.2135/cropsci1969.0011183X000900060065x.
133. Świerczewski A., Mazaraki M. 1993. Hodowla owsa. W: *Biologia i agrotechnika owsa*. Mazurek J., Wojcieszka U., Mazurek J., Król M.(red.), IUNG, Pulawy, Poland, s. 129–161.
134. Thill D.C., O'Donovan J.T., Mallory-Smith C.A. 1994. Integrated Weed Management Strategies for Delaying Herbicide Resistance in Wild Oats. *Phytoprotection* 75, 61. doi:10.7202/706072ar.
135. Thomas H. 1992. Cytogenetics of *Avena*. In *Oat Science and Technology*; Marshall H.G., Sorrells M.E. (red); American Society of Agronomy. Agronomy Monograph No.33, Madison, Wis., USA, s. 473-507.
136. Thompson R.K. 1967. Registration of Mesa oats. *Crop Sci.* 7, 167. doi.org/10.2135/cropsci1967.0011183X000700020030x.
137. TIBCO Software Inc. Statistica 2017. (Data Analysis Software System), Version 13. <http://Statistica.Io>.
138. Tinker N.A., Deyl J.K. 2005. A Curated Internet Database of Oat Pedigrees. *Crop Sci.* 45, 2269–2272. doi:10.2135/cropsci2004.0687.
139. Tinker N.A., Wight C.P., Bekele W.A., i in. 2022. Genome analysis in *Avena sativa* reveals hidden breeding barriers and opportunities for oat improvement. *Commun. Biol.* 5, 474. doi.org/10.1038/s42003-022-03256-5.
140. Tomaszewska P., Schwarzacher T., Heslop-Harrison J.S.P. 2022. Oat chromosome and genome evolution defined by widespread terminal intergenomic translocations in polyploids. *Front Plant Sci.* 13, 1026364. doi.org/10.3389/fpls.2022.1026364.
141. Tondelli A., Francia E., Visioni A., Comadran J., Mastrangelo A.M., Akar T., Al-Yassin A., Ceccarelli S., Grando S., Benbelkacem A., i in. 2014. QTLs for barley yield adaptation to mediterranean environments in the “Nure” × “Tremois” biparental population. *Euphytica* 197, 73–86. doi:10.1007/S10681-013-1053-5/TABLES/2.
142. Toporowska J., Sowa S., Kilian A., Koroluk A., Paczos-Grzęda E. 2021. Discovery and chromosomal location a highly effective oat crown rust resistance gene *Pc50-5*. *Int. J. Mol. Sci.* 22, 11183. doi:10.3390/IJMS222011183.
143. Troup G., Paynter B. 2018. Oat variety sowing guide for Western Australia; Western Australian Agriculture. <https://grdc.com.au>.

144. Trzcńska-Tacik H., Puła J., Stokłosa A., Malara J., Stępnik K. 2010. Ekspansja *Avena fatua* i gatunków z rodzaju *Galinsoga* w zbiorowiskach chwastów polnych w dolinie Wisły powyżej Krakowa. *Fragm. Agron.* 27(2) 164-170.
145. Tumino G., Voorrips R.E., Rizza F., Badeck F.W., Morcia C., Ghizzoni R., Germeier C.U., Paulo M.J., Terzi V., Smulders M.J.M. 2016. Population structure and genome-wide association analysis for frost tolerance in oat using continuous SNP array signal intensity ratios. *Theor. Appl. Genet.* 129, 1711–1724. doi:10.1007/s00122-016-2734-y.
146. Tyrka M., Mokrzycka M., Bakera B., Tyrka D., Szeliga M., Stojałowski S., Matysik P., Rokicki M., Rakoczy-Trojanowska M., Krajewski P. 2021. Evaluation of genetic structure in European wheat cultivars and advanced breeding lines using high-density genotyping-by-sequencing approach. *BMC Genomics* 22, 1–17. doi:10.1186/s12864-020-07351-x.
147. Varshney R.K., Chabane K., Hendre P.S., Aggarwal R.K., Graner A. 2007. Comparative assessment of EST-SSR, EST-SNP and AFLP markers for evaluation of genetic diversity and conservation of genetic resources using wild, cultivated and elite barleys. *Plant Sci.* 173, 638–649. doi:10.1016/j.plantsci.2007.08.010.
148. Vasumathy S.K., Peringottillam M., Sundaram K.T., Kumar S.H.K., Alagu M. 2020. Genome-wide structural and functional variant discovery of rice landraces using genotyping by sequencing. *Mol. Biol. Rep.* 47, 7391–7402. doi:10.1007/S11033-020-05794-9.
149. Wakeley J. 1996. The excess of transitions among nucleotide substitutions: new methods of estimating transition bias underscore its significance. *Trends Ecol. Evol.* 11, 158–162. doi:10.1016/0169-5347(96)10009-4.
150. Wang S., Lu Z. 2006. Genetic diversity among parental lines of Indica hybrid rice (*Oryza sativa* L.) in China based on coefficient of parentage. *Plant Breed.* 125, 606–612. doi:10.1111/j.1439-0523.2006.01268.x.
151. Winkler L.R., Michael Bonman J., Chao S., Admassu Yimer B., Bockelman H., Esvelt Klos K. 2016. Population structure and genotype-phenotype associations in a collection of oat landraces and historic cultivars. *Front. Plant Sci.* 7, 1077. doi:10.3389/fpls.2016.01077.
152. Wright S. 1965. The interpretation of population structure by F-Statistics with special regard to systems of mating. *Evolution (N.Y.)* 19, 395. doi:10.2307/2406450.
153. Wright S. 1984. *Evolution and the Genetics of Populations, Volume 2: Theory of gene frequencies*; University of Chicago press.
154. Xu Y.F., Li S.S., Li L.H., Ma F.F., Fu X.Y., Shi Z.L., Xu H.X., Ma P.T., An D.G. 2017. QTL mapping for yield and photosynthetic related traits under different water regimes in wheat. *Mol. Breed.* 37, 1–18. doi:10.1007/S11032-016-0583-7/TABLES/3.
155. Yan H., Bekele W.A., Wight C.P., Peng Y., Langdon T., Latta R.G., Fu Y.B., Diederichsen A., Howarth C.J., Jellen E.N., i in. 2016. High-density marker profiling confirms ancestral genomes of *Avena* species and identifies D-genome chromosomes of hexaploid oat. *Theor. Appl. Genet.* 129, 2133–2149. doi:10.1007/s00122-016-2762-7.
156. Yan H., Ren Z., Deng D., Yang K., Yang C., Zhou P., i in. 2021. New evidence confirming the CD genomic constitutions of the tetraploid *Avena* species in the section *Pachycarpa* Baum. *PLoS ONE* 16, e0240703. doi.org/10.1371/journal.pone.0240703.
157. Zeller F.J. 1998. Nutzung des genetischen Potentials der *Avena*-Wildarten zur Verbesserung des Saathafers (*Avena sativa* L.). *J. Appl. Bot.* 72, 180–185.
158. Ziętkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. 1994. Genome Fingerprinting by Simple Sequence Repeat (SSR)-Anchored Polymerase Chain Reaction Amplification. *Genomics* 20, 176–183. doi:10.1006/GENO.1994.1151.
159. Zohary D., Hopf M. 1993. *Domestication of Plants in the Old World*, 2nd edn. Clarendon Press: Oxford.

## **7. Publikacje wchodzące w skład rozprawy doktorskiej**




---

- P.1. Koroluk A., Paczos-Grzęda E.\*, Sowa S., Boczowska M., Toporowska J. 2022.** Diversity of Polish oat cultivars with a glance at breeding history and perspectives. *Agronomy-Basel* 12(10), 2423. DOI: 10.3390/agronomy12102423.

**IF: 3,7; MEiN: 100 pkt**

## Article

# Diversity of Polish Oat Cultivars with a Glance at Breeding History and Perspectives

Aneta Koroluk<sup>1</sup>, Edyta Paczos-Grzęda<sup>1,\*</sup>, Sylwia Sowa<sup>1</sup>, Maja Boczkowska<sup>2,3</sup> and Joanna Toporowska<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute of Plant Genetics, Breeding and Biotechnology, University of Life Sciences in Lublin, 20-950 Lublin, Poland

<sup>2</sup> Plant Breeding and Acclimatization Institute, National Research Institute, 05-870 Radzików, Poland

<sup>3</sup> Center for Biological Diversity Conservation in Powsin, Polish Academy of Sciences Botanical Garden, 02-973 Warszawa, Poland

\* Correspondence: edyta.paczos@up.lublin.pl

**Abstract:** During 120 years of Polish breeding of oats (*Avena sativa* L.), dozens of new varieties have been developed. This study was undertaken to investigate the diversity and population structure of 72 Polish oat cultivars released since 1893. The analysis was based on pedigree data as well as ISSR and REMAP marker polymorphisms. The ancestry of common oat cultivars was traced back to 124 cultivars, breeding lines, and landraces. The five most common progenitors were ‘Markische Landsorte’, ‘selection from Ligowo oat’, ‘Fransk Svarthavre’, ‘Blanche de Siberie’, and ‘selection from Schleswig-Holstein landrace’. We found that at least one of them was present in 78% of analysed objects. The studied cultivars were assigned to four groups according to the period of their breeding (before 1945, 1945–1969, 1970–2000, and after 2000) and six groups according to the breeding company (Strzelce Plant Breeding Company, DANKO Plant Breeding, Station of Plant Breeding in Rogaczewo, Małopolska Plant Breeding Company, Station of Plant Breeding in Borów, and other). A decrease in observed heterozygosity within the groups was observed only in the postwar period (1945–1969). As a result of breeders’ efforts and extensive crosses with foreign materials initiated in 1970 and 1980, new alleles were provided to the oat gene pool. The highest number of new varieties came from the Strzelce and DANKO breeding companies. There were no significant differences between modern cultivars derived from different breeding companies. However, very early breeding centres functioning before 1945 had significantly different materials from the modern ones. The population genetic structure of the studied group of cultivars appeared to be quite simple. It was shown that their genetic makeup consisted of two or three distinct gene pools, depending on the method of polymorphism assessment. The performed research proved that Polish oat breeding using traditional breeding methods—such as selection or intraspecific and interspecific crosses—although focused on improving yield and tolerance to biotic and abiotic stress, did not significantly narrow the oat gene pool and has been releasing cultivars that are competitive in the European market.



**Citation:** Koroluk, A.; Paczos-Grzęda, E.; Sowa, S.; Boczkowska, M.; Toporowska, J. Diversity of Polish Oat Cultivars with a Glance at Breeding History and Perspectives. *Agronomy* **2022**, *12*, 2423. <https://doi.org/10.3390/agronomy12102423>

Academic Editors: Guiquan Zhang and Zhoufei Wang

Received: 29 August 2022

Accepted: 4 October 2022

Published: 6 October 2022

**Publisher’s Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

**Keywords:** *Avena sativa*; ISSR; REMAP; pedigree; cultivars; oat; diversity



**Copyright:** © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## 1. Introduction

Within the genus *Avena* L., the self-pollinating allohexaploids *A. sativa* L. and *A. byzantina* C. Koch., ( $2n = 6x = 42$ )—known as common and red oats, respectively—are the main cultivated oat species [1]. In some regions, the diploid *A. strigosa* Schreb., called bristle oats, and the tetraploid *A. abyssinica* Hochst., known as Ethiopian oats, are also cultivated [2,3]. The cultivated forms of marginal importance are the diploid species *A. nuda* L., *A. brevis* Rotch., and *A. hispanica* Ard. [2], along with the tetraploid *A. barbata* Pott. ex Link [4].

*Avena sativa* L. appeared in cultivation several thousand years later than wheat and barley [5]. Initially, it was a weed that polluted these crops [6]. The importance of oats increased as a result of migration from Southeast Asia toward Northern European regions



with a cold and humid climate in the late Bronze Age [7,8]. Non-shattering oat mutants emerged and, as they were less demanding, cold-resistant, and well-adapted, they began to displace wheat, becoming cultivated over time [9]. The area of oat cultivation has continuously declined over the past few decades. This can be partially attributed to the increase in major crops such as maize or wheat. However, in recent years, the demand for oats for human consumption has increased, particularly because of their dietary benefits [10]. Today, the common oat is the seventh most economically important cereal, after maize, wheat, rice, barley, sorghum, and millet [11]. The grain production quantity, after a significant (i.e., almost twofold) drop in the 1980s and 1990s, has been quite stable over the last 20 years (2000–2021), oscillating around 25 million tonnes. Due to low environmental requirements, including cool and wet climates and soils with low fertility, oats are cultivated worldwide [1]. Poland is among the three largest oat-producing countries, after Canada and the Russian Federation. The other important oat suppliers—producing about 1 million tonnes per year—are Spain, Finland, Australia, the United Kingdom, and the United States [11]. Formerly, oats were primarily a fodder cereal; therefore, the basic direction of breeding was to increase the yield and improve the fodder value of grain with a low share of husk and high protein and fat [12]. The introduction of naked oat varieties with a low fibre content increased the attractiveness of growing this species as a fodder plant for monogastric animals [13]. Currently, attempts are being made to create varieties that are resistant to biotic stresses and can easily adapt to abiotic stresses and climate change.

Oat breeding in Poland began in the late 19th century, around the same time as oat breeding in Germany, the United Kingdom, and Sweden [14]. Before the First World War and during the interwar period, seed companies and private breeders were involved in breeding oats. The first Polish varieties of oat were ‘Sobieszyński’, ‘Najwcześniejszy Niemierczański’, and ‘Teodozja’. The oldest printed description of breed cultivars concerns the ‘Sobieszyński’ oat, developed by professor Antoni Sempołowski in Sobieszyn in 1893 [15]. Before the First World War and in the interwar period in Poland, mainly domestic cultivars and landraces were cultivated. During the Second World War, almost all achievements of Polish breeders were lost, and after the war, for many years, the register of oat varieties in Poland was based on prewar entities from the 1920s and German varieties cultivated as indemnity for deeds executed during the war. Additionally, immediately after the war, Polish varieties selected from the German ones were created, i.e., ‘Przebój I’, ‘Przebój II’, and ‘Proporczyk’, selected from ‘Flämingsgold’, ‘Flämingsstreu’, and ‘Findling’, respectively. At the end of the 1960s, as in the case of other spring cereals, foreign oat varieties were imported, i.e., ‘Flamingsweiss II’, ‘Diadem’, and ‘Leanda’. Because of the lack of national materials, foreign cultivars and lines were included in the Polish breeding programs. It took over 30 years for Polish oat breeding to recover from the damage caused by the war, and new Polish cultivars did not begin to enter the market until 1977 [16]. From 1979, better and better Polish varieties were entered into the register, among which ‘Dragon’, ‘Komes’, and ‘Markus’ gained the greatest importance in cultivation in the 1980s. The last two decades of the 20th century were marked by numerous successes in oat breeding in Poland. Many very good varieties were developed at the plant breeding stations in Borów, Choryń, Polanowice, Wielopole, and Strzelce. Currently, oat breeding is conducted by three companies at Choryń, Polanowice, and Strzelce.

Plant breeders usually source populations for cultivar development from crosses within regionally adapted germplasm with good agronomic performance. The exchange of lines and cultivars between breeders is common but occurs mainly within certain regions and is rare between continents. As a consequence, European spring oat breeding programs may be reliant on a relatively narrow gene pool for agronomic and quality traits [17]. Over the years of selection, some valuable alleles have been lost, so modern breeding seeks new germplasm in wild ancestors, obsolete cultivars, and landraces [18]. New sources of genes could be useful in the future; therefore, a thorough knowledge of cultivars’ genetic diversity and relatedness is highly important for breeders. Molecular

markers are so far the most effective tool widely used to study genetic diversity in the *Avena* genus. Paczos-Grzęda [19] compared RAPD (randomly amplified polymorphic DNA) and simplified <sup>Pst</sup>I AFLP (amplified fragment length polymorphism) in the diversity evaluation of 19 common oat (*A. sativa* L.) cultivars registered in Poland in the years 1984–2004. Paczos-Grzęda and Bednarek [20] performed a comparative analysis of hexaploid *Avena* species (*A. sativa* L., *A. fatua* L., and *A. sterilis* L.) using the REMAP (retrotransposon-microsatellite-amplified polymorphism) and ISSR (inter-simple-sequence repeats) methods, and concluded that both techniques were informative enough to differentiate between the species and generated reliable molecular markers for the diversity assessment. ISSR, RAPD, and AFLP were also used by Boczkowska et al. [21] to evaluate the genetic diversity of 23 primary cultivars of common oat bred in Poland before 1939. Comparative analysis of the three molecular markers' systems showed that the set of ISSRs was the most efficient, highly reproducible, and had a relatively low cost. Moreover, only ISSR showed a statistically significant correlation with morphological data, prompting the use of this method to analyse a set of Polish oat landraces [22] and compare the diversity of landraces to selected modern and old Polish cultivars [23]. One of the major findings of the research was the undeniable distinctiveness of the gene pools of the old and modern Polish cultivars; however, none of the previous studies covered a wide set of Polish varieties representing almost the entire history of Polish oat breeding; hence, an attempt was made to conduct such an experiment. The genetic analysis of 72 oat cultivars released from 1893 to 2008 was performed based on ISSR and REMAP markers, the usefulness of which was confirmed in the studies cited above. Additionally, the results were enriched with pedigree data. The aims of this study were as follows: to investigate the changes in the gene pool of the Polish oat cultivars over nearly 120 years of breeding through diversity and population structure analysis; to verify the possibility of genetic discontinuities between obsolete and modern Polish cultivars hypothesised by researchers in the previous oat diversity studies; and to determine the effectiveness of ISSR and REMAP markers in assessing the genetic diversity of *A. sativa*.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Plant Material

In this study, 72 Polish *A. sativa* cultivars released between 1893 and 2008 were included (Table 1). The old cultivars dated before 1986 were obtained from a Polish gene bank (the National Centre for Plant Genetic Resources, Radzików, Poland). The seeds of the remaining cultivars (42) were kindly supplied by three Polish breeding companies: Strzelce Plant Breeding, Małopolska Plant Breeding, and DANKO Plant Breeding. The cultivars were assigned to four groups according to their breeding time: before 1945, 1946–1969, 1970–1999, and after 2000.

### 2.2. DNA Extraction and Genotyping

Extraction of total genomic DNA was carried out from several-day-old leaves of 15–20 seedlings of each of the 72 genotypes, according to the CTAB procedure [24]. Molecular analyses were performed using the ISSR method described by Ziętkiewicz et al. [25], with minor modifications as specified by Paczos-Grzęda et al. [26]. For amplification, 36 ISSR primers were used (Table S1). Cultivar genotyping was also carried out according to the REMAP method described by Kalendar et al. [27] and modified by Paczos-Grzęda and Bednarek [20], using the REMAP-LTR primer (555' CTAGGGCATAATTCCAACA 333') directed toward 555' terminal LTR sequence Bare-1 retrotransposon, combined with 16 random ISSR primers (Table S1). The amplification products were separated on 2.5% agarose gels in 1X TBE buffer (89 mM Tris-borate, 2.5 mM EDTA, 0.1% EtBr).

**Table 1.** Names, breeding company, pedigree, and information about time of presence in the National Register of Varieties of common oat cultivars.

No.	Cultivar Name	Breeding Company	Pedigree	Accession Number	Donor Identifier	The Year of Entry and Removal from the National Register of Varieties	Group According to the Breeding Time
1	Akt	Strzelce Plant Breeding	Adam × Adamo		Strzelce	1997/2007	1970–1999
2	Antoniński Biały	Sandomiersko-Wielkopolska Plant Breeding in Antoniny	Selection of Sobieszyński	PL51622	NCPGR	1928/-	Before 1945
3	Antoniński Żółty	Sandomiersko-Wielkopolska Plant Breeding in Antoniny	Selection of Von Lochow Gelb	PL51465	NCPGR	1928/-	Before 1945
4	Arab	DANKO Plant Breeding, Choryń	Borys × Jawor	-	DANKO	2004/2014	After 2000
5	Bachmat	DANKO Plant Breeding, Choryń	Dula × Komes	-	DANKO	2001/2007	After 2000
6	Bajka	Strzelce Plant Breeding	KR 8543 × [(Random × KR 316) × Perona]	-	Strzelce	1997/2007	1970–1999
7	Bartek Udycki	‘Udycz’ Company	Antoniński Żółty × Znajda	PI285552	USDA	Before 1939 /1972	Before 1945
8	Berdysz	DANKO Plant Breeding, Choryń	(Dukat × SV87598) × Bajka	-	DANKO	2008/2018	After 2000
9	Biały Mazur	Małopolska Plant Breeding in Skrzyszowice—Kleszczyńscy	Local variety × Biały Orzeł	PL51466	NCPGR	1928/1973	Before 1945
10	Biały Orzeł	Sveriges Ustadesforenigs Institution, Svalof	Von Lochow Gelb × Sieger	PL51467	NCPGR	Before the war/-	Before 1945
11	Bohun	DANKO Plant Breeding, Choryń	LP 8675 × STH 110/86	-	DANKO	2002/2012	After 2000
12	Borek	Station of Plant Breeding, Borów	(Selma × Avoine Grise D’hiver) × Udycz Żółty	PL50043	NCPGR	1981/1989	1970–1999
13	Borowiak	Station of Plant Breeding, Borów	Góral × Santor	-	MPB	1998/2010	1970–1999
14	Boruta	Station of Plant Breeding, Borów	[Rodney ABDHCR × (Astor × Flamingsweiss II)] × Dula	PL50113	NCPGR	1982/1991	1970–1999
15	Boryna	Station of Plant Breeding, Borów	[Rodney ABDHCR × (Astor × Flamingsweiss II)] × Dula	-	MPB	1990/1999	1970–1999
16	Borys	Station of Plant Breeding, Borów	(Dato × Po.39) × Pinto	-	MPB	1991/1999	1970–1999
17	Breton	DANKO Plant Breeding, Choryń	Szakał × Expander	-	DANKO	2007/2017	After 2000
18	Budrys	DANKO Plant Breeding, Choryń	Adamo × CHD 792	-	DANKO	2001/2005	After 2000
19	Cacko	Strzelce Plant Breeding	Adam × Adamo	-	Strzelce	2000/2010	After 2000
20	Cekin	Station of Plant Breeding, Borów	POB-W-2010/93 × Zlatak	-	MPB	1999/2010	1970–1999
21	Celer	Station of Plant Breeding, Borów	Góral × KR-KOR	-	MPB	2000/2010	After 2000
22	Chwat	Strzelce Plant Breeding	Dukat × (Flamingsnova × Swan)	-	Strzelce	2000/2010	After 2000
23	Cwał	DANKO Plant Breeding, Choryń	Borys × Jawor	-	DANKO	2001/2011	After 2000
24	Deresz	DANKO Plant Breeding, Choryń	Maro × MGH 978.2	-	DANKO	2000/2010	After 2000
25	Dragon	Station of Plant Breeding, Rogaczewo	MGH 6374 × Diadem	PL50117	NCPGR	1982/2004	1970–1999
26	Dukat	Strzelce Plant Breeding	Fagot × KR 2335/74 L.	-	Strzelce	1991/2006	1970–1999
27	Farys	Małopolska Plant Breeding, Polanowice	(Biały Mazur × Astor) × Cebeco 7511	-	MPB	1989/1999	1970–1999
28	Furman	DANKO Plant Breeding, Choryń	Kwant × Jawor	-	DANKO	2006/2016	After 2000
29	German	Strzelce Plant Breeding	Samanta × Alfred	-	Strzelce	1991/2007	1970–1999

Table 1. Cont.

No.	Cultivar Name	Breeding Company	Pedigree	Accession Number	Donor Identifier	The Year of Entry and Removal from the National Register of Varieties	Group According to the Breeding Time
30	Gniady	DANKO Plant Breeding, Choryń	Noirine × Tropicale	-	DANKO	2007/2017	After 2000
31	Góral	Strzelce Plant Breeding	Borek × Brutus	-	Strzelce	1988/2007	1970–1999
32	Grajcar	Station of Plant Breeding, Borów	Komes × KR 81-1122	-	MPB	1997/2010	1970–1999
33	Hetman	DANKO Plant Breeding, Choryń	Jawor × Semundo 212.1	-	DANKO	1999/2007	1970–1999
34	Jagiełło	J.Turnau in Mikulicach	Selection of Rychlik Mikulicki	PL51507	NCPGR	Before 1939/	Before 1945
35	Jawor	DANKO Plant Breeding, Choryń	MGH0894.4 × (Mana × Leanda)	-	DANKO	1994/2007	1970–1999
36	Jubileuszowy Więclawicki	Buszczyński and the sons	Selection of Antoniński Żółty	PL52020	NCPGR	Before 1939/	Before 1945
37	Kanarek Mikulicki	J.Turnau in Mikulice	Selection of Jagiełło	PL51510	NCPGR	1923/-	Before 1945
38	Karol	Strzelce Plant Breeding	STH 171 × Brutus	-	Strzelce	1989/1996	1970–1999
39	Kasztan	Station of Plant Breeding, Borów	Dawid × CHD 1685/84 or 83	-	MPB	1999/2010	1970–1999
40	Komes	DANKO Plant Breeding, Choryń	MGH 61649 × Jaycce	-	DANKO	1985/1999	1970–1999
41	Koneser	Strzelce Plant Breeding	Szakał × (Jawor × Dukat)	-	Strzelce	2007/2017	After 2000
42	Kościelecki	Buszczyński and the sons	selection of Marczak Włosciański	PL51933	NCPGR	1923/-	Before 1945
43	Krezus	Strzelce Plant Breeding	Góral × [(Flamingsnova × Swan mut.) × Dukat]	-	Strzelce	2005/2015	After 2000
44	Kwant	Strzelce Plant Breeding	Alfred × Dula	-	Strzelce	1992/2010	1970–1999
45	Lach	Station of Plant Breeding, Aleksandrówka	Vigor × Flamande de Blanche	PL50122	NCPGR	1980/1987	1970–1999
46	Markus	Station of Plant Breeding, Rogaczewo	Astor × Pendek	PL50118	NCPGR	1979/1988	1970–1999
47	Modzurowski	Kraków Plant Breeding	Sun II × Biały Mazur	PL51319	NCPGR	1969-1972	1945–1969
48	Niemierczański Najwcześniejszy	Buszczyński and the sons	Selection of Włosciański z Podola	PL51084	NCPGR	1893/-	Before 1945
49	Pegaz	Małopolska Plant Breeding, Polanowice	Auswuchsfester × Bordeweiss	PL51217	NCPGR	1977/1981	1970–1999
50	Platek	Strzelce Plant Breeding	(Flamindsgold × Pendek) × Leanda	PL50731	NCPGR	1986/1993	1970–1999
51	Podkowa Dłużewski	Dłużew, Mińsko-Mazowiecki district	-	PL51227	NCPGR	1929/-	Before 1945
52	Polar	Strzelce Plant Breeding	(Ago × Ramiro) × (Platek × Swan mut) × Caesar	-	Strzelce	2002/2012	After 2000
53	Proporczyk	National Plant Breeding Institutions	Selection of Findling	PL51229	NCPGR	Before 1939/-	Before 1945
54	Przeboj I	National Plant Breeding Institutions	Selection of Flamingsgold	PL52070	NCPGR	1962/-	1945–1969

Table 1. Cont.

No.	Cultivar Name	Breeding Company	Pedigree	Accession Number	Donor Identifier	The Year of Entry and Removal from the National Register of Varieties	Group According to the Breeding Time
55	Przeboj II	Station of Plants Selection in Jeżowo-Gola, Gostyń district	Selection of Flamingstreue	PL51924	NCPGR	1974/-	1945–1969
56	Puławski Średniorychły	State Research Institute of Rural Husbandry in Puławy	Selection of Pffiffelbacher Gelb	PL50406	NCPGR	1928/-	Before 1945
57	Rajtar	DANKO Plant Breeding, Choryń	Ramiro × Jawor	-	DANKO	2004/2014	After 2000
58	Rumak	Station of Plant Breeding, Rogaczewo	MGH 6374 × Flamingweiss II	PL50120	NCPGR	1981/1987	1970–1999
59	Rychlik Oberek	Małopolska Plant Breeding in Skrzyszowice (Kleszczyński brothers)	Rychlik Podgórski × Dogold	PL51233	NCPGR	Before 1939/-	Before 1945
60	Sam	Strzelce Plant Breeding	(Flamingnova × Swan mut.) × Swan mut.) × {[Alfred × (Garland × C2)] × Swan mut.}	-	Strzelce	1999/2010	1970–1999
61	Santor	Strzelce Plant Breeding	Borek × Brutus	-	Strzelce	1989/1999	1970–1999
62	Skrzat	Małopolska Plant Breeding, Polanowice	Komes × Maris Tabard	-	MPB	1996/2004	1970–1999
63	Sławko	Strzelce Plant Breeding	Mustang × Swan mut.	-	Strzelce	1993/2010	1970–1999
64	Sobieszynski	Agricultural Experimental Station in Sobieszyn	Selection of Rychlik Lubelski	PL51261	NCPGR	1923/-	Before 1945
65	Sprinter	Strzelce Plant Breeding	(Flamingnova × Swan mut.) × Dukat	-	Strzelce	2000/2010	After 2000
66	Stoper	Strzelce Plant Breeding	(Flamingnova × Swan mut.) × Dukat	-	Strzelce	2003/2013	After 2000
67	Szakał	Strzelce Plant Breeding	(Flamingnova × Swan mut.) × Dukat	-	Strzelce	2000/2010	After 2000
68	Teodozja	breded in Łęki by M.Rożański/Czarnecki, Kutnowski district	Selection of Scottish oat	PL50976	NCPGR	1923/-	Before 1945
69	Udycz Biały	Udycz' company in Kwasów	Kanarek Mikulicki × Sieger	PL51051	NCPGR	1925/-	Before 1945
70	Udycz Żółty	Udycz' company in Kwasów	Pflugs Gelb × Von Lochow Gelb	PL51050	NCPGR	Before 1939/1976	Before 1945
71	Ułan	DANKO Plant Breeding, Choryń	WIR 1714 × Diadem	PL51449	NCPGR	1985/1990	1970–1999
72	Zuch	DANKO Plant Breeding, Choryń	Vusch × Szakał	-	DANKO	2008/2018	After 2000

### 2.3. Molecular Data Mining and Analysis

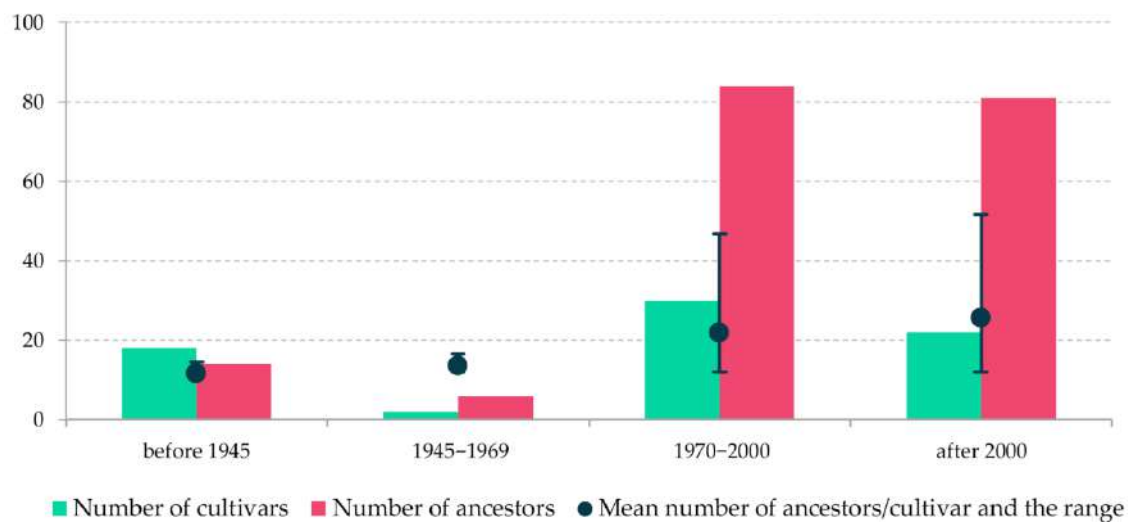
ISSR and REMAP fragments were converted into binary matrix tables. The matrices were then used to determine the level of primer informativeness measured as polymorphic information content (PIC), which is a relative measure of marker informativeness and depends on the number of alleles of the particular marker, calculated according to the formula described by Roldan-Ruiz et al. [28]; marker index (MI), which provides a convenient estimate of marker utility assessed based on the work of Varshney et al. [29]; and resolving power (RP), which is the coefficient that indicates the discriminatory potential of the markers chosen for the analysis, following the formula of Prevost and Wilkinson [30]. The pedigree of the cultivars was traced back to their ancestors' cultivars or landraces using data available in Polish GenBank databases (<https://bankgenow.edu.pl/en/> accessed on 10 June 2022) and POOL (Pedigrees of Oat Lines) (<https://triticeaetoolbox.org/POOL/> accessed on 10 June 2022) [31]. The coefficients of parentage (COPs) were computed from a pedigree in MS Excel 2016 for all pairwise combinations of genotypes, as described by Wang and Lu [32]. Distance matrices were developed for molecular data based on the Gower coefficient [33]. A Mantel test was conducted to verify the association between molecular markers and pedigree. The Ward method of clustering was used, and dendrograms were constructed in XLSTAT Ecology [34]. The relationships between the true distances and the distances predicted using the dendrogram were measured as the cophenetic correlation coefficient (CPCC) [35]. Discrimination analysis (DA) was carried out to identify homogeneous groups [34]. Principal coordinate analysis (PCoA) was also conducted based on distance matrices to visualise the grouping pattern and to provide a graphical representation of the relationships between cultivars [34]. The Generalized Procrustes Analysis (GPA) was used to reduce the scale effects and to obtain a consensus configuration of all of the data [34]. Genotypic variations were assessed across groups created based on breeding time and breeding centre using the analysis of molecular variance (AMOVA) in GenAlEx [36]. The AMOVA procedure in GenAlEx follows the methods of Excoffier et al. [37], estimating the proportion of the variance among populations relative to the total variance. When the data are binary, AMOVA calculates the  $\Phi_{PT}$  value, which is analogous to  $F_{st}$  [38,39]. A  $\Phi_{PT}$  value of 0 denotes the minimum level of diversity among subpopulations, while a value of 1 denotes the maximum. The significance of the resulting variance and intergroup genetic distances was tested using 999 random permutations. Nei's coefficient [40] was calculated to estimate genetic variation within the abovementioned groups of cultivars.

Population structure was estimated using a Bayesian model-based approach implemented in the program STRUCTURE v. 2.3.4 [41]. An admixture model with correlated allele frequencies was employed. The number of clusters ( $k$ ) was set from 1 to 11, with five independent runs for each  $k$  (10,000 burn-ins and 100,000 iterations). The Cluster Markov Packager Across  $K$  (CLUMPAK) was used to find optimal alignments of independent runs, and the output was used for cluster visualisation [42]. Cultivars with a membership coefficient lower than 0.8 were identified as admixed.

## 3. Results

### 3.1. Pedigree

The ancestry of Polish common oat cultivars was traced back to 124 cultivars, breeding lines, and landraces. The average number of ancestors per cultivar was 10.2, ranging from 1 to 28, and it increased along with the time of breeding, i.e., the oldest and the most recent cultivars were derived from 1.6 and 15.6 ancestors on average, respectively (Figure 1). The five most common progenitors were 'Markische Landsorte', 'selection from Ligowo oat', 'Fransk Svarthavre', 'Blanche de Siberie', and 'selection from Schleswig-Holstein landrace'. We found that at least one of these was present in 78% of analysed cultivars.



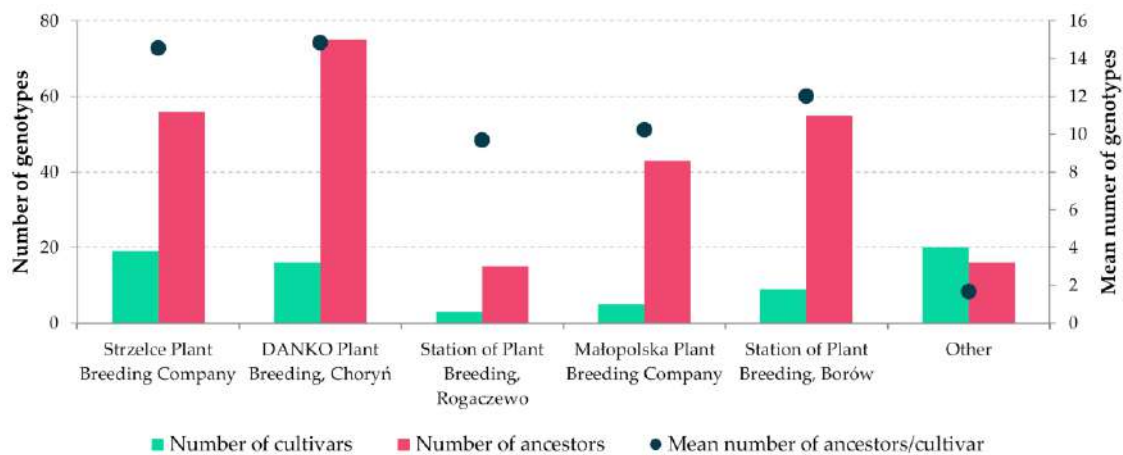
**Figure 1.** Description of four periods of breeding, including the number of cultivars, number of ancestors, and the mean number of ancestors per cultivar. The range of the number of single cultivar progenitors is also shown.

Eighteen cultivars were bred before 1945, and these were derived from fourteen ancestors. Six of them were descendants of the German landrace ‘Markische Landsorte’. Only two cultivars in the study represented the period 1945–1969, and both of them had ‘Markische Landsorte’ as a progenitor. Thirty cultivars represented the period lasting for the next 30 years (1970–1999). Of 84 identified ancestors, the most common were ‘selection from Ligowo oat’, ‘Markische Landsorte’, and ‘Fransk Svarthavre’, appearing in the pedigrees of 23, 21, and 20 cultivars, respectively. As many as 22 of the most contemporary cultivars—those that were bred after 2000—were predominantly descendants of ‘selection from Schleswig-Holstein landrace’, ‘Markische Landsorte’, ‘selection from Ligowo oat’, and ‘Fransk Svarthavre’. In total, 81 ancestors were identified for the latest cultivars. The summary of these data can be found in Figure 1.

Descendants of ‘Markische Landsorte’ were the result of the Strzelce Plant Breeding Company breeding programs. Only two cultivars—‘Sławko’<sub>(63)</sub> and ‘Dukat’<sub>(26)</sub>—did not have it as an ancestor. Another prevailing progenitor was ‘selection from Ligowo oat’, and only ‘Dukat’<sub>(26)</sub> and its descendants were not connected with it. ‘Blanche de Siberie’ was present in the pedigree of 14 cultivars bred by the Strzelce Plant Breeding Company. In total, in the breeding of 19 cultivars, 56 progenitors were used. The DANKO Plant Breeding Company mainly used derivatives of ‘selection from Ligowo oat’ and ‘Fransk Svarthavre’ in their programs. Four cultivars had a distinct pedigree, i.e., ‘Deresz’<sub>(24)</sub>, ‘Komes’<sub>(40)</sub>, ‘Ułan’<sub>(71)</sub>, and ‘Zuch’<sub>(72)</sub>. A total of 75 ancestors were identified for 16 cultivars. In this study, nine cultivars bred by the Station of Plant Breeding in Borów were included. In the pedigrees, four primary sources were found, i.e., ‘Markische Landsorte’, ‘Blanche de Siberie’, ‘selection from Ligowo oat’, and ‘Fransk Svarthavre’. Two cultivars had a distinct origin: ‘Borys’<sub>(16)</sub> and ‘Grajcar’<sub>(32)</sub>. ‘Borys’<sub>(16)</sub> resulted from crossing (‘Dato’ × ‘Po.3999’) × Pinto, while ‘Grajcar’<sub>(32)</sub> originated from ‘Komes’ × ‘KR 81-11222’. In total, the cultivars were derived from 55 ancestors. The Małopolska Plant Breeding Company was represented in the study by five cultivars, for which 43 progenitors were identified. Their breeding programs, similarly to the previous ones, were based on materials derived from ‘selection from Ligowo oat’ and ‘Markische Landsorte’. Notably, another distinct source (‘Milton’) was found in three cultivars. It is worth noting that ‘Modzurowski’<sub>(47)</sub> also had a slightly different pedigree; however, it was bred in the earlier period (1945–1969). ‘Milton’ also appeared in the pedigrees of all three cultivars that were bred by the Station of Plant Breeding in Rogaczewo. Furthermore, ‘Markische Landsorte’ and ‘selection from Ligowo oat’ were found among the ancestors of all of them. In total, only 15 progenitors were



identified for this set. The data summarising the Polish breeding companies and stations are presented in Figure 2.

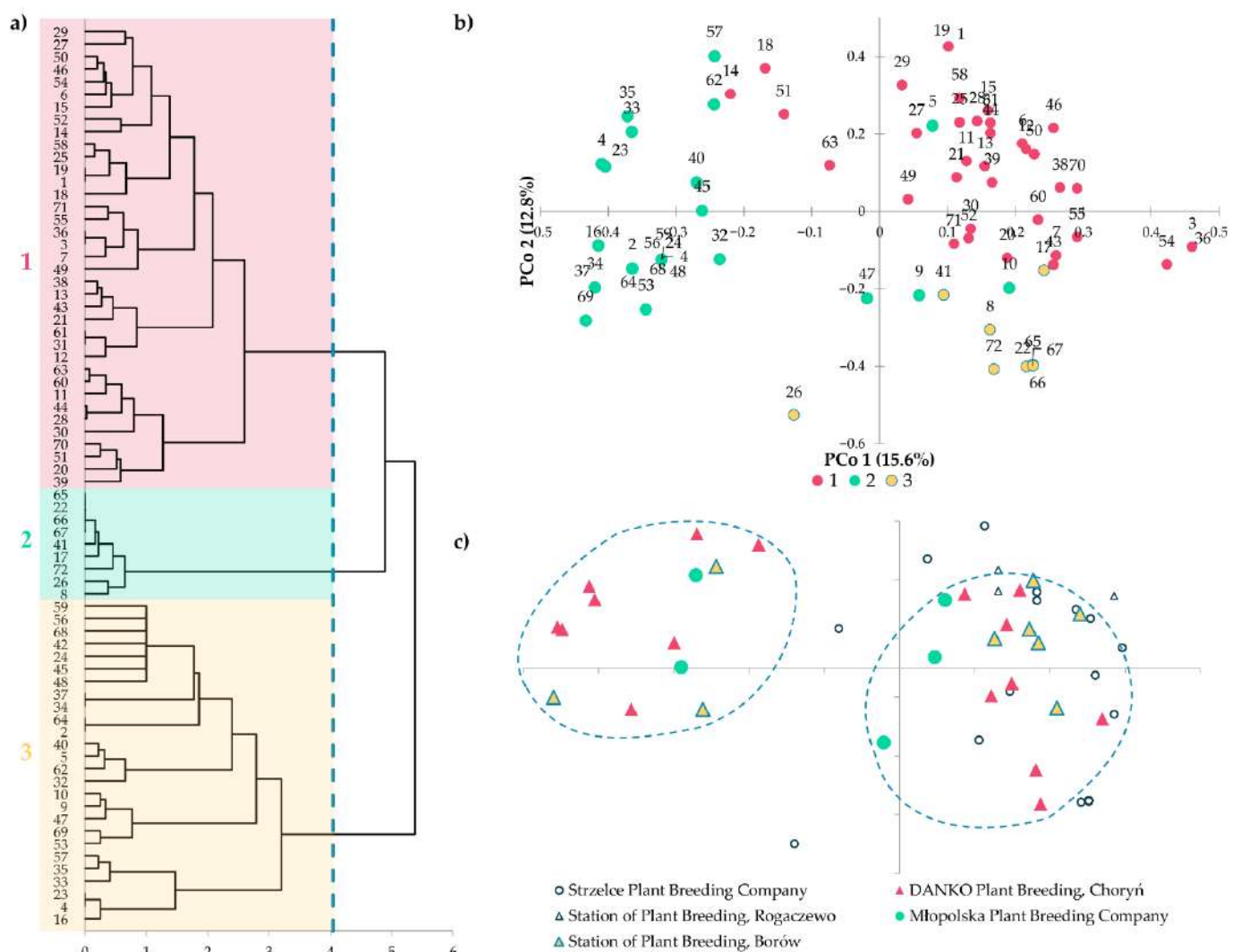


**Figure 2.** A summary of the breeding centres' activity.

Based on COPs, the pairwise dissimilarity coefficient was calculated, and its average value was 0.81. The dissimilarity matrix was used to perform clustering analysis. Clustering of genotypes based on the Gower coefficient resulted in the detection of three major clusters (Figure 3a) with CPCC equal to 0.568. Cluster 1 was the most numerous and consisted of 37 cultivars that had 87 progenitors. Their breeding time was as follows: 23 cultivars were bred in the years 1970–1999, 10 after the year 2000, 5 before 1945 and, finally, 1 in the period 1945–1969. The cultivars in this cluster were derived mainly from 'Markische Landsorte' or 'selection from Ligowo oat' (37 and 28, respectively). All of the oldest cultivars (bred before 1945) had 'Markische Landsorte' and/or 'Leutewizter Gelb' in their pedigree, which were also the ancestors of 16 other cultivars from this cluster. Among the later cultivars, only three did not have 'Markische Landsorte' as a progenitor, i.e., 'Sławko'<sub>(63)</sub>, 'Boruta'<sub>(14)</sub>, and 'Budrys'<sub>(18)</sub>. The 'selection from Ligowo oat' was the progenitor of 28 cultivars in this cluster; however, it did not occur in the pedigrees of the oldest cultivars or in 'Cekin'<sub>(20)</sub>, 'Ułan'<sub>(71)</sub>, 'Przebój II'<sub>(55)</sub>, or 'Budrys'<sub>(18)</sub>. Cluster 2, composed of only nine cultivars, was the smallest cluster. It contained 'Dukat'<sub>(26)</sub>, which was bred in 1991, and its descendants that were obtained after 2000. Therefore, all cultivars were descendants of the crossing 'Fagot × KR 2335/74 L' maximal in the third generation, and their other ancestry components were quite similar. In total, 33 progenitors were identified for this cluster. *Avena sterilis* L. was the ancestor of seven cultivars (exceptions: 'Dukat'<sub>(26)</sub> and 'Berdysz'<sub>(8)</sub>). All of them were bred by the two largest Polish breeding companies, i.e., Strzelce and DANKO (6 and 3, respectively). Cluster 3 had 26 cultivars, with the majority having a simple origin, i.e., a short list of progenitors. Thus, the rest of the old cultivars (before 1945) were grouped there. Among other, more contemporary cultivars (i.e., those bred after 1970), the most common ancestors were 'selection from Ligowo oat' and 'Fransk Svarthavre'.

The results of principal coordinate analysis (PCoA) based on pedigree data are presented on scatterplots of the first two principal coordinates in Figure 3b,c. The first and the second principal coordinates explained 15.6% and 12.8% of the variation, respectively. No significant grouping pattern was found, although the points corresponding to the studied cultivars in two-dimensional space were arranged according to the clusters determined by agglomerative hierarchical clustering. When the breeding centre was indicated, the presence of two groups was noted within the cultivars bred by the DANKO Plant Breeding and Małopolska Plant Breeding companies, as well as within those obtained at the Station of Plant Breeding in Borów (Figure 3c).





**Figure 3.** Pedigree: (a) A dendrogram of the results of the Ward method of clustering based on the COP. The vertical dashed line indicates the optimal number of clusters based on entropy, which measures how elements are distributed or assigned in each cluster. Low entropy corresponds to better clustering. (b) PCoA of the inter-cultivar distances measured using the COP. The colours of the points correspond to the groups marked on the dendrogram ((a,b) each number represents a single cultivar and is consistent with the numbers in Table 1). (c) PCoA plot with the indication of the breeding centre, excluding the group of ‘Others’. The two distinct groups are framed by a dashed line.

### 3.2. ISSR

In this study, 36 ISSR primers were used to amplify 203 fragments, of which 99.5% were polymorphic. On average, a single ISSR generated 5.72 fragments (range: 1–18). The marker informativeness coefficient values ranged as follows: PIC from 0.05 (sr37) to 0.49 (sr32), with a mean of 0.23; MI from 0.0 (sr37) to 0.49 (sr32), with a mean of 0.18; and RP from 0.11 (sr37) to 23.36 (sr60), with a mean of 5.3 (Table S1).

The Nei’s unbiased genetic diversity ( $uHe$ ) derived from the ISSR data was 0.256 (Table 2). It was the highest for cultivars bred between 1970 and 1999 (0.236), while it was the lowest for the preceding period (0.106). The most diverse cultivars were derived from the Strzelce Plant Breeding Company (0.241). The cultivars bred by the Małopolska Plant Breeding Company had the lowest variation.

**Table 2.** Summary statistics of diversity within groups created based on breeding time and breeding company.

		ISSR					REMAP				
		No. of Fragments	% Polymorphic Fragments	No. of Private Fragments	uHe	SE	No. of Fragments	% Polymorphic Fragments	No. of Private Fragments	uHe	SE
Total		203	99.51%	-	0.256	0.012	178	87.08%	-	0.308	0.012
Breeding time	Before 1945	170	65.02%	4	0.192	0.014	155	66.29%	2	0.236	0.015
	1945–1969	119	19.21%	1	0.106	0.015	126	28.65%	0	0.158	0.019
	1970–2000	189	85.22%	13	0.236	0.013	173	88.20%	11	0.286	0.014
	After 2000	170	72.41%	1	0.224	0.014	160	81.46%	2	0.289	0.014
Breeding company	Strzelce Plant Breeding Company	179	79.31%	5	0.241	0.014	163	80.90%	5	0.283	0.015
	DANKO Plant Breeding, Choryń	167	67.49%	2	0.214	0.014	158	79.78%	3	0.288	0.015
	Station of Plant Breeding, Rogaczewo	133	38.92%	0	0.173	0.016	135	46.63%	0	0.211	0.018
	Małopolska Plant Breeding Company	141	41.38%	2	0.155	0.015	141	55.06%	0	0.235	0.018
	Station of Plant Breeding, Borów	155	54.19%	0	0.188	0.015	150	64.61%	4	0.244	0.016
	Other	172	67.98%	4	0.198	0.013	155	67.42%	4	0.239	0.015

AMOVA determined that the majority of the observed genetic variability was due to variation within groups formed according to breeding time (91%) or among cultivars within breeding companies (93%). The pairwise matrix of the  $\Phi$ PT groups showed that the longer the time interval between the breeding of two groups, the greater the differences between them (Table 3). It also indicated that there were no significant differences between cultivars from modern breeding companies/stations. However, very early breeding centres functioning before 1945 had significantly different materials from the modern ones (Table 4).

**Table 3.** Results of the analysis of molecular variance (AMOVA). Pairwise  $\Phi$ PT values for groupings according to breeding time ( $p < 0.001$ ) of ISSRs (above diagonal) and REMAPs (below diagonal).

	before 1945	1945–1969	1970–2000	after 2000
before 1945	x	ns	0.091	0.131
1945–1969	ns	x	0.110	0.141
1970–2000	0.116	ns	x	0.047
after 2000	0.109	ns	0.021	x

ns—Not significant.

**Table 4.** Results of the analysis of molecular variance (AMOVA). Pairwise  $\Phi$ PT values for groupings according to the breeding company ( $p < 0.001$ ) of ISSRs (above diagonal) and REMAPs (below diagonal).

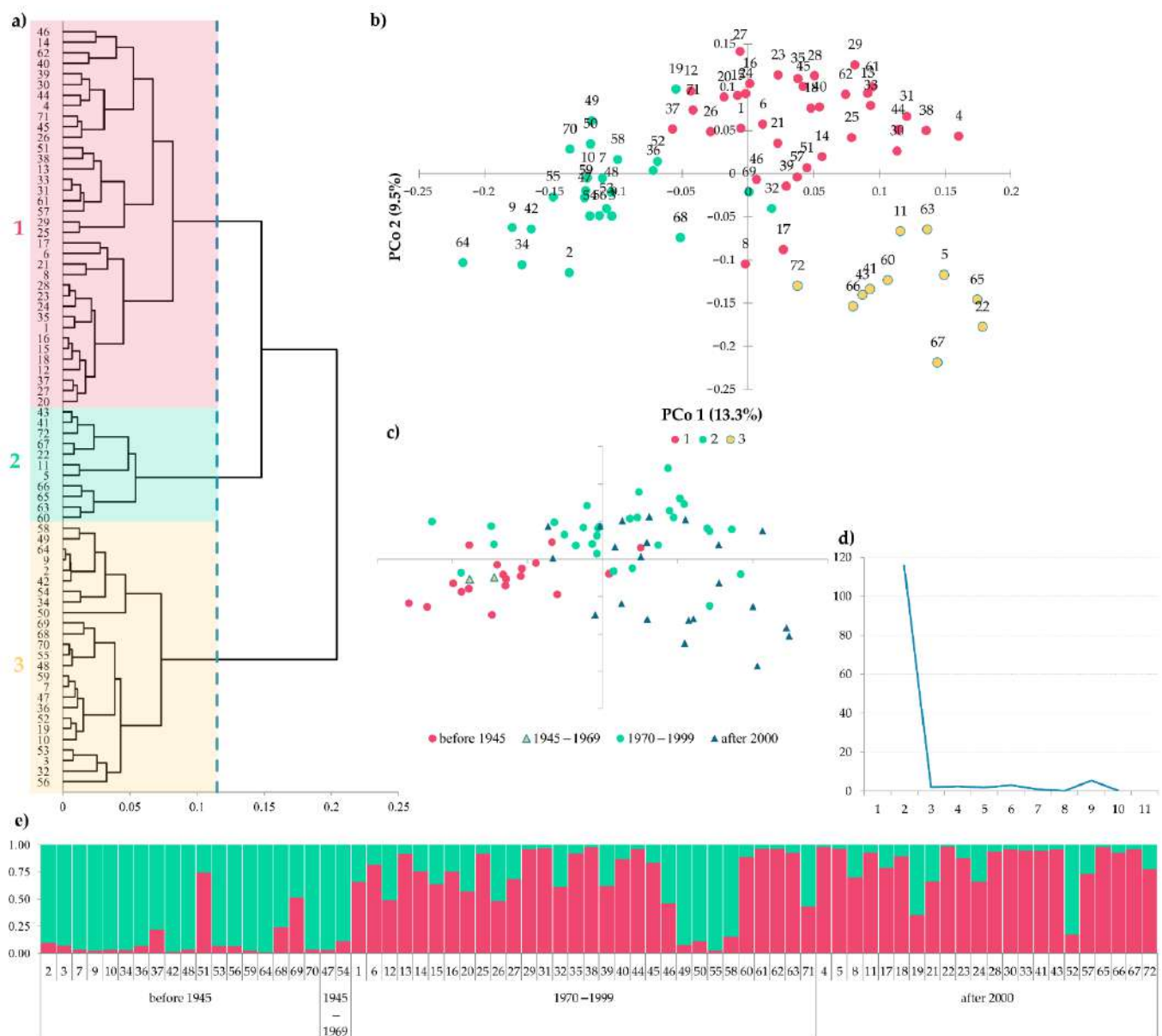
	Other	Strzelce Plant Breeding Company	DANKO Plant Breeding, Choryń	Station of Plant Breeding, Rogaczewo	Małopolska Plant Breeding Company	Station of Plant Breeding, Borów
Other	x	0.117	0.131	0.114	0.093	0.108
Strzelce Plant Breeding Company	0.104	x	ns	ns	ns	ns
DANKO Plant Breeding, Choryń	0.124	0.020	x	ns	ns	ns
Station of Plant Breeding, Rogaczewo	0.123	ns	ns	x	ns	ns
Małopolska Plant Breeding Company	0.102	ns	ns	ns	x	ns
Station of Plant Breeding, Borów	0.166	0.043	ns	ns	ns	x

ns—Not significant.

The pairwise Gower similarity ranged from 0.936 ('Biały Mazur'<sub>(9)</sub> vs. 'Sobieszyński'<sub>(64)</sub>) to 0.64 ('Płatek'<sub>(50)</sub> vs. 'Szakal'<sub>(67)</sub>). The Ward clustering algorithm reflected three main clusters with CPCCs equal to 0.371 (Figure 4a). The first cluster contained 36 cultivars, of which 64% were bred in the period 1970–1999, 31% after 2000, and 2 cultivars were from the oldest group, i.e., 'Kanarek Mikulicki'<sub>(37)</sub> and 'Podkowa Dłużewski'<sub>(51)</sub>. The second cluster was the smallest one, and it was composed of nine cultivars that were bred after 2000 and two from an earlier period (1970–1999), i.e., 'Sam'<sub>(60)</sub> and 'Sławko'<sub>(63)</sub>. The cultivars that were grouped in this cluster were derived from two major breeding centres, i.e., Strzelce and DANKO. The third cluster contained 25 cultivars, including the majority of the oldest cultivars (before 1945), 'Modzurowski'<sub>(47)</sub> and 'Przebój I'<sub>(54)</sub> that were bred in the period 1945–1969, and also 7 cultivars obtained later. Discriminant analysis indicated that 58.33% of cultivars were assigned to the same group in the analysis of COP and ISSR.

The first two coordinates of PCoA based on the Gower dissimilarity coefficient explained 22.8% of the variance and indicated the presence of three groups (Figure 4b). On the plot below, an association of time of origin with the first coordinate can be observed. The newest and the oldest cultivars were arranged at opposite ends of the axle (Figure 4c).

The genetic structure of 72 oat cultivars was estimated via model-based Bayesian clustering using the STRUCTURE software. Based on the highest  $\Delta k$  values,  $k = 2$  appeared the most probable (Figure 4d). When considering  $k = 2$ , the collection was split into two subgroups containing 21 and 28 cultivars, while 23 were admixed (80% level). The oldest cultivars were placed in the first group or were classified as admixed, i.e., 'Kanarek Mikulicki'<sub>(37)</sub>, 'Podkowa Dłużewski'<sub>(51)</sub>, 'Teodzja'<sub>(68)</sub>, and 'Udycz Biały'<sub>(69)</sub>. Both cultivars bred in the period 1945–1969 and four from 1970–1999 were also assigned to the first group. 'Polar'<sub>(52)</sub>, which was bred after 2000, was the only cultivar from that period in this group. The second group was formed of 28 cultivars evenly sourced from the two most recent periods (Figure 4d).



**Figure 4.** ISSR: (a) A dendrogram of the Ward method clustering results based on the Gower dissimilarity coefficient. The vertical dashed line indicates the optimal number of clusters based on entropy, which measures how elements are distributed or assigned in each cluster. Low entropy corresponds to better clustering. (b) PCoA of the inter-cultivar distances measured using the Gower dissimilarity coefficient. The colours of the points correspond to the groups marked on the dendrogram. (c) PCoA plot with the indication of the breeding time. (d) Estimated number of clusters obtained for K values from 1 to 11 using ISSR data based on  $\Delta K$ . (e) Inferred population structure using the model-based program STRUCTURE. Plots were generated based on the Q-matrix consensus permuted across 5 replications for K = 2 using the CLUMPAK software. Each cultivar is represented by a single vertical line, which is partitioned into segments proportional to the estimated membership in the two subpopulations. The likelihood of assignment to a given cluster is on the vertical axis. (a,b,e)—Each number represents a single cultivar and is consistent with the numbers in Table 1).

### 3.3. REMAP

Using 21 REMAP pairs of primers, a total of 178 fragments were obtained, of which 87.1% were polymorphic. On average, a single REMAP reaction yielded 8.48 fragments (range: 2–17). All characteristics of the markers are presented in Table S2. The average value of PIC for REMAP markers was 0.29. The maximum PIC was obtained for the primer pairs

r42, r47, and r54 (0.49), while the minimum value was demonstrated by r6 and r11 (0.03). The highest and the lowest MI values were obtained for the same primers as PIC, and the values were 0.49 and 0.0, respectively. The average RP value for REMAP was 9.05, and for each primer pair it ranged from 0.08 to 32.92 (r6 and r59, respectively), with a mean of 5.3 (Table S2).

The Nei's unbiased genetic diversity ( $uHe$ ) derived from the REMAPs was slightly higher than that from ISSRs, at 0.308 (Table 2). The group of most recent cultivars were the most diverse (0.289), while cultivars bred between 1945 and 1969 had the lowest diversity coefficient (0.158). The most varied cultivars were bred by the DANKO Plant Breeding Company (0.288) and Strzelce Plant Breeding Company (0.283), while the least diverse ones were bred by the Station of Plant Breeding in Rogaczewo.

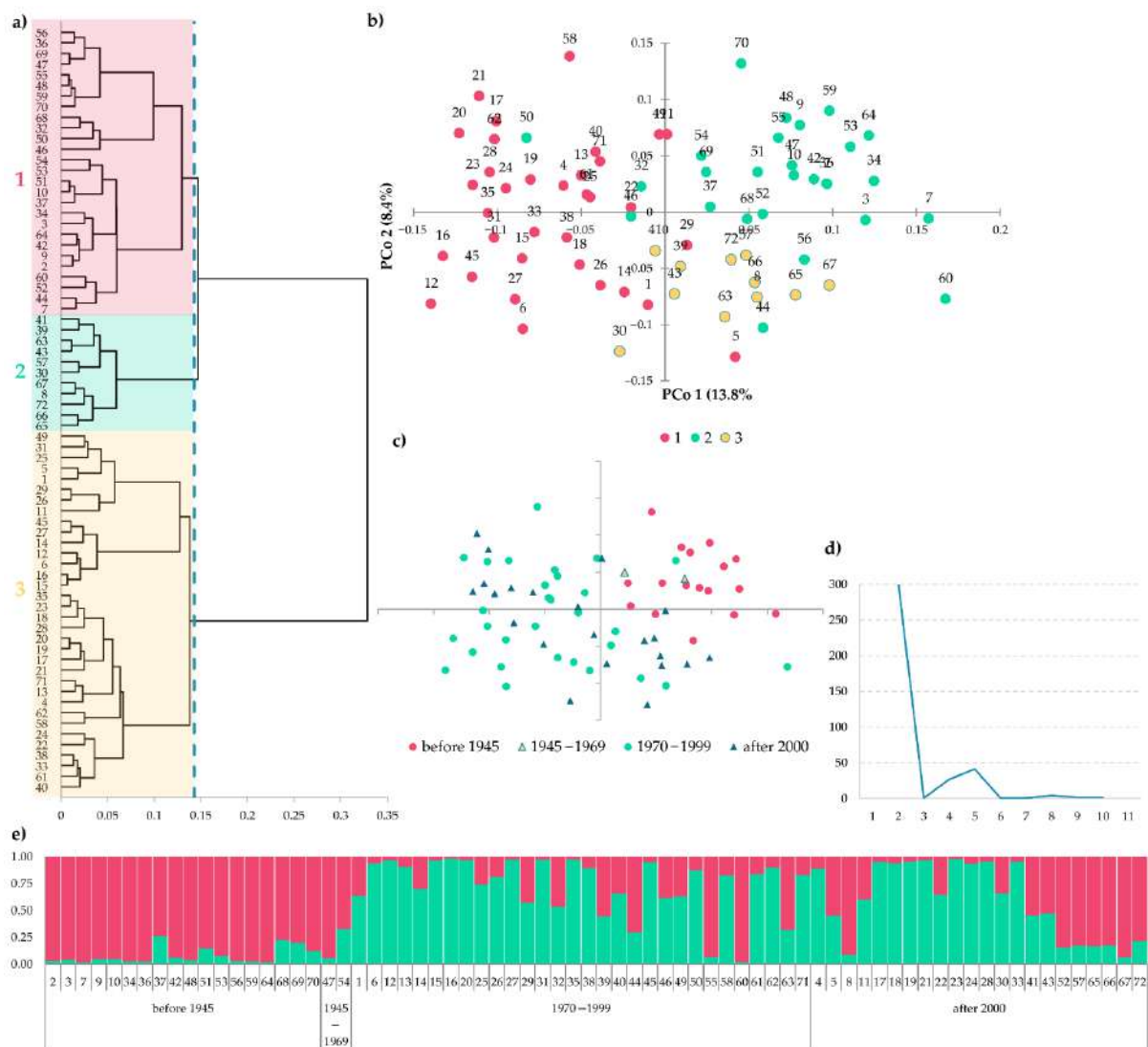
The results of AMOVA based on REMAP data were consistent with those obtained for ISSRs and indicated that variability among cultivars within the periods of breeding time was significantly higher than the variation between the breeding periods. Variance among cultivars within breeding companies was also higher than between companies. The pairwise  $\Phi_{PT}$  of breeding period groups did not support the results of analogous analysis for ISSRs. The difference between the oldest and the newest cultivars was smaller than that between the oldest and those bred in the period 1970–1999 (Table 3). Very small differences were found between contemporary breeding companies/stations. The cultivars derived from historical breeding centres were significantly different from the more modern ones, and this was consistent with the ISSR results (Table 4).

Genetic similarity between samples was calculated based on the Gower coefficient. For REMAP analysis, it was in the range of 0.59–0.88 for the cultivar pairs 'Borek'<sub>(12)</sub> vs. 'Proporczyk'<sub>(53)</sub> and 'Boryna'<sub>(15)</sub> vs. 'Borys'<sub>(16)</sub>, respectively. Based on the genetic distance matrices, Ward's cluster analysis was performed (Figure 5a). The cophenetic correlation was 0.437. A dendrogram created based on these results showed the presence of three major clusters with a strong hierarchical structure containing 27, 11, and 34 cultivars. The oldest cultivars (before 1945), with no exception, were grouped in the first cluster. Apart from them, there were also the two cultivars from the period 1945–1969, six bred in the period 1970–1999, and 'Polar'<sub>(52)</sub> representing the most modern group. The second cluster was composed of only 11 cultivars, the majority of which were bred after 2000. Two cultivars ('Kasztan'<sub>(39)</sub> and 'Sławko'<sub>(63)</sub>) of this cluster were obtained earlier, i.e., between the years 1970 and 1999. The third and largest cluster was composed of 34 cultivars, of which 22 were bred in the period 1970–1999 and the remaining 12 came from the most recent period. According to DA, the assignment of cultivars to the groups was identical in as much as 79.17% for REMAP and ISSR analyses, but only in 58.33% when comparing pedigree.

Associations among the 72 oat cultivars revealed by PCoA calculated from REMAP-based Gower dissimilarity estimates are presented in Figure 5b. The first (PCo1) and second (PCo2) principle coordinates accounted for 13.8 and 8.4% of the total variation, respectively. The results were spread across the principal coordinates, and no grouping pattern was found. However, an association of the breeding period with the plot could be noted, as shown in Figure 5c. DA confirmed 68.1% compliance of PCoA with the breeding time.

The STRUCTURE software was also used to determine the REMAP-based genetic structure. The  $\Delta$  statistical test showed that  $k = 2$  was optimal in this analysis (Figure 5d). At  $k = 2$ , 25 and 26 cultivars fell into the two groups, while 21 were marked as putative hybrids (Figure 5e). In general, the participation of the genetic makeup of the first group was higher in the cultivars bred before 1970, while the later ones mostly represented the second group. However, two cultivars from the period 1970–1999 and seven from the most recent period showed similarity with the first group at a level above 80%.





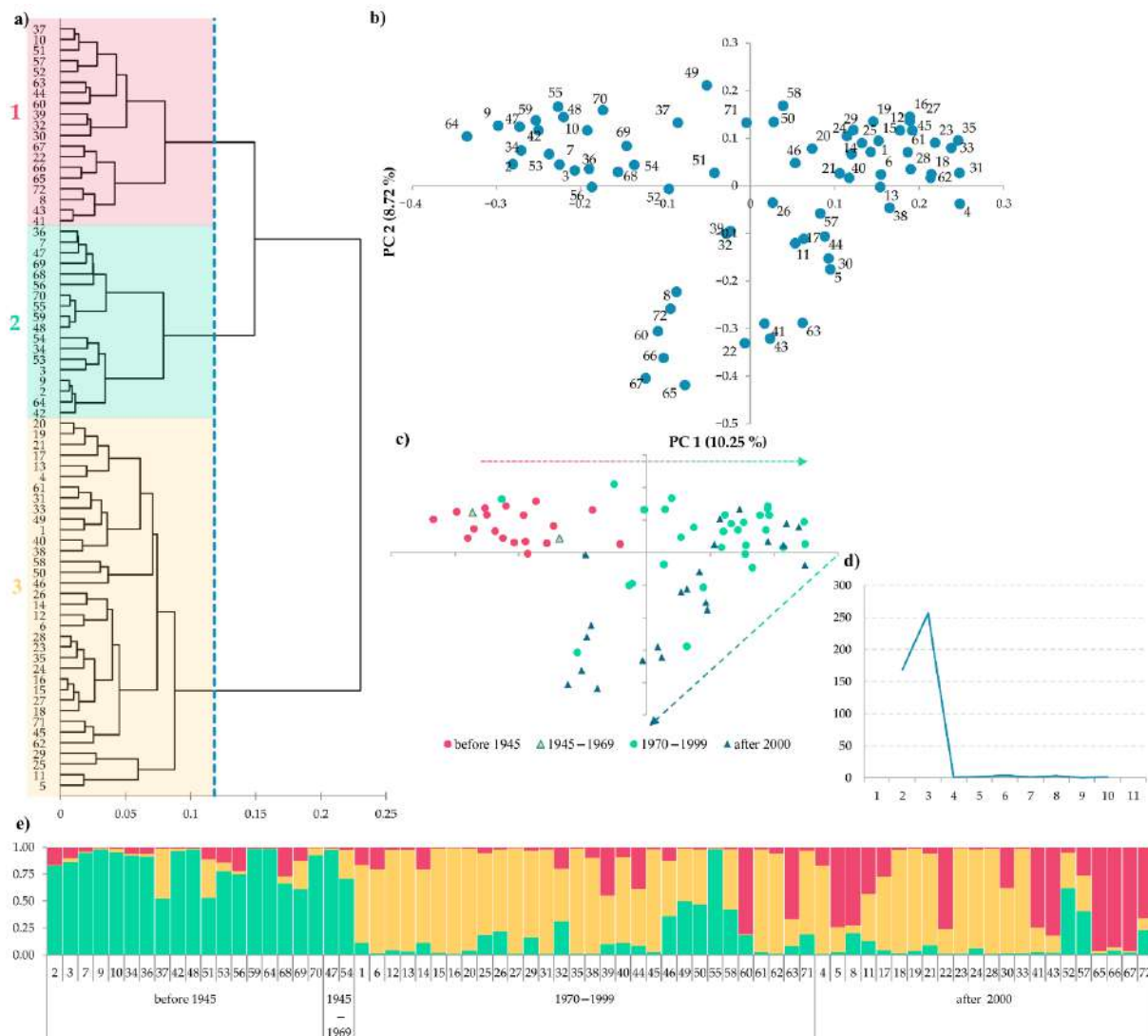
**Figure 5.** REMAP: (a) Results of the Ward method clustering based on the Gower dissimilarity coefficient. The vertical dashed line indicates the optimal number of clusters based on entropy, which measures how elements are distributed or assigned in each cluster. Low entropy corresponds to better clustering. (b) PCoA of the inter-cultivar distances measured using the Gower dissimilarity coefficient. The colours of the points correspond to the groups marked on the dendrogram. (c) PCoA plot with the indication of the breeding time. (d) Estimated numbers of clusters obtained for K values from 1 to 11 using ISSR data based on  $\Delta K$ . (e) Inferred population structure using the model-based program STRUCTURE. Plots were generated based on the Q-matrix consensus permuted across 5 replications for K = 2 using the CLUMPAK software. Each cultivar is represented by a single vertical line, which is partitioned into segments proportional to the estimated membership in the two subpopulations. The likelihood of assignment to a given cluster is on the vertical axis. ((a,b,e)—Each number represents a single cultivar and is consistent with the numbers in Table 1).

### 3.4. Combined and Comparative Evaluation

A pairwise Mantel test was performed for all combinations of dissimilarity matrices. Statistically significant correlation ( $r = 0.419$ ,  $p$ -value  $< 0.0001$ ) was observed only for the comparison of the ISSR and REMAP matrices.

For the combined binary matrices obtained from the ISSR and REMAP analyses, agglomerative hierarchical clustering (AHC) was performed using the Ward method. It showed the presence of three main clusters that, as before, were strongly hierarchical inside and contained 19, 18, and 35 cultivars, respectively (Figure 6a). Discriminant analysis

showed that the AHC results for the pooled matrices were 77.78% consistent with the clustering derived from the ISSR results and 86.11% consistent with the results derived from REMAP alone. The concordance of the clustering of the combined matrices with the results obtained from the pedigree analysis was 58.33%, which was the same as for each of the molecular analyses separately.



**Figure 6.** Combined results: (a) Results of the Ward method clustering based on the Gower dissimilarity coefficient for ISSR and REMAP. The vertical dashed line indicates the optimal number of clusters based on entropy, which measures how elements are distributed or assigned in each cluster. Low entropy corresponds to better clustering. (b) Scatterplot of GPA results for ISSR, REMAP, and pedigree data. (c) GPA plot with the indication of the breeding time. (d) Estimated number of clusters obtained for K values from 1 to 11 using ISSR and REMAP data based on  $\Delta K$ . (e) Inferred population structure using the model-based program STRUCTURE. Plots were generated based on the Q-matrix consensus permuted across 5 replications for K = 3 using the CLUMPAK software. Each cultivar is represented by a single vertical line, which is partitioned into segments proportional to the estimated membership in the three subpopulations. The likelihood of assignment to a given cluster is on the vertical axis. ((a,b,e)—Each number represents a single cultivar and is consistent with the numbers in Table 1).

A combination of PCoA results obtained from the pedigree, ISSR, and REMAP data was performed using Generalized Procrustes Analysis (GPA). The proportion of total variance explained by the consensus matrix ( $R_c$ ) for the dataset was high (0.737), and the

permutation test indicated that it was statistically significant ( $p < 0.05$ ), so the agreement within the dataset was strong. The pedigree data gave slightly less consistent results. The first two PCA dimensions (PC1 and PC2) accounted for 18.97 % of the variance in the consensus matrix (Figure 6b). Based on the biplot of the first two dimensions, the presence of three groups was noted. Moreover, a shift and then a change in breeding direction were found (Figure 6c).

Genetic structure was estimated based on combined genetic data using the model-based Bayesian clustering (Figure 6d). Based on the highest  $\Delta k$  values,  $k = 3$  appeared to be optimal. The oldest cultivars represented the first group, with the small participation of other groups (Figure 6e). From 1970 to 1999, the presence of the genotypes representing the second group was higher, while the recent cultivars belonged to both the second and third groups. This reflected the GPA results presented below.

#### 4. Discussion

The dozens of new oat cultivars have been developed over nearly 120 years of Polish breeding of oats (*Avena sativa* L.). In this study, an analysis of the diversity and population structure of 72 oat cultivars released since 1893 was carried out. The pedigree data as well as ISSR and REMAP markers were used for the research. The studied set of cultivars was assigned to the four groups according to the period of their breeding (before 1945, 1945–1969, 1970–2000, and after 2000) and six groups where the breeding company by which they were developed was considered (Strzelce Plant Breeding Company, DANKO Plant Breeding, Choryń, Station of Plant Breeding, Rogaczewo, Małopolska Plant Breeding Company, Station of Plant Breeding, Borów, or other). For historical and geographical reasons, European breeding has had a significant impact on the beginnings of oat breeding in Poland. In this research, the ancestry of Polish common oat cultivars was traced back to 124 cultivars, breeding lines, and landraces, allowing us to establish the influence of foreign varieties on the analysed material.

In our studies, we identified the five most common progenitors of Polish cultivars, which were ‘Markische Landsorte’, ‘selection from Ligowo oat’, ‘Fransk Svarthavre’, ‘Blanche de Siberie’, and ‘selection from Schleswig-Holstein landrace’. We found that at least one of these was present in 78% of analysed cultivars. ‘Selection from Markische Landsorte’ became the cultivar ‘Lochows Gelb’, which gave rise to ‘Flaminstreue’—a cultivar from the first German oat breeding lineages described by Bickelman (1989). Bickelman’s studies on fatuoid oats enabled him to conclude that the German varieties were derived from several genetic lines, three of which are the most numerous. One of them comes from the cross of the landraces ‘Lochows Gelb’ and ‘Oberschlesische Landsorte Weiß’, which gave rise to ‘Flamingstreue’ and ‘Flaminggold’. Most of the German breeding materials are descendants of these cultivars. The cross of ‘Probstei Type’ with ‘Lochows Gelb’ gave rise to the ‘Adler’ lineage, to which a series of cultivars can be traced back. The cross of ‘Silber’ with a ‘Fransk Svarthavre’ gave rise to ‘Minor’—the starting point of a third breeding lineage. Another progenitor of Polish cultivars, ‘Selection from Ligowo oat’—a cultivar from Sweden—gave rise to ‘Swedish Select’, followed by the ‘Blanche de Siberie’ (or ‘White Siberie’). This variety, after crossing with ‘Lochows Gelb’, gave the ‘Flaminggold’ variety (also from the first German lineages). ‘Fransk Svarthavre’ gave rise to the third German lineage. The common Polish cultivars’ progenitor, ‘selection from Schleswig-Holstein landrace’, took part in the formation of a Probstei-type oat lineage, which may be related to the second most popular pedigree line of German varieties. This confirms that Polish and German obsolete oat cultivars were derived from a small number of closely related landraces, cultivars, or breeding lines.

Comparing the European cultivars with the North American ones, Achleitner et al. [43] found that oat cultivars originating from European breeding programs showed less diversity than cultivars originating from North and South America. However, in Canadian breeding programs, 130 cultivars released from 1930 to 2001 could be traced back to fewer than 10 parental lines [44]. Similarly, most of the USA germplasm utilised for cultivar



development before 1970 traced back to only seven landrace varieties introduced from Europe: 'Kherson' ('Sixty Day'), 'Green Russian', 'Victory', 'Markton', 'White Russian' ('White Tartar'), 'Red Rustproof', and 'Winter Turf' [7]. The higher diversity of American cultivars was probably the effect of the popularity of the hybridisation of *A. sativa* with *A. byzantina*. Such hybrids were quite rare, especially in North and Central Europe, because *A. byzantina* is a winter-type red oat that is well-adapted to the mild winters typical of the Mediterranean basin as well as the United Kingdom.

Concern has often been expressed that modern intensive plant breeding leads to a reduction in the genetic diversity of crops. Such reductions may have consequences, both for the susceptibility of crops to pests and diseases and their ability to respond to climate change [45]. It is therefore necessary to quantify the changes that have occurred in the genetic diversity of major crops. In this study, the diversity and population structure analyses of 72 oat genotypes were performed to investigate the changes in the gene pool of the Polish oat cultivars over nearly 120 years of breeding. For this purpose, ISSR and REMAP molecular marker systems were used. Large-scale DNA sequencing techniques allow for an increase in the number of polymorphisms identified in a single experiment—mainly SNPs and In/Dels. Nevertheless, many breeding companies and scientists still cannot afford sequential analysis, and traditional polymorphism analysis techniques are a widely used and cheap alternative. PCR-based techniques give a direct measure of genetic diversity and identify a high number of polymorphic loci uniformly distributed through the genome. In our study, both the ISSR and REMAP matrices showed a statistically significant correlation, allowing us to obtain complementary results. Similarly, Dziurdziak et al. [46], examining local barley cultivars, found a high correlation between the results obtained with the ISSR method and DArTseq. The DArTseq relies on the analysis of SNPs by restriction digestion within the reduced representation of the genome. Thus, it can be concluded that the ISSR and related REMAP markers belong to the group of highly informative and reliable markers.

In this paper, the effectiveness of ISSR and REMAP markers was determined by the amount of polymorphism, PIC (polymorphic information content) coefficient, marker index (MI), and resolving power (RI). The highest average number of polymorphic fragments as well as PIC, RI, and MI was characterised by REMAP, in contrast to the results of Paczos-Grzęda and Bednarek [20]. The REMAP method identifies polymorphisms resulting from the distribution of microsatellite sequences and retrotransposons; therefore, a greater polymorphism of REMAP markers seems to be justified. The ISSR method, on the other hand, detects variation in the size of the genomic regions between the two adjacent microsatellite sequences used as the primer binding sites [25]. Most of the studies on *Avena* diversity conducted so far by other authors have been carried out using the ISSR method; however, enriching the results with REMAP polymorphism works in favour of the obtained results, especially since the two methods show a statistically significant correlation. Pedigree analysis is the most misleading method, as it is based on the assumption that parents contribute half of their genome to the progeny and are genetically significantly distinct from one another. Consequently, the differences between genotypes obtained by this method are overestimated.

The genetic diversity of Polish oat cultivars has been analysed in the past using molecular markers such as RAPD and AFLP [19], as well as ISSR [18,20,21,47]. The results obtained in the previous studies indicated differences between old and modern Polish cultivars; however, the diversity within the analysed gene pools was at a low level, which is consistent with the results obtained in this study. Our research indicates that most of the variability is due to the variation within analysed oat groups based on the period of their breeding. The longer the breeding time interval, the greater the differences between the studied gene pools. The distinction of the historical gene pool from that of modern oat cultivars is justified by the destruction of Polish breeding materials during World War II. Historical cultivars from the first half of the 20th century mainly result from selection within landraces. Landraces, usually genetically heterogeneous and adapted to local

conditions, are seen as a source of easily accessible genes that provide better resistance to biotic and abiotic stresses [48]. Landraces, in comparison to cultivars, are considered to be much more genetically diverse, as confirmed by the previous results of a genetic diversity analysis within a collection of common oat landraces originating from the same regions [18,22,23]. The total variation of the collection was relatively low in contrast to the internal variation of the studied landraces. Moreover, the level of oat landraces' internal variation was significantly higher than that found within historical and modern cultivars [23]. In our study, the group of the most recent cultivars was more diverse than most of the compared groups; however, incorporating landraces as well as wild relatives into the modern breeding process would definitely expand the oat gene pool and enrich it with the desired breeding traits. Today, in the modern breeding process—mostly for economic reasons—the exploitation of landraces is replaced by advanced cultivars or breeding lines with a limited genetic makeup. By narrowing the starting material, breeders do not need several backcrossing cycles to eliminate the undesirable traits introduced along with the desirable ones, significantly speeding up the breeding process, but leading to meeting short-term breeding goals.

Currently, attempts are being made to create cultivars that are resistant to new aggressive races of pathogens and easily adapt to abiotic stresses and climate change [13]. This study indicates that historical oat cultivars are genetically distinct from more modern ones and, according to our previous research [49] determining resistance to *Puccinia coronata* f.sp. *avenae* in a set of 63 previously uncharacterised oat cultivars, historical varieties could be a valuable source of useful *Pc* resistance genes discarded during subsequent breeding. A similar role may be played by wild oat progenitors [49–53]; however, all *Avena* spp. are grouped into three gene pools [54], and successful introgression of genes from diploids or tetraploids belonging to the tertiary gene pool to hexaploid *A. sativa* is more demanding and requires special techniques [55]. Attention needs to be paid to integrated efforts in the conservation of oat germplasm and the exploration of new sources of desirable alleles. Continuous diversification of breeding materials and gene introgression from more exotic germplasm would broaden the genetic diversity and allow sustainable oat improvements.

Diversity loss is common in modern crops of major species developed by large breeding programs [56]. The performed research proved that Polish oat breeding using traditional breeding methods, although focused on improving traits defined by market needs, did not significantly narrow the oat gene pool and has been releasing cultivars that are competitive in the European market. A further, more detailed analysis extended with morphological and physiological characteristics is crucial for developing long-term strategies that are beneficial to modern oat breeding.

## 5. Conclusions

The performed analysis enabled the investigation of the changes in the gene pool of the oat cultivars over nearly 120 years of breeding in Poland. A decrease in observed heterozygosity within the groups was observed only in the postwar period (1945–1969), and new alleles were provided as a result of extensive crosses with foreign materials. The population genetic structure was quite simple, composed of two or three distinct gene pools, depending on the method of polymorphism assessment. ISSR and REMAP analysis support the statement that currently grown cultivars share a very similar genetic background, although they are derived from different breeding companies and their gene pool is significantly distinct from that of older varieties. This confirms the undeniable distinctiveness of the gene pools of old and modern Polish cultivars hypothesised by researchers in the previous oat diversity studies. The pedigree analysis enabled the identification of the five most common progenitors of Polish cultivars and the establishment of the influence of foreign varieties in the analysed material. Comparative analysis of the methods used in the study showed that the set of REMAPs was the most efficient, and since most of the studies on *Avena* diversity conducted so far have been carried out using the ISSR method, enriching

the results with REMAP polymorphism works in favour of the obtained results—especially since the two methods show a statistically significant correlation.

**Supplementary Materials:** The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/agronomy12102423/s1>, Table S1: List of ISSR primers used in the study and values of informativeness coefficients: Polymorphic information content (PIC); Marker Index (MI); Resolving Power (RP); Table S2: List of REMAP primers used in the study and values of informativeness coefficients: Polymorphic information content (PIC); Marker Index (MI); Resolving Power (RP).

**Author Contributions:** Conceptualisation and methodology, A.K., E.P.-G. and S.S.; investigation, A.K. and J.T.; resources E.P.-G.; writing—original draft preparation, A.K.; writing—review and editing, E.P.-G. and S.S.; visualisation, M.B. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** The calculations were performed at the Interdisciplinary Centre for Mathematical and Computational Modelling, University of Warsaw (ICM UW), within the framework of Computational Grant No. G72–19.

**Institutional Review Board Statement:** Not applicable.

**Informed Consent Statement:** Not applicable.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript; or in the decision to publish the results.

## References

1. Stevens, E.J.; Armstrong, K.W.; Bezar, H.J.; Griffin, W.B.; Hampton, J.G. Fodder oats an overview. In *Fodder Oats: A World Overview*; Suttie, J.M., Reynolds, S.G., Eds.; Agriculture Organization of the United Nations: Rome, Italy, 2004; pp. 1–9.
2. Baum, B.R. *Oats: Wild and Cultivated: A Monograph of the Genus Avena L. (Poaceae)*; Monograph; Supply and Service Canada: Ottawa, ON, Canada, 1977.
3. Leggett, J.M. Classification and Speciation in *Avena*. In *Oat Science and Technology*; Marshall, H.G., Sorrells, M.E., Eds.; Agronomy Monograph; American Society of Agronomy, Crop Science Society of America: Madison, WI, USA, 1992; pp. 29–52. ISBN 978-0-89118-225-2.
4. Zeller, F.J. Nutzung des genetischen Potentials der *Avena*-Wildarten zur Verbesserung des Saathafers (*Avena sativa* L.). *J. Appl. Bot.* **1998**, *72*, 180–185.
5. Zohary, D.; Hopf, M. *Domestication of Plants in the Old World*, 2nd ed.; Clarendon Press: Oxford, UK, 1993.
6. Budzyński, W.; Szemplińska, W. Owies (Oat). In *Szczegółowa Uprawa Roślin (Detailed Plant Cultivation)*; Jasińska, Z., Kotecki, W., Eds.; Agricultural Academy: Wrocław, Poland, 2003; pp. 239–258.
7. Coffman, F.A. *Oat History, Identification and Classification*; US Department of Agriculture: Washington, DC, USA, 1977; Volume 1516.
8. Murphy, J.P.; Hoffman, L.A. The Origin, History, and Production of Oat. In *Oat Science and Technology*; Marshall, H.G., Sorrells, M.E., Eds.; American Society of Agronomy: Madison, WI, USA, 1992; p. 27.
9. Leggett, J.M.; Thomas, H. Oat evolution and cytogenetics. In *The Oat Crop*; Welch, W., Ed.; Chapman & Hall: London, UK, 1995; p. 121.
10. Andersson, A.; Börjesdotter, D. Effects of environment and variety on content and molecular weight of b-glucan in oats. *J. Cereal Sci.* **2011**, *54*, 122–128. [[CrossRef](#)]
11. FAOSTAT Database. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Available online: [www.fao.org](http://www.fao.org) (accessed on 21 July 2022).
12. Boczkowska, M.; Podyma, W.; Łapiński, B. Oat. In *Genetic and Genomic Resources for Grain Cereals Improvement*; Singh, M., Upadhyaya, H.D., Eds.; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2016; pp. 159–225. ISBN 9780128020005.
13. Gorash, A.; Armonienė, R.; Mitchell Fetch, J.; Liatukas, Ž.; Danytė, V. Aspects in oat breeding: Nutrition quality, nakedness and disease resistance, challenges and perspectives. *Ann. Appl. Biol.* **2017**, *171*, 281–302. [[CrossRef](#)]
14. Spiss, L. History of oat breeding in Poland. *Biul. Inst. Hod. Aklim. Roślin* **2003**, *229*, 7–11.
15. Arseniuk, E.; Krzymuski, J.; Martyniak, J. *History of Breeding and Seed Production in Poland in the 20th Century*; IHAR Radzików: Radzików, Poland, 2003; ISBN 83-88518-53-4.
16. Świerczewski, A.; Mazaraki, M. Oat breeding. In *Biology and Agrotechnology of Oats*; Mazurek, J., Wojcieszka, U., Mazurek, J., Król, M., Eds.; IUNG: Pulawy, Poland, 1993; pp. 129–161.
17. Montilla-Bascón, G.; Sánchez-Martín, J.; Risipail, N.; Rubiales, D.; Mur, L.; Langdon, T.; Griffiths, I.; Howarth, C.; Prats, E. Genetic Diversity and Population Structure Among Oat Cultivars and Landraces. *Plant Mol. Biol. Report.* **2013**, *31*, 1305–1314. [[CrossRef](#)]

18. Boczkowska, M.; Łapiński, B.; Kordulasińska, I.; Dostatny, D.F.; Czembor, J.H. Promoting the Use of Common Oat Genetic Resources through Diversity Analysis and Core Collection Construction. *PLoS ONE* **2016**, *11*, e0167855. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
19. Paczos-Grzęda, E. Pedigree, RAPD and simplified AFLP-based assessment of genetic relationships among *Avena sativa* L. cultivars. *Euphytica* **2004**, *138*, 13–22. [[CrossRef](#)]
20. Paczos-Grzęda, E.; Bednarek, P.T. Comparative analysis of hexaploid *Avena* species using REMAP and ISSR methods. *Turk. J. Botany* **2014**, *38*, 1103–1111. [[CrossRef](#)]
21. Boczkowska, M.; Nowosielski, J.; Nowosielska, D.; Podyma, W. Assessing genetic diversity in 23 early Polish oat cultivars based on molecular and morphological studies. *Genet. Resour. Crop Evol.* **2014**, *61*, 927–941. [[CrossRef](#)]
22. Boczkowska, M.; Tarczyk, E. Genetic diversity among Polish landraces of common oat (*Avena sativa* L.). *Genet. Resour. Crop Evol.* **2013**, *60*, 2157–2169. [[CrossRef](#)]
23. Boczkowska, M.; Onyśk, A. Unused genetic resources: A case study of Polish common oat germplasm. *Ann. Appl. Biol.* **2016**, *169*, 155–165. [[CrossRef](#)]
24. Doyle, J.J.; Doyle, J.L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem. Bull.* **1987**, *19*, 11–15.
25. Ziętkiewicz, E.; Rafalski, A.; Labuda, D. Genome Fingerprinting by Simple Sequence Repeat (SSR)-Anchored Polymerase Chain Reaction Amplification. *Genomics* **1994**, *20*, 176–183. [[CrossRef](#)]
26. Paczos-Grzęda, E.; Bednarek, P.T.; Koroluk, A.; Nita, Z.; Banaszak, Z.; Bichonski, A.; Chmiel, M.; Gradzielewska, A.; Nowaczyk, K.; Szolkowska, A.; et al. Genetic similarity assessment among selected naked oat cultivars and breeding lines using ISSR markers. *Not. Bot. Horti Agrobot. Cluj Napoca* **2014**, *42*, 66–72. [[CrossRef](#)]
27. Kalendar, R.; Grob, T.; Regina, M.; Suoniemi, A.; Schulman, A. IRAP and REMAP: Two new retrotransposon-based DNA fingerprinting techniques. *Theor. Appl. Genet.* **1999**, *98*, 704–711. [[CrossRef](#)]
28. Roldán-Ruiz, I.; Calsyn, E.; Gilliland, T.J.; Coll, R.; Van Eijk, M.J.T.; De Loose, M. Estimating genetic conformity between related ryegrass (*Lolium*) varieties. 2. AFLP characterization. *Mol. Breed.* **2000**, *6*, 593–602. [[CrossRef](#)]
29. Varshney, R.K.; Chabane, K.; Hendre, P.S.; Aggarwal, R.K.; Graner, A. Comparative assessment of EST-SSR, EST-SNP and AFLP markers for evaluation of genetic diversity and conservation of genetic resources using wild, cultivated and elite barleys. *Plant Sci.* **2007**, *173*, 638–649. [[CrossRef](#)]
30. Prevost, A.; Wilkinson, M.J. A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. *Theor. Appl. Genet.* **1999**, *98*, 107–112. [[CrossRef](#)]
31. Tinker, N.A.; Deyl, J.K. A Curated Internet Database of Oat Pedigrees. *Crop Sci.* **2005**, *45*, 2269–2272. [[CrossRef](#)]
32. Wang, S.; Lu, Z. Genetic diversity among parental lines of Indica hybrid rice (*Oryza sativa* L.) in China based on coefficient of parentage. *Plant Breed.* **2006**, *125*, 606–612. [[CrossRef](#)]
33. Gower, J.C. A General Coefficient of Similarity and Some of Its Properties. *Biometrics* **1971**, *27*, 857. [[CrossRef](#)]
34. *Addinsoft XLSTAT 2019.4.1 Statistical and Data Analysis Solution*; Addinsoft, NY, USA, 2019. Available online: <https://www.xlstat.com> (accessed on 10 June 2022).
35. Farris, J.S. On the Cophenetic Correlation Coefficient. *Syst. Zool.* **1969**, *18*, 279. [[CrossRef](#)]
36. Peakall, R.; Smouse, P.E. GENALEX 6.5: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—An update. *Bioinformatics* **2012**, *28*, 2537–2539. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
37. Excoffier, L.; Smouse, P.E.; Quattro, J.M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* **1992**, *131*, 479–491. [[CrossRef](#)]
38. Wright, S. The Interpretation of Population Structure by F-Statistics with Special Regard to Systems of Mating. *Evolution* **1965**, *19*, 395. [[CrossRef](#)]
39. Wright, S. Isolation by distance. *Genetics* **1943**, *28*, 114–138. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
40. Lynch, M.; Milligan, B.G. Analysis of population genetic structure with RAPD markers. *Mol. Ecol.* **1994**, *3*, 91–99. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
41. Hubisz, M.J.; Falush, D.; Stephens, M.; Pritchard, J.K. Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Mol. Ecol. Resour.* **2009**, *9*, 1322–1332. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. Kopelman, N.M.; Mayzel, J.; Jakobsson, M.; Rosenberg, N.A.; Mayrose, I. Clumpak: A program for identifying clustering modes and packaging population structure inferences across K. *Mol. Ecol. Resour.* **2015**, *15*, 1179–1191. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Achleitner, A.; Tinker, N.A.; Zechner, E.; Buerstmayr, H. Genetic diversity among oat varieties of worldwide origin and associations of AFLP markers with quantitative traits. *Theor. Appl. Genet.* **2008**, *117*, 1041–1053. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Fu, Y.; Peterson, G.W.; Scoles, G.; Rossnagel, B.; Schoen, D.J.; Richards, K.W. Allelic Diversity Changes in 96 Canadian Oat Cultivars Released from 1886 to 2001. *Crop Sci.* **2003**, *43*, 1989–1995. [[CrossRef](#)]
45. Clunies-Ross, T. Mangolds, manure and mixtures: The importance of crop diversity on British farms. *Ecologist* **1995**, *25*, 181–187.
46. Dziurdziak, J.; Gryziak, G.; Groszyk, J.; Podyma, W.; Boczkowska, M. DArTseq Genotypic and Phenotypic Diversity of Barley Landraces Originating from Different Countries. *Agronomy* **2021**, *11*, 2330. [[CrossRef](#)]
47. Boczkowska, M.; Harasimiuk, M.; Onyśk, A. Studies on genetic variation within old Polish cultivars of common oat. *Cereal Res. Commun.* **2015**, *43*, 12–21. [[CrossRef](#)]
48. Villa, T.C.C.; Maxted, N.; Scholten, M.; Ford-Lloyd, B. Defining and identifying crop landraces. *Plant Genet. Resour.* **2005**, *3*, 373–384. [[CrossRef](#)]

49. Sowa, S.; Paczos-Grzęda, E. A study of crown rust resistance in historical and modern oat cultivars representing 120 years of Polish oat breeding. *Euphytica* **2020**, *216*, 1–10. [[CrossRef](#)]
50. Okoń, S.M.; Ociepa, T.; Paczos-Grzęda, E.; Ladizinsky, G. Evaluation of resistance to *Blumeria graminis* (DC.) f. sp. *avenae*, in *Avena murphyi* and *A. magna* genotypes. *Crop Prot.* **2018**, *106*, 177–181. [[CrossRef](#)]
51. Paczos-Grzęda, E.; Sowa, S.; Koroluk, A.; Langdon, T. Characteristics of resistance to *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* in *Avena fatua*. *Plant Dis.* **2018**, *102*, 2616–2624. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
52. Paczos-Grzęda, E.; Sowa, S.; Boczkowska, M.; Langdon, T. Detached Leaf Assays for Resistance to Crown Rust Reveal Diversity Within Populations of *Avena sterilis*. *Plant Dis.* **2019**, *103*, 832–840. [[CrossRef](#)]
53. Sowa, S.; Paczos-Grzęda, E.; Koroluk, A.; Okoń, S.; Ostrowska, A.; Ociepa, T.; Chrzastek, M.; Kowalczyk, K. Resistance to *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* in *Avena magna*, *A. murphyi*, and *A. insularis*. *Plant Dis.* **2016**, *100*, 1184–1191. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
54. Harlan, J.R.; de Wet, J.M.J. Toward a rational classification of cultivated plants. *Taxon* **1971**, *20*, 509–517. [[CrossRef](#)]
55. Aung, T.; Chong, J.; Leggett, M. The Transfer of Crown Rust Resistance *Pc94* from a Wild Diploid to Cultivated Hexaploid Oat. In Proceedings of the 9th International European and Mediterranean Cereal Rust and Powdery Mildews Conference, Lunteren, The Netherlands, 2–6 September 1996; Kema, G.H.J., Niks, R.E., Daamen, R.A., Eds.; Wageningen, European and Mediterranean Cereal Rust Foundation: Lunteren, The Netherlands, 1996; pp. 167–171.
56. Maxted, N.; Dulloo, M.E.; Ford-Lloyd, B.V. *Enhancing Crop Genepool Use: Capturing Wild Relative and Landrace Diversity for Crop Improvement*; CABI: Boston, MA, USA, 2016.

**P.2. Koroluk A., Sowa S., Boczkowska M., Paczos-Grzęda E.\* 2023. Utilizing Genomics to Characterize the Common Oat Gene Pool—the Story of More than a Century of Polish Breeding. Int. J. Mol. Sci. 24(7), 6547. DOI: 10.3390/ijms24076547.**

**IF: 5,6; MEiN: 140 pkt**





Article

# Utilizing Genomics to Characterize the Common Oat Gene Pool—The Story of More than a Century of Polish Breeding

Aneta Koroluk <sup>1</sup>, Sylwia Sowa <sup>1</sup>, Maja Boczkowska <sup>2</sup> and Edyta Paczos-Grzęda <sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> Institute of Plant Genetics, Breeding and Biotechnology, University of Life Sciences in Lublin, 20-950 Lublin, Poland; aneta.koroluk@up.lublin.pl (A.K.); sylwia.sowa@up.lublin.pl (S.S.)

<sup>2</sup> Plant Breeding and Acclimatization Institute, National Research Institute, 05-870 Radzików, Poland; m.boczkowska@ihar.edu.pl

\* Correspondence: edyta.paczos@up.lublin.pl

**Abstract:** This study was undertaken to investigate the diversity and population structure of 487 oat accessions, including breeding lines from the ongoing programs of the three largest Polish breeding companies, along with modern and historical Polish and foreign cultivars. The analysis was based on 7411 DArTseq-derived SNPs distributed among three sub-genomes (A, C, and D). The heterogeneity of the studied material was very low, as only cultivars and advanced breeding lines were examined. Principal component analysis (PCA), principal coordinate analysis (PCoA), and cluster and STRUCTURE analyses found congruent results, which show that most of the examined cultivars and materials from Polish breeding programs formed major gene pools, that only some accessions derived from Strzelce Plant Breeding, and that foreign cultivars were outside of the main group. During the 120 year oat breeding process, only 67 alleles from the old gene pool were lost and replaced by 67 new alleles. The obtained results indicate that no erosion of genetic diversity was observed within the Polish native oat gene pool. Moreover, current oat breeding programs have introduced 673 new alleles into the gene pool relative to historical cultivars. The analysis also showed that most of the changes in relation to historical cultivars occurred within the A sub-genome with emphasis on chromosome 6A. The targeted changes were the rarest in the C sub-genome. This study showed that Polish oat breeding based mainly on traditional breeding methods—although focused on improving traits typical to this crop, i.e., enhancing the grain yield and quality and improving adaptability—did not significantly narrow the oat gene pool and in fact produced cultivars that are not only competitive in the European market but are also reservoirs of new alleles that were not found in the analyzed foreign materials.

**Keywords:** *Avena sativa*; oat; genetic diversity; DArTseq; SNP; cultivars; breeding



**Citation:** Koroluk, A.; Sowa, S.; Boczkowska, M.; Paczos-Grzęda, E. Utilizing Genomics to Characterize the Common Oat Gene Pool—The Story of More than a Century of Polish Breeding. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 6547. <https://doi.org/10.3390/ijms24076547>

Academic Editor: Jian Ma

Received: 30 January 2023

Revised: 18 March 2023

Accepted: 20 March 2023

Published: 31 March 2023



**Copyright:** © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## 1. Introduction

One of the greatest modern challenges is the rapid growth of the human population, estimated to reach 10 billion over the next 30 years [1]. Hence, there is a need to increase agricultural production to provide global food security. Human nutrition is based on the cereals belonging to the *Poaceae* family, also known as *Gramineae*, of which wheat, corn, and rice provide nearly two-thirds of the global caloric intake [2,3]. Oat (*Avena sativa* L.) significantly stands out from other cereals. Oat grain is rich in vitamins and macro- and microelements and has the lowest polysaccharide content with a predominance of starch.

Oat contains large amounts of dietary fiber—in particular, its soluble fraction is rich in  $\beta$ -glucans, ingredients that have been one of the greatest discoveries in recent years [4,5]. Of particular interest are oat avenanthramides, reported to possess antioxidant [6] and cholesterol-lowering properties [7]. The extraordinary nutritional value and health-promoting compounds increase the economic importance of oat, extend the requirements for new oat breeding cultivars, and develop new breeding directions.

In 2021, the area in Poland planted with oats occupied 527.405 thousand hectares, placing Poland among the top five oat producers globally, next to Russia, Canada, Australia, and the USA (<http://faostat3.fao.org>, <http://stat.gov.pl/>, accessed on 5 January 2023).

Polish oat breeding has a rich history of over 120 years. The beginning of oat breeding on Polish territory dates back to the end of the nineteenth century. The first reports of Polish cultivars appeared as early as 1893 when Antoni Sempołowski, considered the pioneer of Polish breeding, developed the cultivar ‘Sobieszyński’, which was derived from ‘Rychlik Lubelski’, descended from oats grown by peasants in the Lublin region. This confirms that the first Polish oat cultivars were developed even before 1893. Until World War II, around 60 Polish cultivars were bred. During the war, almost all Polish breeding materials were destroyed, and oat breeding had to be thoroughly rebuilt.

For many years after the war, the Polish oat register was based on the pre-war cultivars from the 1920s. Some of the old varieties, such as Udyzc Żółty, due to the high quality comparable to other European oats, were listed in the register up until 1975 [8]. In 1964, due to the lack of new Polish cultivars, the market was mostly dominated by foreign varieties. Since 1977, this monopoly began to be overcome by new, Polish cultivars, of which the Dragon and Markus developed in Danko Plant Breeding Ltd. played a major role [9]. Since then, due to breeding development, many excellent Polish cultivars have emerged, bringing a richness of favorable traits.

In order to achieve new breeding goals, i.e., to increase the yield stability, nutritional value, and resistance to biotic and abiotic factors, a thorough characterization of breeding materials is necessary. Assessing the extent of the genetic diversity among adapted, elite germplasms may be useful for estimating the genetic variability among segregating progeny. In the studies conducted so far, the analyses of the genetic diversity of Polish cultivars gene pool have mainly been based on randomly amplified polymorphic DNA (RAPD), amplified fragment length polymorphism (AFLP), retrotransposon–microsatellite amplified polymorphism (REMAP), and inter simple sequence repeat (ISSR) [10–13].

PCR-based markers have been used to analyze the genetic diversity of 23 primary oat cultivars bred in Poland before 1939 [12], that of 19 oat cultivars registered in Poland in the years 1984–2004 [11], and that of selected modern and old Polish cultivars and landraces [13–15]. Even though PCR-based techniques are widely used and affordable, the use of techniques based on large-scale DNA sequencing enables a significant increase in the number of polymorphisms identified in a single experiment. Among the many techniques available, DArT genotyping by sequencing (DArTseq™) is very popular and often used. DArTseq is a highly informative genome marker technology based on next-generation Illumina short-read sequencing [16,17].

This technique has enabled the successful genetic diversity evaluation of many species, including *Triticum aestivum* [18], *Allium sativum* [19], *Hordeum vulgare* [20,21], and *Solanum lycopersicum* [22]. In this study, DArTseq-derived SNPs were used to genotype breeding lines from the ongoing programs of the three largest Polish breeding companies, along with modern and historical Polish and foreign cultivars to assess the genetic relatedness and population structure of Polish breeding materials. The material used had never been genotyped by sequencing before, and thus the obtained results may increase breeders’ knowledge of oat germplasm and assist in the selection of materials useful for modern oat-breeding programs.

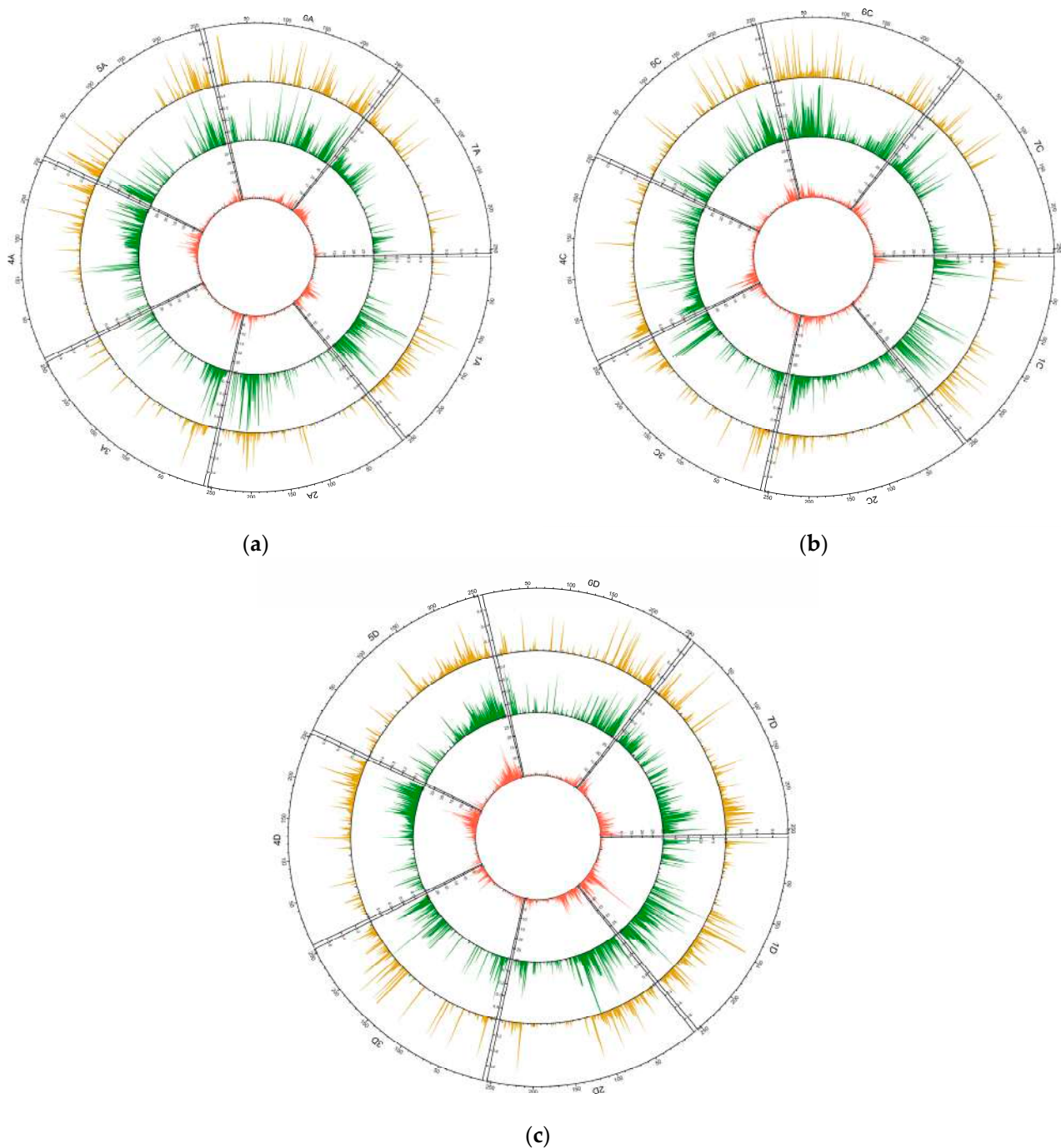
## 2. Results

### 2.1. Data Quality

The SNP dataset obtained using the DArTseq™ genome reduction method contained 32,253 markers. The average rate of missing values per SNP marker was 11.36%. To avoid errors in the statistical analysis, loci with more than 5% missing data, low reproducibility ( $\text{RepAvg} \leq 1$ ), and low minor allele frequency ( $\text{MAF} < 0.01$ ) were removed. Therefore, 24,842 SNP loci were excluded, and 7411 met all quality parameters and were subjected to further analysis.



Within the remaining SNPs, a total of 6317 had known positions on the chromosomes of A-, C-, and D-reference OT3098 oat genomes v2 [23] (Figure 1). There were 70 SNPs assigned to the unknown chromosome of OT3098 composed of the sequences unassigned to the 21 chromosomes, and 1024 markers not associated with any reference oat chromosome. Most of the loci analyzed were located on chromosome 4D (524), and the least were on 2A (148). In general, the patterns of the studied loci distribution along each chromosome were similar; the number of loci was higher at the ends of chromosomes and decreased towards the centromere.



**Figure 1.** Circular overview of 21 chromosomes of A, C, and D oat reference genome OT3098 [23] for 487 *A. sativa* genotypes based on DArTseq data. (a) DArTseq loci distribution; (b) average polymorphism information content (PIC) distribution; and (c) average observed heterozygosity (Ho) distribution.

In the studied oat collection, more transition-type (53.05%) than transversion-type (46.95%) mutations were observed with a transition/transversion (Ts/Tr) SNP rate of 1 > 13 (Table 1). Within the transition, more changes occurred within purines (51.69%) than pyrimidines (48.31%). In the A and C sub-genomes, the most frequent change was A > G, and in the D sub-genome, G > A. For transversions, there were generally more pyrimidine > purine changes (51.01%) than purine > pyrimidine (48.99%), and the most frequently observed mutation was C > G (20.89% of all transversions). In the A and D sub-genomes, the most common mutation type was C > G, and in the C sub-genome, G > C. The least frequent type of change was A > T with only a single mutation of this type observed on chromosome 6D.

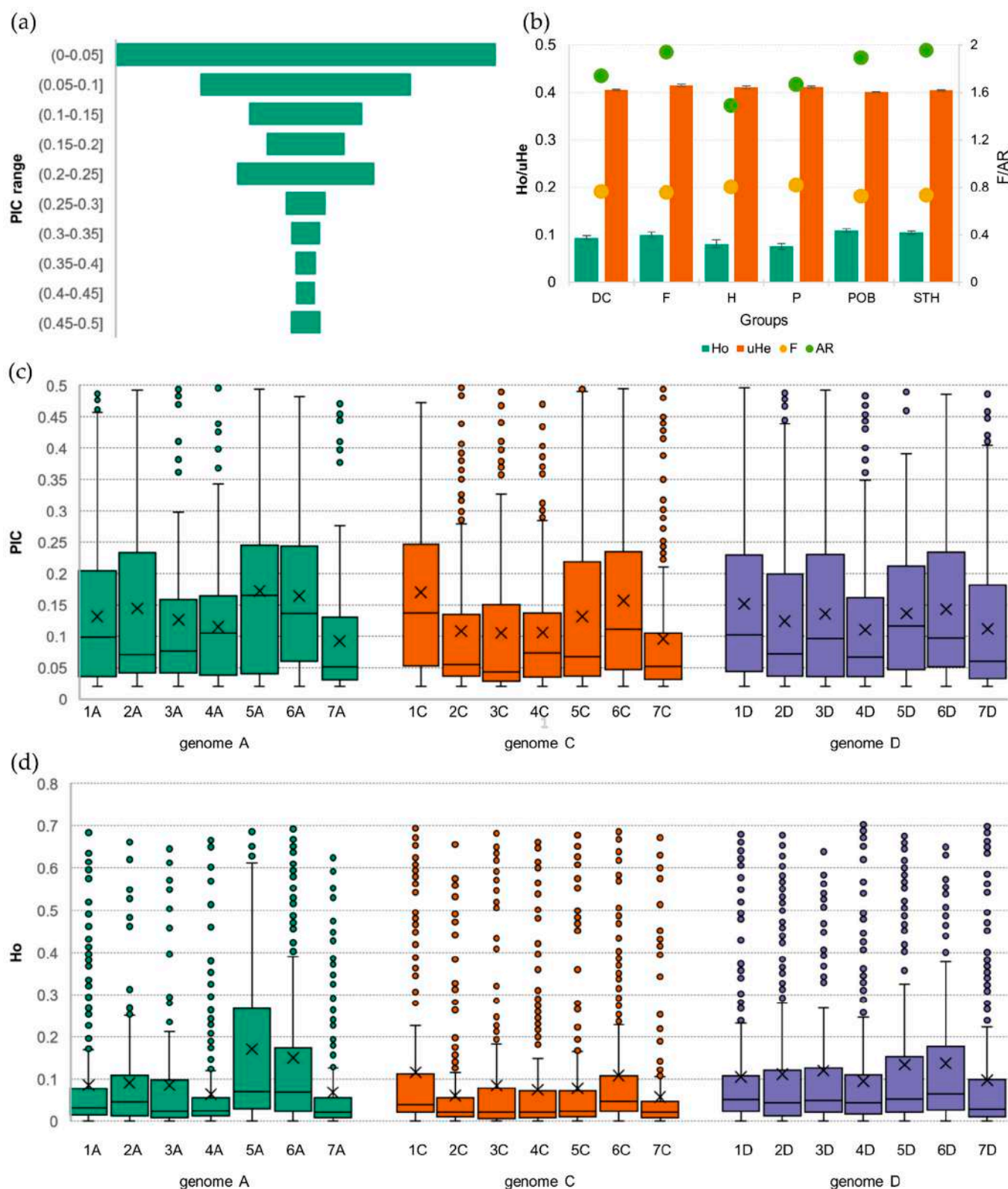
**Table 1.** Summary of point mutation abundance at the tested loci by chromosome based on DArTseq analysis of 487 *A. sativa* accessions.

	Transitions				Transversion								% Ts	% Tv	Ts/Tv Ratio
	Purines		Pyrimidines		Purines > Pyrimidines				Pyrimidines > Purines						
	A > G	G > A	C > T	T > C	A > C	A > T	G > C	G > T	C > A	C > G	T > A	T > G			
1A	39	40	35	51	20	7	27	14	11	38	6	14	0.546	0.454	1.204
1C	23	26	27	13	10	3	17	10	8	20	5	4	0.536	0.464	1.156
1D	47	74	55	70	18	14	49	29	37	48	13	16	0.523	0.477	1.098
2A	17	23	24	16	7	5	20	9	7	10	3	7	0.541	0.459	1.176
2C	60	50	47	44	24	6	18	16	16	29	10	28	0.578	0.422	1.367
2D	49	64	57	47	12	11	34	24	23	34	5	25	0.564	0.436	1.292
3A	32	23	20	25	8	3	17	9	15	11	2	7	0.581	0.419	1.389
3C	39	43	27	26	18	8	32	17	17	23	2	14	0.508	0.492	1.031
3D	27	32	27	24	13	3	23	13	14	25	4	12	0.507	0.493	1.028
4A	53	40	35	43	13	10	34	25	16	33	9	18	0.520	0.480	1.082
4C	59	47	49	49	24	6	37	11	29	35	9	24	0.538	0.462	1.166
4D	67	68	71	66	22	16	52	37	38	50	15	22	0.519	0.481	1.079
5A	22	23	18	28	9	6	11	12	8	21	4	14	0.517	0.483	1.071
5C	46	41	49	42	22	6	30	17	18	28	13	10	0.553	0.447	1.236
5D	57	59	52	34	19	8	41	29	21	46	14	24	0.500	0.500	1.000
6A	33	20	30	28	14	9	13	14	13	29	5	10	0.509	0.491	1.037
6C	38	37	42	55	15	7	34	21	15	31	10	12	0.543	0.457	1.186
6D	17	29	22	16	4	1	10	10	15	16	6	7	0.549	0.451	1.217
7A	36	36	43	34	13	2	26	14	12	26	8	23	0.546	0.454	1.202
7C	39	38	33	32	14	3	23	21	18	15	6	13	0.557	0.443	1.257
7D	66	65	62	60	32	12	46	23	36	44	17	30	0.513	0.487	1.054
Unknown	161	127	138	133	57	32	107	63	64	115	34	63	0.511	0.489	1.045

As a result of the applied raw data filtering parameters, the PIC values ranged from 0.02 to 0.50 with a mean of 0.130 and a median of 0.081 (Figure 1). The mean PIC values in the homoeologous genomes did not differ significantly. In sub-genome A, the highest mean PIC value was observed for chromosome 5A (0.172), and the lowest for 7A (0.092). In the C sub-genome, the highest average PIC was observed for chromosome 1C (0.169), and the lowest for 7C (0.096). In the D sub-genome, the average PIC had a maximum for chromosome 1D (0.152) and a minimum for 4D (0.111). Of the analyzed SNPs, 36% had a PIC not exceeding 0.05, and only about 5% had a PIC above 0.4 (Figure 2).

## 2.2. Genetic Diversity

The average heterozygosity ( $H_o$ ) in the studied set, which, for the studied material, reflects the heterogeneity of accessions, was very low at 0.10. The proportion of heterozygous loci in each sub-genome showed no significant statistical differences. In sub-genome A, it ranged from 0.063 (4A) to 0.170 (5A); in sub-genome C, from 0.057 (7C) to 0.115 (1C); and in sub-genome D, from 0.097 (7D) to 0.137 (6D). There were statistically significant differences in the levels of the mean heterogeneity of the groups studied. The maximum  $H_o$  value was observed in the POB group (0.109), and the minimum was in the P group (0.075), representing modern Polish cultivars.



**Figure 2.** Summary of coefficients for 487 accessions of *A. sativa*; (a) polymorphic information content (PIC); (b) diversity coefficients: heterogeneity (Ho) and expected heterozygosity (He), inbreeding factor (F) and allelic richness (AR); (c) PIC by chromosome; and (d) heterogeneity by chromosome.

A detailed analysis of the heterogeneity within the groups, i.e., at the chromosome level, showed that the maximum Ho in foreign cultivars (F) and breeding materials from Małopolska Plant Breeding Ltd. (POB), Strzelce Plant Breeding Ltd. (STH), and Danko

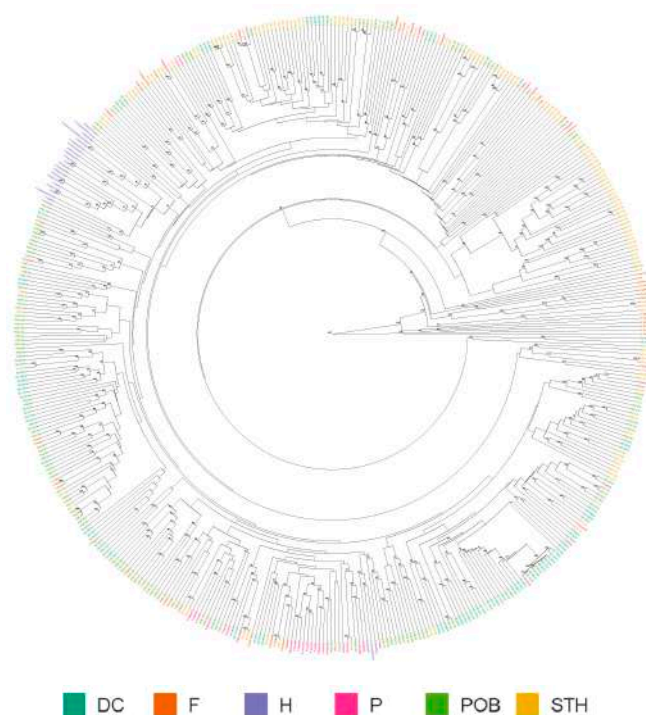
Plant Breeding Ltd. (DC) occurred on chromosome 5A, and in the modern Polish (P) and historic (H) cultivars, on 6A. In contrast, the most homogeneous loci were found on chromosomes 7C (the DC, F, H, and STH groups) and 4A (the P and POB groups). For nearly every chromosome, there was a group of outlier loci that had a very high level of heterogeneity.

The mean value of the inbreeding coefficient  $F$  in the study set was 0.75. It was the highest in the P group and the lowest in the POB group, and the difference was statistically significant. Allelic richness ranged from 1.49 (H) to 1.95 (STH) with a mean of 1.78. The differences in the levels of this coefficient among the groups were statistically significant.

The analysis of the heterogeneity levels of accessions in the studied groups showed differences: DC (0.055–0.236), F (0.055–0.346), H (0.061–0.140), P (0.055–0.185), POB (0.058–0.235), and STH (0.055–0.365). In general, among the accessions tested, DC57/14 had the highest homogeneity, while STH\_37 had the highest internal heterogeneity (Figure S1).

### 2.3. Genetic Relationship

A dendrogram of 487 *A. sativa* cultivars and breeding lines based on Provesti's distance grouped the analyzed genotypes into 15 clusters. Within the largest cluster, two subgroups were distinguished. The first subgroup was composed of 435 objects, all Polish (41) and historic cultivars (26), 30 out of 43 foreign cultivars, 134 out of 136 POB lines, 94 out of 96 DC lines, and 109 out of 145 STH lines (Figure 3). The second subgroup contained 33 STH lines and one POB oat-breeding line (POB 20). Two DC lines (DC64/14 and DC65/14) and one STH (STH 121) line built another cluster. The remaining foreign cultivars, four STH lines (STH 35, STH 42, STH 43, and STH 54), and the POB 122 line formed separate clusters. The most distant were Kanota, Quoll, Poto-roo, Wallaroo, Ugorny, Ogle, STH 42, STH 43, and STH 54.

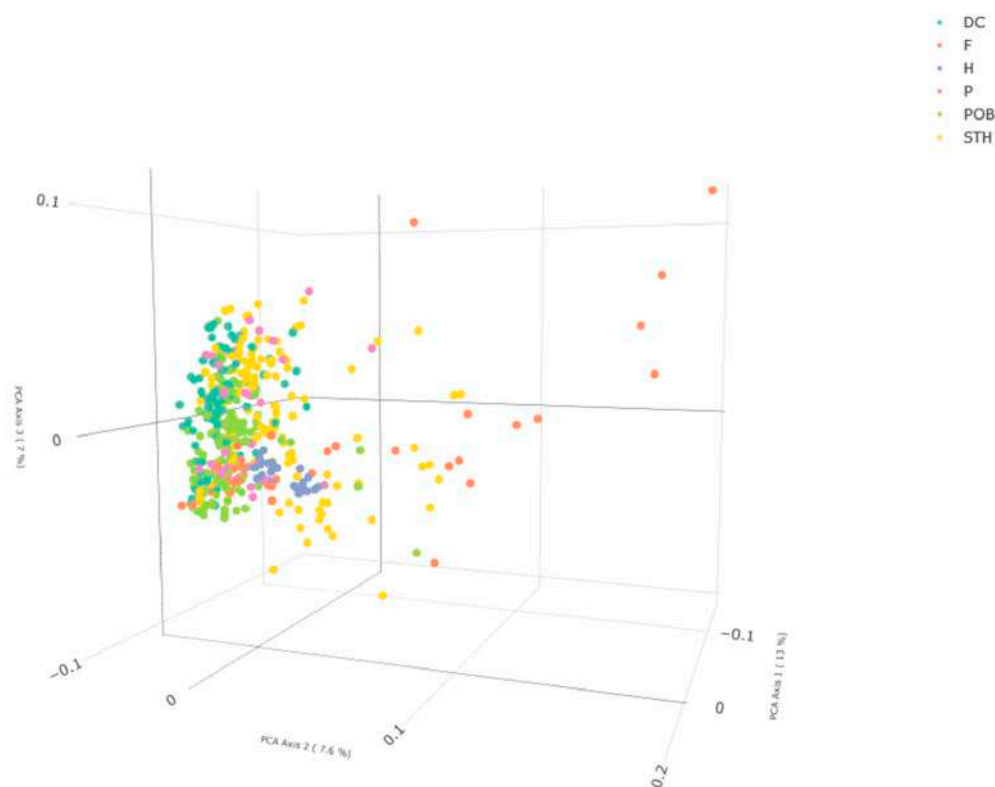


**Figure 3.** Hierarchical circular clustering dendrogram of 487 *A. sativa* genotypes based on 7411 SNPs generated using the UPGMA method and Provesti's distance matrix with 1000 bootstraps. Different colors indicate different genotype groups: Historic cultivars (H), foreign cultivars (F), and breeding lines from the ongoing programs of breeding at Małopolska Plant Breeding Ltd. (POB), Strzelce Plant Breeding Ltd. (STH), and Danko Plant Breeding Ltd. (DC).

To visualize the grouping pattern and provide a graphical representation of the relationships among cultivars, principal coordinate analysis (PCoA) was conducted. PCoA

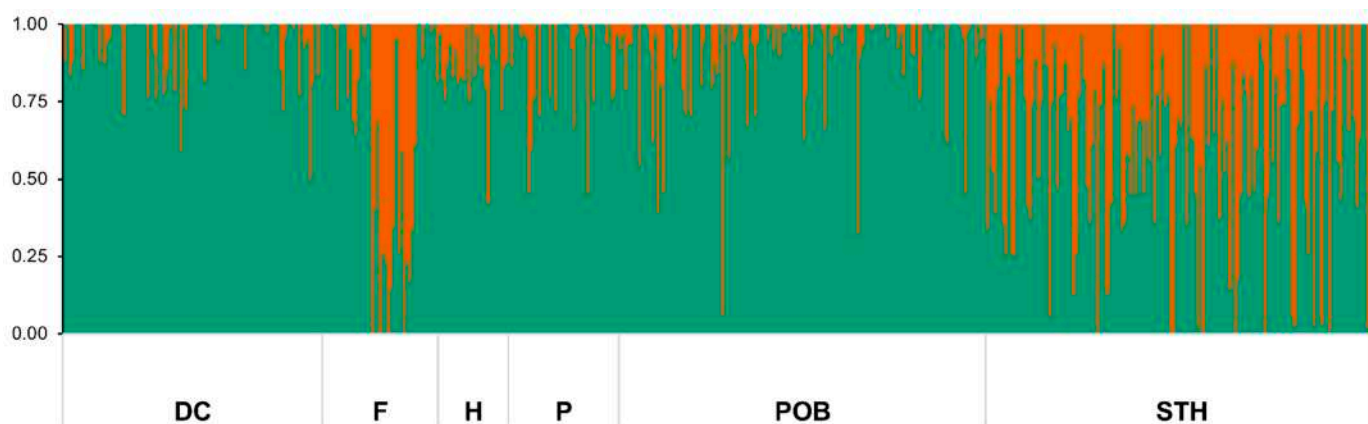


supplemented the above data with congruent results, which confirms the cluster analysis (Figure 4). The first three coordinates explained approximately 13%, 7.6%, and 7% of the total variance, respectively. The analysis showed that most of the examined cultivars and materials from the Polish breeding programs formed a central cluster in the 3D space. A significant part of the STH accessions, some foreign F cultivars, and a single POB accession stood out from this grouping. A detailed analysis of the groups made it possible to identify more subtle differences. Within the historical cultivars (H), two groups consisting of 12 and 13 accessions were clearly visible. It can also be seen that cultivar Borek was significantly separated from these two groups and located in the space occupied by the STH accessions. Contemporary Polish cultivars (P) formed a distinct cluster of about 25 accessions, which was directly adjacent to one of the clusters of historical cultivars. The remaining ones formed a loose cloud slightly away from the center of the analyzed space in the direction of accession ‘Swan\_mut’, which was used in the breeding programs in which these cultivars were developed. Foreign cultivars were also largely located in the central part of the 3D space. A total of 13 cultivars were separated from this cluster and formed a very loose cloud that moved away from the central cluster along increasing PCA2 and PCA3 values. All of these cultivars were from breeding programs conducted outside of Europe. The POB and DC accessions occupied a very similar space to the Polish contemporary cultivars. The STH accessions showed the greatest diversity among the analyzed Polish breeding materials. Only a small group, i.e., about 15 accessions were located in the immediate vicinity of historical cultivars. The remaining accessions were significantly displaced from the central cluster, and this displacement ran in relation to PCA1 (in the descending direction) and PCA3 (in both directions). Thus, this cloud was separated from that formed by foreign cultivars (F).



**Figure 4.** Three-dimensional plot of the principal coordinate analysis results for DArTseq data of 487 *A. sativa* accessions. Results in the first three coordinates' system. Each point denotes one tested accession. RouTable 3D figure can be found in the Supplementary Materials (Figure S2). DC—materials from DANKO Plant Breeding Ltd.; F—foreign modern cultivars; H—historic cultivars; P—Polish modern cultivars; POB—materials from Małopolska Plant Breeding Ltd.; and STH—materials from Strzelce Plant Breeding Ltd.

The Bayesian model approach implemented in STRUCTURE 2.3.4 software was used for population structure analysis. When all the genotypes were analyzed, the  $\Delta K$  peak was the highest for  $K = 2$ , supporting the presence of two distinct, major gene pools at a ratio of 80% to 20%. The  $\Delta K$  value of 3791 indicates that these two detected pools had significant genetic distinctiveness. The first major gene pool had the largest presence in the DC, H, P, and POB genotype groups. The second major gene pool was the strongest in F and STH (Figure 5). Using the same admixture threshold as in an earlier study by Koroluk et al. [13], i.e., 0.8, about 30% of the accessions studied here represented admixed forms.



**Figure 5.** The results of genetic structure analysis using STRUCTURE 2.3.4 software [24] for 487 *A. sativa* accessions based on DArTseq-derived SNPs data with  $K = 2$  based on ad hoc measure  $\Delta K$  [25,26], where  $K$  is the number of ad hoc clusters; each vertical bar represents one accession. The length of the colored segment shows the estimated proportion of the membership of each gene pool in the cultivar genetic makeup. DC—materials from DANKO Plant Breeding Ltd.; F—foreign modern cultivars; H—historic cultivars; P—Polish modern cultivars; POB—materials from Małopolska Plant Breeding Ltd.; and STH—materials from Strzelce Plant Breeding Ltd.

To identify more subtle differences in the population structure of the studied breeding materials and cultivars, STRUCTURE analysis was performed for each group separately. The results show that two gene pools were also separated for the foreign cultivar (F) group (Figure S3). The first pool included 27, and the second pool included 4 cultivars, while 12 cultivars were considered to be admixed. In the overall population structure of this group, the first gene pool accounted for 75% and the second for 25%. It should be noted here that the second gene pool was associated with cultivars from breeding programs conducted outside of the European continent, i.e., in Australia and North America.

A correlation analysis showed that the distribution in this group highly mirrored that described for the entire set of accessions studied here (0.979;  $p < 0.0001$ ). Thus, the second major gene pool described in the genetic structure of the 487 accessions was related to sources of variation used in breeding programs conducted outside of Europe. The secondary structure of this group indicates the presence of as many as seven gene pools with the following proportions: 66%, 11%, 8%, 4%, 4%, 4%, and 3%.

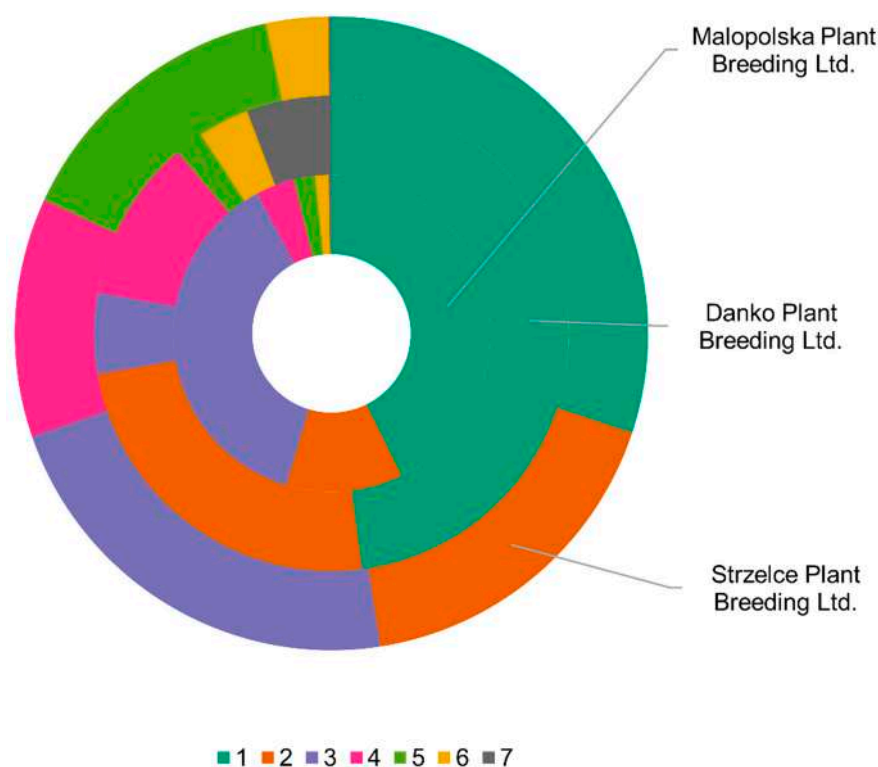
It is noteworthy that the cultivars bred in Europe still represented the first gene pool. The contribution of the other gene pools in these cultivars was small. Only the ratio of the fourth pool was in the range of 15–20% in cultivars bred in the United Kingdom and France. For Canadian cultivars, the second gene pool was typical, and for Australian cultivars, the third. It is evident that the flow of breeding material among programs on different continents was significantly lower than that among European countries. For US cultivars, the influence of European and Canadian components could be seen.

In the group of Polish contemporary cultivars (P), the proportions of three gene pools were evident with 55%, 26%, and 18% (Figure S4). A total of 16 cultivars represented the first gene pool, three represented the second, and one represented the third. In addition, 51% of the cultivars contained two or three gene pools. Compared to the two major gene

pools present in all accessions studied, the first gene pool was strongly correlated with the first major gene pool (0.645;  $p < 0.001$ ), and the third was correlated with the second major gene pool (0.925;  $p < 0.0001$ ).

This indicates that the pedigrees of Polish contemporary cultivars included components from breeding programs conducted outside of Europe. This result is, therefore, consistent with the picture obtained from projecting the results of the first three main PCoA coordinates. The secondary genetic structure of this group indicates the presence of seven gene pools with the following proportions: 40%, 19%, 18%, 10%, 7%, 3%, and 3%.

Only five cultivars were classified as representing a single gene pool, and they all represented the first gene pool. The analysis of cultivars from the three Polish breeding companies showed differences in the percentages of individual gene pools (Figure 6). While the first gene pool was best represented in all three companies and made up 30% to 48%, only at Danko Plant Breeding Ltd. were all seven gene pools detected. At Malopolska Plant Breeding Ltd., the components used for crossbreeding represented the first three gene pools. On the other hand, Strzelce Plant Breeding Ltd. substantially used components from five gene pools.



**Figure 6.** Proportions of seven gene pools in Polish modern cultivars depending on breeding company based on population structure analysis for *A. sativa* DArTseq SNPs.

The primary genetic structure of the historical cultivars (H) showed the presence of three gene pools whose shares were 43%, 29%, and 28% (Figure S5). Five cultivars were assigned to the first, four to the second, and two to the third gene pool. The remaining 15 cultivars showed mixed ancestry. Pools 2 and 3 only moderately corresponded with the major pools 1 and 2 determined for all accessions (0.530;  $p = 0.005$  and 0.573;  $p = 0.002$ , respectively). The second-order structure determined for  $k = 6$  showed that there was no change in the pre-determined first and second gene pools. The four new gene pools were actually derived only from the third gene pool (11%, 10%, 5%, and 5%). One cultivar was assigned to each of the three gene pools, and the fifth gene pool was only an admixture.

For the DC breeding lines, the primary structure was also formed by two gene pools (Figure S6). Of the lines, 42.7% were classified into the first and 11.5% into the second gene pool, and the remaining 45.8% were admixed forms. Although the first-order structure is

quite strong, it should be kept in mind that the two gene pools distinguished in this group did not correspond to the major pools determined during the analysis of 487 accessions. This result was confirmed by the correlation analysis (0.192;  $p = 0.061$ ). The analysis also showed the presence of a secondary population structure for  $k = 3$ ; however, the probabilities of its occurrence were significantly lower. After separating the three gene pools, only 38 accessions were considered pure (25, 11, and 2 for gene pools 1, 2, and 3, respectively), and as many as 58 accessions, i.e., 60% were admixed. The proportions of individual gene pools in the studied materials were 56%, 31%, and 13%. However, the correlation analysis showed that the third segregated gene pool largely corresponded to the second major gene pool.

For the STH group of breeding materials, we also found that two major gene pools most likely formed its diversity and genetic structure (Figure S7). In this case, the correlation analysis showed that the two identified pools of the first-order structure significantly corresponded to the major pools separated in the analysis of all accessions (0.828;  $p < 0.0001$ ). Of the 145 accessions examined, as many as 74% were assigned to the first gene pool, and only 9% to the second one. In contrast, 17% of the accessions were considered to be admixed. Due to the very strong first-order structure ( $\Delta K = 4237.6$ ), the probability of a lower-order structure in this group was quite low, i.e.,  $\Delta K = 22.9$  for  $k5$ . With such parameters applied, only 23 accessions were classified as representing the first gene pool. Six accessions each represented the second and third gene pools, and only two for the fifth gene pool. The fourth gene pool occurred only as an admixture, and its contribution to the studied group of accessions was about 9%. The participation values of the other gene pools in this group of breeding materials were 41%, 30%, 13%, and 6% for the first, second, third, and fifth gene pools, respectively.

Regarding the third group of contemporary Polish breeding materials, i.e., POB, the algorithm implemented in the STRUCTURE 2.3.4 software showed that three gene pools were most likely to be involved in this group (Figure S8). Totals of 69, 9, and 3 accessions were assigned to these three gene pools, while 55, i.e., 40.4%, were considered to be admixed. The contributions of the three pools to the overall genetic makeups of the groups were 69%, 20%, and 11%, respectively. The correlation analysis showed a significant relationship between this structure and the two major pools determined in the analysis of all accessions.

The third POB gene pool significantly reflected the second major gene pool (0.976;  $p < 0.0001$ ), and the other two POB gene pools were contained within the first major gene pool determined within 487 accessions. A secondary structure in this group singling out four gene pools was highly probable. There were 32, 9, 7, and 3 accessions classified as pure forms to the respective gene pools, and as many as 62.5% of the accessions were considered to be admixed in this case. Here, pools 1 and 2 were separated from the first gene pool in the primary structure of this group, and pools 3 and 4 almost completely corresponded to the previously described pools 2 and 3.

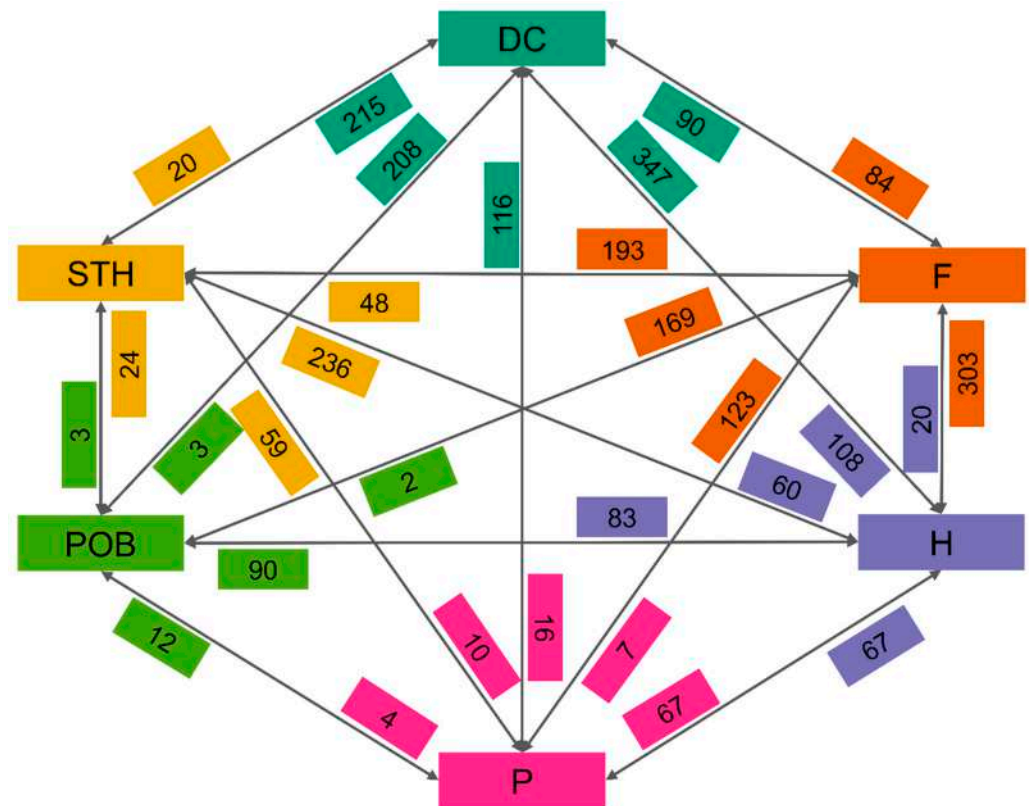
#### 2.4. Lost and Gained Alleles

An assessment of the proportions of unique loci in the studied groups was performed. The analysis was performed according to the method of Dziurdziak et al. (2022), i.e., only loci that were quite common in one of the groups were considered (i.e., only loci with a frequency higher than 0.25, and at the same time, in the compared second group with a frequency lower than 0.05). This analysis showed that the individual groups differed significantly in terms of unique alleles. The smallest differences occurred when comparing Polish modern cultivars and POB breeding materials from the Małopolska Plant Breeding Ltd.

The two groups differed by only 16 alleles, which indicates a lack of inflow of new alleles into the gene pool used by the breeders working there and a focus on handling the genetic variability present in the domestic market (Figure 7). The other two breeding companies showed a higher number of new alleles absent in contemporary Polish cultivars, i.e., 59 for STH and 116 for DC. On the other hand, there were between 84 and 169 alleles in the foreign cultivars that were not present in contemporary Polish breeding materials. At



the same time, the gene pool of the DC materials contained 90 alleles absent in the foreign cultivars. For STH, this amounted to as few as 48 alleles, and POB had only two alleles that were unique compared to the foreign cultivars.

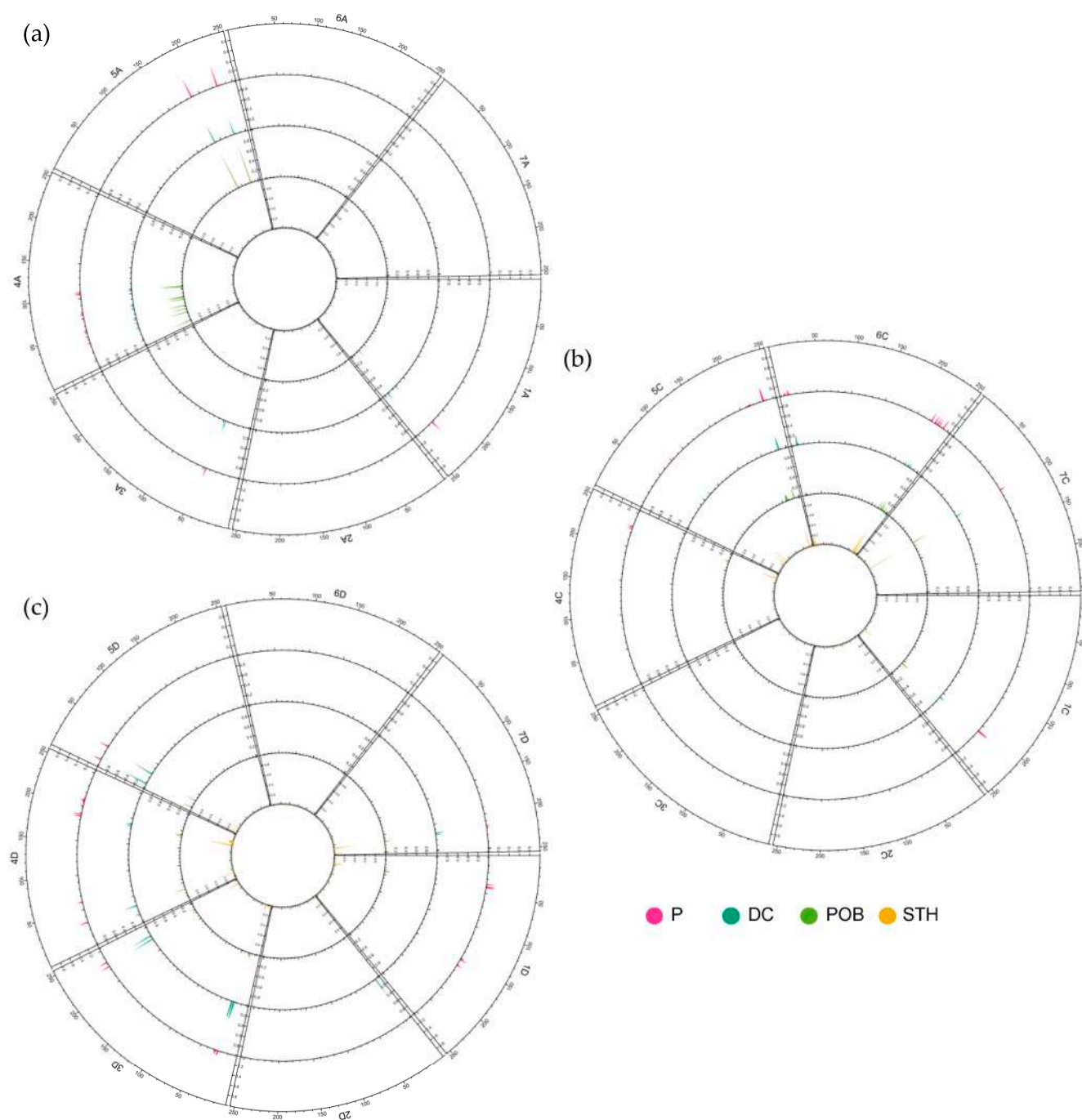


**Figure 7.** Summary of changes in the number of unique alleles during more than 120 years of breeding and cultivation of oats in Poland. Colors indicate groups, and arrows connect compared periods. DC—materials from DANKO Plant Breeding Ltd.; F—foreign modern cultivars; H—historic cultivars; P—Polish modern cultivars; POB—materials from Małopolska Plant Breeding Ltd.; and STH—materials from Strzelce Plant Breeding Ltd.

Comparing historical cultivars and modern Polish cultivars, it can be seen that, during the breeding process of over 100 years, 67 alleles from the old gene pool were lost and replaced by 67 new alleles. However, it is interesting to note that, while as many as 303 alleles present in the modern foreign cultivars were not present in the historical cultivars, only 20 alleles unique to the historical cultivars were not retained in the foreign cultivars. Current breeding programs have introduced between 90 (POB) and 347 (DC) new alleles into the gene pool relative to cultivars from the early days of breeding. In contrast, there were 12 (POB) to 116 (DC) new alleles compared to the modern cultivars. At the same time, the modern breeding materials did not contain 60 (STH) to 108 (DC) alleles present in the historical cultivars.

### 2.5. Swan Mutant Case in Polish Breeding

The pedigree analysis of Polish modern varieties showed that, in breeding programs, Swan mut appears quite often as one of the components. A total of 142 alleles unique to Swan mut accessions were identified. Loci containing these alleles were present in all three homoeologous sub-genomes; however, their abundances varied (Figure 8). The largest number of unique loci was detected in the D sub-genome (40.8%). Furthermore, 25.4% were in the C sub-genome, and 18.3% were in the A sub-genome. For 15.5% of the unique loci, the chromosomal location was unknown.

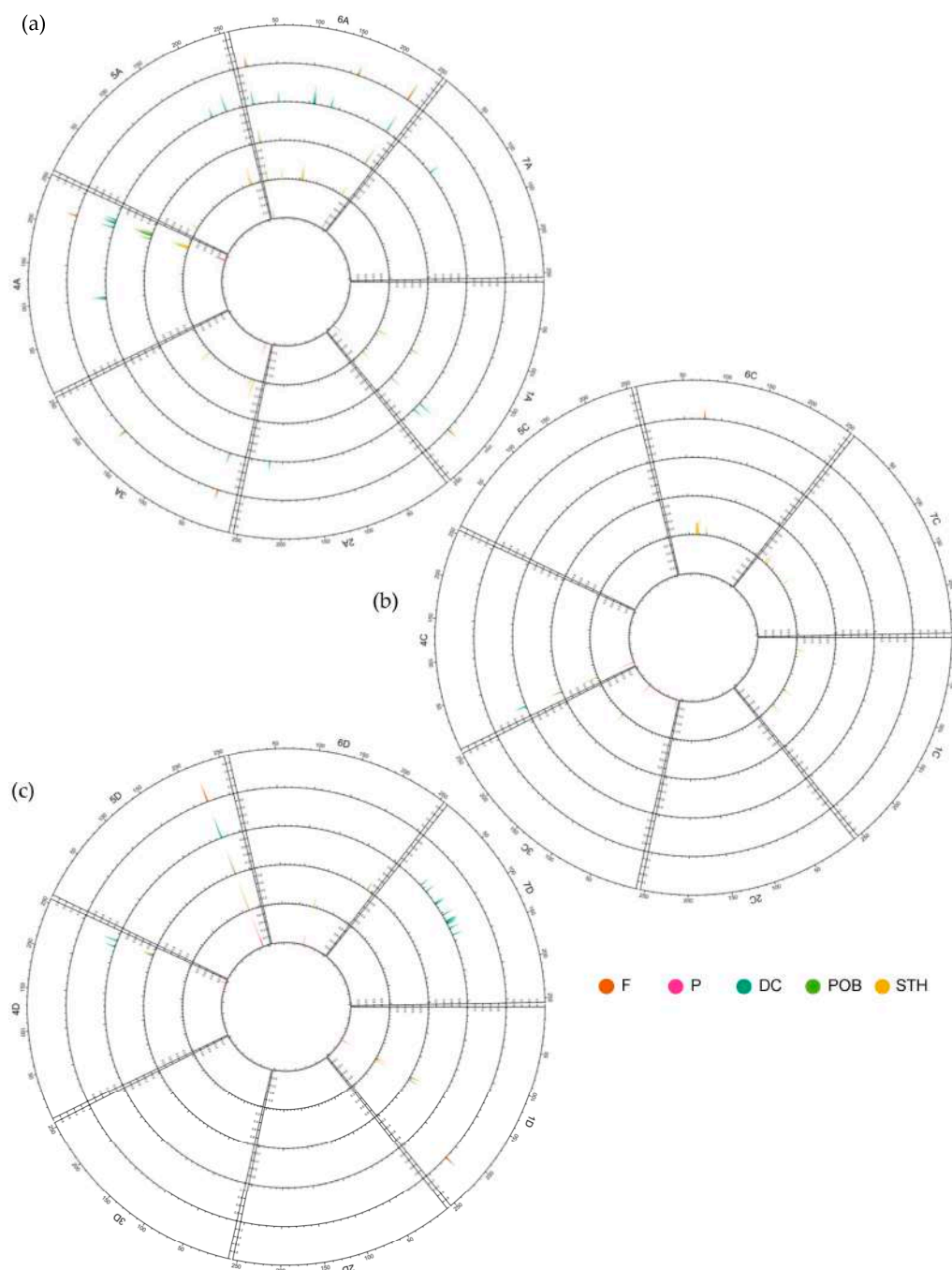


**Figure 8.** Loci containing alleles unique to Swan mut present in Polish *A. sativa* cultivars and breeding materials; (a) A sub-genome; (b) C sub-genome; and (c) D sub-genome. DC—materials from DANKO Plant Breeding Ltd.; P—Polish modern cultivars; POB—materials from Małopolska Plant Breeding Ltd.; and STH—materials from Strzelce Plant Breeding Ltd.

From a chromosome perspective, the largest number of loci was found on chromosome 4D (34 loci). Four chromosomes, i.e., 2A, 3C, 6A, and 6D, did not carry any loci containing a unique allele. The analysis showed that, within Polish breeding materials and cultivars, all these alleles occur; however, their numbers and frequencies varied. The highest number of unique alleles was found in STH breeding materials, and the lowest in POB. The mean frequency of unique alleles was also the highest in STH and significantly different ( $p < 0.0001$ ) from the mean frequencies in P (0.084) and POB (0.075). The distribution of unique alleles along the chromosomes showed that they occur in clusters.

## 2.6. Targeted Selection

To determine the region in which breeding-related changes have occurred from the origins in Poland to the present day, a pairwise  $F_{ST}$  coefficient analysis was performed for the historical cultivar group as well as for all contemporary groups of breeding materials and cultivars (Figure 9). This analysis showed that, relative to the historical cultivars, most changes occurred in the A sub-genome, especially on chromosome 6A. Significantly, the regions where changes occurred were distributed along the entire chromosome—not only at the ends.



**Figure 9.** Circular overview of *A. sativa* chromosomes with an indication of the  $F_{ST}$  values for historic cultivars vs. other groups. (a) A genome chromosomes, (b) C genome chromosomes, (c) D genome chromosomes. DC—materials from DANKO Plant Breeding Ltd.; F—foreign modern cultivars; P—Polish modern cultivars; POB—materials from Małopolska Plant Breeding Ltd.; and STH—materials from Strzelce Plant Breeding Ltd.

Breeding programs have made almost no changes to chromosomes 2A and 7A. Only the DC materials showed one region each on these two chromosomes where there was a clear change in the allele frequency. At the ends of chromosomes 1A and 4A, there were regions where all the tested groups showed significant, targeted changes from the historical cultivars. On the other hand, in the case of 3A, the allele frequency did not differ significantly between the POB group and the historical cultivars.

In the C sub-genome, targeted changes were definitely the rarest. All groups of domestic breeding materials showed the presence of changes at the end of chromosome 4C. Interestingly, this change was not observed in the group of modern Polish cultivars. The STH materials showed the most changes within this sub-genome in relation to the historical cultivars. In the group of foreign cultivars, there were virtually no regions where directed selection occurred relative to the historical cultivars.

In the D sub-genome, a clearly targeted change occurred at the end of chromosome 5D. In contrast, on chromosomes 2D and 3D, breeding programs lasting more than 100 years did not introduce any significant changes. In the group of DC materials bred by Danko, the occurrence of very significant changes in the allele frequency was observed, and interestingly, these changes tended to affect the central part of the chromosome. On chromosome 1D, it was observed that materials from the Polish contemporary breeding programs showed a different region of directed changes than the foreign cultivars.

### 2.7. Core Collection

The minimum group of cultivars representing the full diversity was identified using an advanced maximization strategy through a modified heuristic algorithm (A\*), which is complete and optimal. Out of the studied 487 accessions, a set of 289 that should form the core collection was extracted. The core collection included 27 Polish modern cultivars, 35 foreign cultivars, 15 historical cultivars, 54 DC, 81 POB, and 76 STH materials. The cultivars are marked in Table S1.

## 3. Discussion

In this study, DArTseq technology was applied to evaluate 487 oat accessions, including breeding lines from the ongoing programs of the three Polish breeding companies along with modern and historical Polish and foreign cultivars. Thus far, in the *Avena* studies, DArTseq has been successfully used for molecular marker identification, mainly for the detection of markers linked to disease resistance [27–29]. In oat, as in other polyploid species, due to the presence of homoeologous sub-genomes, genotyping is complicated and requires marker filtering to eliminate those that are confounded by multiple loci [30].

In the analyzed panel, we selected 32,253 markers comprising 7411 high-quality, non-redundant SNPs. The markers were distributed among three sub-genomes (A, C, and D) with the greatest number of markers in sub-genome D (2646). An uneven distribution of markers among sub-genomes has been previously reported, e.g., in wheat [18]; however, in our study, the observed disproportions were much lower. Some wheat studies have indicated that the distribution of identified SNPs may be influenced by differences in the sub-genomes because a smaller proportion of markers was mapped to the “youngest” sub-genome D compared to sub-genomes A and B [31–34].

In our study, we observed a low or complete absence of SNPs in the centromeric and pericentromeric regions and high frequency in the distal parts of chromosomes. The DArTseq library was based on the *PstI/TaqI* genome complexity reduction similar to the DArT microarray [35,36]. Other marker technologies based on methylation-sensitive restriction enzymes have shown the same predisposition of clustering in various regions with little or no coverage in other regions [37,38]. Marker distribution may reflect the overall protein-coding gene dispersal. This has been observed in studies on barley [20,39], wheat [40,41], and, to a lesser extent, rice [42,43]. In these species, the levels of recombination and marker frequency were suppressed near the centromere and increased in telomeric, gene-rich, euchromatic chromosome regions.



In the studied *Avena* set, all possible SNP types were detected with slightly more transition-type (53.05%) than transversion-type (46.95%) mutations. The excess of transition SNPs has also been observed in previous studies, e.g., for barley, wheat, rice, cowpea, and common bean [44–48], and has occurred due to the higher probability of preserving protein function and structure [47,49].

Overall, the most frequent nucleotide change was A > G, followed by C > T, which is consistent with the above-cited research and may be connected with the frequency of methylation/demethylation-related mutations. However, in the D sub-genome, the most abundant SNP was G > A. In the case of transversions, the most abundant SNP was C > G, except for the C sub-genome, where the most frequent change was G > C—yet, its frequency was comparable to C > G. Similar results have been obtained by DArTseq and GBS for barley [20,45] and wheat [45].

The heterozygosity in the studied *Avena* population was very low with a mean value of 0.10. Similar values, typical for self-pollinated species, were obtained in the genetic structure study of the 509 wheat accessions representing registered varieties and advanced breeding lines using the GBS approach [18]. Advanced breeding materials should be highly homozygotic, so as expected, the minimum  $H_o$  value was observed in the group of Polish modern cultivars (P). This confirms the genetic uniformity of individuals within a cultivar resulting from the breeding process.

The analyzed loci were localized on the reference *A. sativa* genome, allowing for tracking if changes in the genetic diversity were related to the sub-genome or individual chromosomes. In general, the proportion of heterozygous loci in each sub-genome was relatively equal. At the chromosome level, heterogeneity was dependent on the analyzed group and was the highest on 5A and 6A and the lowest on 7C and 4A, which represented regions of low variation. It should be noted that, for virtually every chromosome, there was a group of outlier loci that had a very high level of heterogeneity.

In previous research conducted on large panels of oat lines based on DArT or GBS markers, a weak population structure within the analyzed accessions has been observed [30,50–58]. Authors have claimed that oat, despite having four recognizable types (naked, covered, spring, and winter), has not shown an obvious structure of a population. In our material set, the majority of accessions were covered-seeded spring oat, as Polish breeding is based on this type of line due to the climatic conditions of the country and market requirements.

Naked or winter lines were added to the evaluated set within foreign cultivars, and both dendrogram and PCoA analysis showed that some foreign cultivars stood out from the grouping. Additionally, these analyses indicate a significant part of Strzelce Plant Breeding lines (STH) and single Małopolska Plant Breeding lines (POB) as distinct. Similarly, the STRUCTURE analysis showed that STH accessions had the greatest diversity among the analyzed Polish breeding materials. The results also indicate that the pedigrees of Polish contemporary cultivars included components from breeding programs conducted outside of Europe, which indicates the thriving development of Polish breeding and confirms the systematic inflow of breeding materials.

However, the data show that the exchange of breeding materials among programs on different continents was significantly lower than that among European countries. In the past, high yield was the main direction of oat breeding due to its main usage in livestock feeding. Currently, many studies have confirmed a wide range of possible oat utilization in the food, pharmaceutical, cosmetic, and chemical industries, and hence the new oat breeding directions may be reflected in the resulting groups within the analyzed breeding lines when the analysis is performed for each group separately.

Modern oat breeding is based on constant selection from the progeny of crosses among related, current, or recent cultivars. With time, heterogeneous landraces have been replaced by varieties that are mostly homogeneous populations [14]. This allowed for obtaining high yield and better adaptation to farming conditions; however, the risk of a significant narrowing of the breeding materials' gene pools emerged. Purposeful breeding activities

may cause 'genetic erosion' [59], manifesting in a dramatic shift in the population structure or allele frequencies within a species, as exemplified in wheat by the Green Revolution of the 1960s and 1970s [60]. In our study, the obtained results indicate that no erosion of genetic diversity was observed within the Polish native oat gene pool.

During the 120 year oat-breeding process, only 67 alleles from the old gene pool were lost and replaced by 67 new alleles, whereas, in Polish spring barley, the losses concern about 600 alleles that are preserved only due to the activity of the gene bank [20]. Interestingly, a significant part of the variability of old oat varieties has been preserved in foreign cultivars. It is worth noting that the current oat breeding programs have introduced 673 new alleles into the gene pool relative to historical cultivars. In contrast, there were only 187 new alleles in the contemporary breeding materials compared to the modern cultivars.

A detailed analysis of changes in the allele frequency showed that POB breeding is based on local contemporary materials, and limited cross-breeding with new sources of variation is manifested in the absence of alleles unique to Polish modern cultivars. Although PCoA and STRUCTURE showed significant differentiation in the STH materials, there were fewer unique alleles in relation to the modern varieties in comparison to DC. Most likely, STH started introducing foreign sources of variability earlier than DC, and therefore modern varieties already contain new variability. The allelic richness and large dispersion of the STH genotypes on the PCoA chart may indicate that the STH breeding process also uses new sources of diversity, and new alleles are not yet fixed in the population of breeding materials.

The pedigree analysis of Polish modern varieties, especially those derived from the Strzelce Plant breeding station, showed that Swan mut was often used for crossing. Swan is an Australian dual-purpose (hay and grain) spring cultivar that was released in 1967 and derived from a cross between Kent (USA) and Ballidu (Western Australia) [61]. It is characterized as being very tall and having medium maturity, high quality, plump grain, a high groat content, excellent hectoliter weight, good digestibility, and a lower protein content in hay.

In Polish breeding, the single plant selected from the Swan cultivar called 'mutant' with very promising panicle architecture parameters and thousand-grain weight, was used for crossing at the Strzelce breeding company (Z. Nita, personal communication). The first Polish cultivar with Swan mut in its pedigree, which was registered in 1993 and withdrawn from the register 27 years later, was Sławko [62]. This cultivar was highly appreciated by the farmers for its stress tolerance [63] and resilience to environmental changes. Swan mut appeared in the pedigrees of numerous Polish cultivars released after 2000, for example, among others, in the best Polish cultivar Bingo, which is well-known in the European market.

In our studies, 142 alleles unique to Swan mut were identified with the largest number detected in the D sub-genome (40.8%), out of which the largest number of loci (34) was located on chromosome 4D. The distribution of unique alleles along the chromosomes showed that they occur in clusters. De Koeyer et al. [64] and Tinker et al. [65] localized QTLs on chromosome 4D that are responsible for the grain yield, 1000 kernel weight, test weight, lodging severity, plumpness of kernels, and milling yield. On the 4D chromosome, QTLs connected with the flowering time, photoperiod, and vernalization response have also been found [66,67]. All these features are agronomically important, and novel alleles that condition more favorable trait values could be subjected to targeted selection in the breeding process.

$F_{ST}$  analysis enabled the identification of regions in which breeding-related changes have occurred. Different alleles were fixed in the contemporary breeding materials, and cultivars were compared to the obsolete cultivars. This analysis revealed that, relative to the historical cultivars, targeted changes were the rarest in the C sub-genome. Oat genomes, as a consequence of frequent genomic rearrangements, have resulted from a mosaic-like architecture [68,69]. As a result of translocation events in oat, the sub-genomes exhibit unbalanced gene numbers. An examination of the oat chromosomes revealed the lowest

gene counts in the C sub-genome as a consequence of the translocations of gene-rich regions from the C to the A and D sub-genomes [70,71]. Examples of the lack of genes on the C sub-genome are grain proteins, avenins, and globulins—encoding genes identified only on the chromosomes of sub-genomes A (1A, 4A, and 7A) and D (1D, 3D, and 4D) [70].

Intriguingly, the assembly results show that due to the abundance of repetitive sequences, sub-genome C is about 20% larger than A and D [71]. Moreover, the study of sub-genomic gene expression differences revealed the bias in homoeologous gene usage and pointed out the C sub-genome genes as slightly less expressed than those derived from the D or A sub-genomes [70,71]. An examination of the non-synonymous-to-synonymous substitution rate ratios showed that the purifying selection of the C sub-genome was less intense than that of the other two sub-genomes [71]. Nevertheless, some QTLs for agronomically important traits were identified on sub-genome C, such as the oil content (4C), husk percentage (6C), and loci related to local adaptation (1C and 3C) [65,67].

The most changes within oat genomes in relation to the historical cultivars occurred in the A sub-genome with emphasis on chromosome 6A, where changes are distributed along the entire chromosome—not only at the ends. Chromosome 6A contains major QTLs and candidate genes for oil content (ACC.416),  $\beta$ -glucan (CslF9 and CslF11), and the 1000 kernel weight [65,72–75]. Our studies revealed that breeding programs lasting more than 100 years have made almost no changes on chromosomes 2A and 7A, despite previous surveys locating on these chromosomes the loci influencing the groat percentage (2A) and flowering time (7A) [65,76].

A clear change in the allele frequency on these two chromosomes was visible only in the DC materials. All the tested groups showed significant targeted changes in comparison to the historical cultivars at the ends of chromosomes 1A and 4A. At the end of chromosome 1A, the QTLs for the groat percentage and milling yield were identified, whereas, at the end of 4A, major loci related to the heading time, plant height, and lodging severity were found [65,77,78]. A clearly targeted change occurred at the end of chromosome 5D, on which QTLs for the oil content in grain were previously discovered [75].

Contrarily, on chromosomes 2D and 3D, the breeding programs did not introduce any significant changes. On the 3D chromosome, no QTL was found in previous studies; however, on the 2D chromosome, loci affecting the 1000 kernel weight, lodging severity, and groat percentage were established [65]. The identification of regions subjected to targeted selection revealed that Polish oat breeding goals were typical for this crop and focused on enhancing the grain yield and quality and improving adaptability.

In our study, using the high-density SNP genotyping data, we identified a core set of cultivars and lines, thereby, capturing the majority of the allelic diversity present in the Polish breeding materials and cultivars. The core collection included a group of 289 cultivars and lines representing the total genomic variation. This set can be used for evaluating traits that are difficult or expensive to score. Particular emphasis should be placed on maintaining these breeding materials and cultivars as germplasm collections in gene banks to facilitate the future use of these genetic resources by scientists and breeders.

## 4. Materials and Methods

### 4.1. Plant Material

The plant material consisted of 487 *A. sativa* accessions (Table S1), of which 41 were Polish modern cultivars (P), 26 were historic cultivars (H), and 43 were foreign cultivars (F) from the collection of the Institute of Genetics, Plant Breeding and Biotechnology, University of Life Sciences in Lublin, Poland and the National Centre for Plant Genetic Resources, Radzików, Poland. The remaining genotypes were breeding lines from the ongoing programs of the largest Polish breeding companies—Małopolska Plant Breeding Ltd. in Polanowice (136 genotypes designated as POB), Strzelce Plant Breeding Ltd. (145 genotypes designated as STH), and Danko Plant Breeding Ltd. (96 genotypes designated as DC).

#### 4.2. DNA Extraction and Genotyping

Extraction of the total genomic DNA from the analyzed forms was conducted from the young leaves of 10 seedlings obtained from seeds taken from a single random plant using the DNasy™ Plant Mini Kit (Qiagen®, Hilden, Germany) following the manufacturer's protocol. The quality and quantity of extracted DNA were evaluated spectrophotometrically (NanoDrop2000). An analysis of the DNA's integrity was performed by gel electrophoresis. The concentration of all DNA samples was adjusted to 100 ng  $\mu\text{L}^{-1}$ .

DArTseq™ analysis was performed by Diversity Arrays Technology Pty Ltd. (DART P/L, Canberra, Australia), combining the DArT technique with next-generation sequencing [79]. DNA libraries were generated using genomic complexity reduction technology [16] by the digestion of the DNA samples with PstI and TaqI restriction enzymes (NEB) and ligation with adaptors corresponding to the enzyme overhangs. Only PstI-TaqI fragments were effectively PCR-amplified, followed by sequencing on an Illumina HiSeq 2500.

Sequencing data were processed using proprietary DArT analytical pipelines, providing two types of markers: silicoDART presence/absence variants (PAVs) analogous to microarray DArTs but extracted in silico from sequences obtained from genomic representations, and DArTseq single-nucleotide polymorphisms (SNPs) in fragments present in the representation. The sequences were then BLASTed against a reference genome, *Avena sativa* OT3098 v2, PepsiCo [23] with an expected value (E) <  $10^{-10}$  and a minimum base identity of >95% as blast criteria.

#### 4.3. Data Mining and Analysis

Population structure and diversity analysis were performed by implementing R-4.1.2 [80] in Rstudio (1.4.1106). As a first step, VCF files resulting from the marker calling were subjected to the filtering process by the dartR package [81]. Markers were removed if they were monomorphic, missing  $\geq 5\%$  of calls, had reproducibility (RepAvg) < 1, or if the relative minor allele frequency (MAF) was < 0.01. The matrix was transformed into genind, genpop, genlight, and hierfstat objects and subjected to further analysis in the R packages.

In the next step, the proportion of each mutation type was determined, and basic coefficients, such as the polymorphic information content (PIC), observed ( $H_o$ ) and expected ( $H_e$ ) heterozygosity, and inbreeding factor (F), were calculated [44]. A sliding window method with 500 kb intervals was used to assess the allocation of SNPs, PIC, and  $H_o$  along chromosomes in the three homoeologous sub-genomes. The results were presented as a circular layout as average values for 250 spots per chromosome using the circlize package [82]. The rarefaction method implemented in HP-RARE 1.0 was used to estimate the level of allelic richness (AR) [83]. Wright's  $F_{ST}$  parameter was used to estimate the genome-wide diversity [84]. Analysis of variance (ANOVA) and Tukey's post hoc test were used to verify the significance of the differences.

To assess the hierarchical levels of population structuring, an analysis of molecular variance (AMOVA) was computed among a priori assigned and novel clusters. Clustering was then performed based on the Bayes model for genetic structure analysis implemented in STRUCTURE 2.3.4 software (Pritchard Lab, Stanford University) [24]. To obtain the most probable value of K, a search was performed in the range of 1 to 20 with five independent repetitions per K and within groups of 1–10 with five repetitions per K. For each run, the initial burn-in period was set to 50,000 with 100,000 MCMC (Markov chain Monte Carlo) iterations after burn-in.

For batch file analysis, a LINUX cluster hosted by the Interdisciplinary Center for Mathematical and Computer Modeling at the University of Warsaw was used. The number of clusters was determined by the *posteriori* data probability for a given K and  $\Delta K$  [25], and a full search algorithm of CLUMPAK [26] was used to find the best match of the replicated cluster analysis results. A baseline value of 0.8 was defined as the probability of assigning accessions to the gene pool [13].

An advanced M strategy implemented through a modified heuristic algorithm (A\*) was used to extract the core collection [85].



## 5. Conclusions

Precise genotyping is currently the first step to obtain marker-assisted breeding progress and to increase the efficiency of traditional breeding in crops. Therefore, to achieve genetic gain, it is important to have knowledge regarding the allelic diversity in the available genetic resources. Utilizing modern genomic tools enabled the detailed characterization of 487 cultivars and lines representing over 100 years of Polish breeders' efforts. The performed analyses demonstrated that traces of directed selection are particularly visible on sub-genomes A and D—mainly on chromosome 6A and to a lesser extent on 5D. Notably, targeted changes were the rarest in the C sub-genome.

This study shows that, in over 100 years of breeding in Poland, some alleles have been replaced by new ones; however, only a small number have been lost, and the Polish gene pool has avoided genetic erosion. The study also proves that Polish oat breeding based mainly on traditional breeding methods and focused on improving agronomically important traits, i.e., the grain yield and quality and environmental resilience and adaptability, did not significantly narrow the oat gene pool.

Polish breeders have developed cultivars that are not only competitive in the European market but that also constitute a reservoir of new alleles that were not found in the analyzed foreign materials. Since we performed a comparison of the materials from three independent breeding programs, we can conclude that each of them has developed different breeding materials with different properties. This obtained knowledge is a pre-requisite for further association mapping studies of important agronomic traits.

**Supplementary Materials:** The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/ijms24076547/s1>.

**Author Contributions:** Conceptualization, A.K., E.P.-G., S.S. and M.B.; methodology, A.K. and M.B.; formal analysis, A.K. and M.B.; investigation, A.K.; resources, E.P.-G.; data curation, A.K., S.S. and M.B.; writing—original draft preparation, A.K.; writing—review and editing, S.S., E.P.-G. and M.B.; visualization, A.K., S.S. and M.B.; supervision, E.P.-G.; project administration, E.P.-G.; and funding acquisition, E.P.-G. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This work was supported by the multi-annual project: 2014–2020 'Linkage and association mapping of common oats' coordinated by University of Life Sciences in Lublin and financed by the Ministry of Agriculture and Rural Development of Poland.

**Institutional Review Board Statement:** Not applicable.

**Informed Consent Statement:** Not applicable.

**Data Availability Statement:** Not applicable.

**Acknowledgments:** The authors would like to thank the breeders from Małopolska Plant Breeding Ltd. in Polanowice, Strzelce Plant Breeding Ltd., and Danko Plant Breeding Ltd. for providing the breeding lines used in the study.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## References

1. Hickey, L.T.; Hafeez, A.N.; Robinson, H.; Jackson, S.A.; Leal-Bertioli, S.C.M.; Tester, M.; Gao, C.; Godwin, I.D.; Hayes, B.J.; Wulff, B.B.H. Breeding crops to feed 10 billion. *Nat. Biotechnol.* **2019**, *37*, 744–754. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Tilman, D.; Balzer, C.; Hill, J.; Befort, B.L. Global food demand and the sustainable intensification of agriculture. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2011**, *108*, 20260–20264. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Godfray, H.C.J.; Beddington, J.R.; Crute, I.R.; Haddad, L.; Lawrence, D.; Muir, J.F.; Pretty, J.; Robinson, S.; Thomas, S.M.; Toulmin, C. Food security: The challenge of feeding 9 billion people. *Science* **2010**, *327*, 812–818. [[CrossRef](#)]
4. Gibiński, M.; Gumul, D.; Korus, J. Health-promoting properties of oats and oat products. *Żywność. Nauk. Technol. Jakość* **2005**, *4*, 49–60.
5. Gašiorowski, H. The physiological and nutritional value of oats. *Przegląd Zbożowo-Młynarski* **2003**, *47*, 26–28.
6. Emmons, C.L.; Peterson, D.M. Antioxidant activity and phenolic contents of oat groats and hulls. *Cereal Chem.* **1999**, *76*, 902–906. [[CrossRef](#)]

7. Chen, C.Y.; Milbury, P.E.; Kwak, H.K.; Collins, F.W.; Samuel, P.; Blumberg, J.B. Avenanthramides and phenolic acids from oats are bioavailable and act synergistically with vitamin C to enhance hamster and human LDL resistance to oxidation. *J. Nutr.* **2004**, *134*, 1459–1466. [CrossRef] [PubMed]
8. Świerczewski, A.; Mazaraki, M. Hodowla owsa (Oat breeding). In *Biologia i Agrotechnika Owsa (Biology and Agrotechnology of Oats)*; Mazurek, J., Wojcieszka, U., Mazurek, J., Król, M., Eds.; IUNG: Pulawy, Poland, 1993; pp. 129–161.
9. Spiss, L. History of oat breeding in Poland. *Biul. Inst. Hod. i Aklim. Roślin* **2003**, *229*, 7–11.
10. Paczos-Grzęda, E. Pedigree, RAPD and simplified AFLP-based assessment of genetic relationships among *Avena sativa* L. cultivars. *Euphytica* **2004**, *138*, 13–22. [CrossRef]
11. Paczos-Grzęda, E.; Bednarek, P.T. Comparative analysis of hexaploid *Avena* species using REMAP and ISSR methods. *Turk. J. Botany* **2014**, *38*, 1103–1111. [CrossRef]
12. Boczkowska, M.; Nowosielski, J.; Nowosielska, D.; Podyma, W. Assessing genetic diversity in 23 early Polish oat cultivars based on molecular and morphological studies. *Genet. Resour. Crop Evol.* **2014**, *61*, 927–941. [CrossRef]
13. Koroluk, A.; Grzęda, E.P.-; Sowa, S.; Boczkowska, M.; Toporowska, J. Diversity of Polish Oat Cultivars with a Glance at Breeding History and Perspectives. *Agronomy* **2022**, *12*, 2423. [CrossRef]
14. Boczkowska, M.; Tarczyk, E. Genetic diversity among Polish landraces of common oat (*Avena sativa* L.). *Genet. Resour. Crop Evol.* **2013**, *60*, 2157–2169. [CrossRef]
15. Boczkowska, M.; Onyśk, A. Unused genetic resources: A case study of Polish common oat germplasm. *Ann. Appl. Biol.* **2016**, *169*, 155–165. [CrossRef]
16. Kilian, A.; Wenzl, P.; Huttner, E.; Carling, J.; Xia, L.; Blois, H.; Caig, V.; Heller-Uszynska, K.; Jaccoud, D.; Hopper, C.; et al. Diversity Arrays Technology: A Generic Genome Profiling Technology on Open Platforms. In *Data Production and Analysis in Population Genomics: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology*; Pompanon, F., Bonin, A., Eds.; Springer Science + Business Media: New York, NY, USA, 2012; Volume 888, pp. 67–89. ISBN 978-1-61779-869-6.
17. Cruz, V.M.V.; Kilian, A.; Dierig, D.A. Development of DArT marker platforms and genetic diversity assessment of the U.S. collection of the new oilseed crop lesquerella and related species. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e64062. [CrossRef]
18. Tyrka, M.; Mokrzycka, M.; Bakera, B.; Tyrka, D.; Szeliga, M.; Stojalowski, S.; Matysik, P.; Rokicki, M.; Rakoczy-Trojanowska, M.; Krajewski, P. Evaluation of genetic structure in European wheat cultivars and advanced breeding lines using high-density genotyping-by-sequencing approach. *BMC Genom.* **2021**, *22*, 1–17. [CrossRef]
19. Egea, L.A.; Mérida-García, R.; Kilian, A.; Hernandez, P.; Dorado, G. Assessment of genetic diversity and structure of large garlic (*Allium sativum*) germplasm bank, by diversity arrays technology “genotyping-by-sequencing” platform (DArTseq). *Front. Genet.* **2017**, *8*, 98. [CrossRef]
20. Dziurdziak, J.; Podyma, W.; Bujak, H.; Boczkowska, M. Tracking Changes in the Spring Barley Gene Pool in Poland during 120 Years of Breeding. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 4553. [CrossRef]
21. Dziurdziak, J.; Bolc, P.; Włodarczyk, S.; Puchta, M.; Gryziak, G.; Podyma, W.; Boczkowska, M. Multifaceted Analysis of Barley Landraces Collected during Gene Bank Expeditions in Poland at the End of the 20th Century. *Agronomy* **2020**, *10*, 1958. [CrossRef]
22. Pailles, Y.; Ho, S.; Pires, I.S.; Tester, M.; Negrão, S.; Schmöcke, S.M. Genetic diversity and population structure of two tomato species from the galapagos islands. *Front. Plant Sci.* **2017**, *8*, 138. [CrossRef]
23. *Avena sativa*—OT3098 v2, PepsiCo. Available online: <https://wheat.pw.usda.gov/jb?data=/ggds/oat-ot3098v2-pepsico> (accessed on 5 December 2022).
24. Hubisz, M.J.; Falush, D.; Stephens, M.; Pritchard, J.K. Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Mol. Ecol. Resour.* **2009**, *9*, 1322–1332. [CrossRef]
25. Evanno, G.; Regnaut, S.; Goudet, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: A simulation study. *Mol. Ecol.* **2005**, *14*, 2611–2620. [CrossRef]
26. Kopelman, N.M.; Mayzel, J.; Jakobsson, M.; Rosenberg, N.A.; Mayrose, I. Clumpak: A program for identifying clustering modes and packaging population structure inferences across K. *Mol. Ecol. Resour.* **2015**, *15*, 1179–1191. [CrossRef]
27. Sowa, S.; Paczos-Grzęda, E. Identification of molecular markers for the *Pc39* gene conferring resistance to crown rust in oat. *Theor. Appl. Genet.* **2020**, *133*, 1081–1094. [CrossRef] [PubMed]
28. Toporowska, J.; Sowa, S.; Kilian, A.; Koroluk, A.; Paczos-Grzęda, E. Discovery and chromosomal location a highly effective oat crown rust resistance gene *Pc50-5*. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 11183. [CrossRef] [PubMed]
29. Herrmann, M.H.; Mohler, V. Locating two novel genes for resistance to powdery mildew from *Avena byzantina* in the oat genome. *Plant Breed.* **2018**, *137*, 832–838. [CrossRef]
30. Huang, Y.F.; Poland, J.A.; Wight, C.P.; Jackson, E.W.; Tinker, N.A. Using Genotyping-By-Sequencing (GBS) for genomic discovery in cultivated oat. *PLoS ONE* **2014**, *9*, e102448. [CrossRef]
31. Wingen, L.U.; West, C.; Waite, M.L.; Collier, S.; Orford, S.; Goram, R.; Yang, C.Y.; King, J.; Allen, A.M.; Burrridge, A.; et al. Wheat landrace genome diversity. *Genetics* **2017**, *205*, 1657–1676. [CrossRef]
32. Cavanagh, C.R.; Chao, S.; Wang, S.; Huang, B.E.; Stephen, S.; Kiani, S.; Forrest, K.; Saintenac, C.; Brown-Guedira, G.L.; Akhunova, A.; et al. Genome-wide comparative diversity uncovers multiple targets of selection for improvement in hexaploid wheat landraces and cultivars. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2013**, *110*, 8057–8062. [CrossRef]
33. Alipour, H.; Bihamta, M.R.; Mohammadi, V.; Peyghambari, S.A.; Bai, G.; Zhang, G. Genotyping-by-sequencing (GBS) revealed molecular genetic diversity of Iranian wheat landraces and cultivars. *Front. Plant Sci.* **2017**, *8*, 1293. [CrossRef]

34. Eltaher, S.; Sallam, A.; Belamkar, V.; Emara, H.A.; Nower, A.A.; Salem, K.F.M.; Poland, J.; Baenziger, P.S. Genetic diversity and population structure of F3:6 Nebraska Winter wheat genotypes using genotyping-by-sequencing. *Front. Genet.* **2018**, *9*, 76. [[CrossRef](#)]
35. Jaccoud, D.; Peng, K.; Feinstein, D.; Kilian, A. Diversity Arrays: A solid state technology for sequence information independent genotyping. *Nucleic Acids Res.* **2001**, *29*, e25. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Oliver, R.E.; Jellen, E.N.; Ladizinsky, G.; Korol, A.B.; Kilian, A.; Beard, J.L.; Dumlupinar, Z.; Wisniewski-Morehead, N.H.; Svedin, E.; Coon, M.; et al. New Diversity Arrays Technology (DARt) markers for tetraploid oat (*Avena magna* Murphy et Terrell) provide the first complete oat linkage map and markers linked to domestication genes from hexaploid *A. sativa* L. *Theor. Appl. Genet.* **2011**, *123*, 1159–1171. [[CrossRef](#)]
37. Young, W.P.; Schupp, J.M.; Keim, P. DNA methylation and AFLP marker distribution in the soybean genome. *Theor. Appl. Genet.* **1999**, *99*, 785–792. [[CrossRef](#)]
38. Peng, J.; Korol, A.B.; Fahima, T.; Röder, M.S.; Ronin, Y.I.; Li, Y.C.; Nevo, E. Molecular genetic maps in wild emmer wheat, *Triticum dicoccoides*: Genome-wide coverage, massive negative interference, and putative quasi-linkage. *Genome Res.* **2000**, *10*, 1509–1531. [[CrossRef](#)]
39. Künzel, G.; Korzun, L.; Meister, A. Cytologically integrated physical restriction fragment length polymorphism maps for the barley genome based on translocation breakpoints. *Genetics* **2000**, *154*, 397–412. [[CrossRef](#)]
40. Lukaszewski, A.J.; Curtis, C.A. Physical distribution of recombination in B-genome chromosomes of tetraploid wheat. *Theor. Appl. Genet.* **1993**, *86*, 121–127. [[CrossRef](#)]
41. Werner, J.E.; Endo, T.R.; Gill, B.S. Toward a cytogenetically based physical map of the wheat genome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1992**, *89*, 11307–11311. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. Cheng, Z.; Presting, G.G.; Buell, C.R.; Wing, R.A.; Jiang, J. High-resolution pachytene chromosome mapping of bacterial artificial chromosomes anchored by genetic markers reveals the centromere location and the distribution of genetic recombination along chromosome 10 of rice. *Genetics* **2001**, *157*, 1749–1757. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Wu, K.S.; Tanksley, S.D. Genetic and physical mapping of telomeres and macrosatellites of rice. *Plant Mol. Biol.* **1993**, *22*, 861–872. [[CrossRef](#)]
44. Dziurdziak, J.; Gryziak, G.; Groszyk, J.; Podyma, W.; Boczkowska, M. DARtseq Genotypic and Phenotypic Diversity of Barley Landraces Originating from Different Countries. *Agronomy* **2021**, *11*, 2330. [[CrossRef](#)]
45. Alipour, H.; Bai, G.; Zhang, G.; Bihamta, M.R.; Mohammadi, V.; Peyghambari, S.A. Imputation accuracy of wheat genotyping-by-sequencing (GBS) data using barley and wheat genome references. *PLoS ONE* **2019**, *14*, e0208614. [[CrossRef](#)]
46. Ketema, S.; Tesfaye, B.; Kenehi, G.; Fenta, B.A.; Assefa, E.; Greliche, N.; Machuka, E.; Yao, N. DARtSeq SNP-based markers revealed high genetic diversity and structured population in Ethiopian cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] germplasms. *PLoS ONE* **2020**, *15*, e0239122. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
47. Vasumathy, S.K.; Peringottillam, M.; Sundaram, K.T.; Kumar, S.H.K.; Alagu, M. Genome-wide structural and functional variant discovery of rice landraces using genotyping by sequencing. *Mol. Biol. Rep.* **2020**, *47*, 7391–7402. [[CrossRef](#)]
48. Delfini, J.; Moda-Cirino, V.; dos Santos Neto, J.; Ruas, P.M.; Sant’Ana, G.C.; Gepts, P.; Gonçalves, L.S.A. Population structure, genetic diversity and genomic selection signatures among a Brazilian common bean germplasm. *Sci. Rep.* **2021**, *11*, 2964. [[CrossRef](#)]
49. Wakeley, J. The excess of transitions among nucleotide substitutions: New methods of estimating transition bias underscore its significance. *Trends Ecol. Evol.* **1996**, *11*, 158–162. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
50. Newell, M.A.; Cook, D.; Tinker, N.A.; Jannink, J.-L. Population structure and linkage disequilibrium in oat (*Avena sativa* L.): Implications for genome-wide association studies. *Theor. Appl. Genet.* **2011**, *122*, 623–632. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
51. Asoro, F.G.; Newell, M.A.; Beavis, W.D.; Scott, M.P.; Jannink, J.-L. Accuracy and Training Population Design for Genomic Selection on Quantitative Traits in Elite North American Oats. *Plant Genome* **2011**, *4*, 132–144. [[CrossRef](#)]
52. Tumino, G.; Voorrips, R.E.; Rizza, F.; Badeck, F.W.; Morcia, C.; Ghizzoni, R.; Germeier, C.U.; Paulo, M.J.; Terzi, V.; Smulders, M.J.M. Population structure and genome-wide association analysis for frost tolerance in oat using continuous SNP array signal intensity ratios. *Theor. Appl. Genet.* **2016**, *129*, 1711–1724. [[CrossRef](#)]
53. Esvelt Klos, K.; Huang, Y.-F.; Bekele, W.A.; Obert, D.E.; Babiker, E.; Beattie, A.D.; Bjørnstad, Å.; Bonman, J.M.; Carson, M.L.; Chao, S.; et al. Population genomics related to adaptation in elite oat germplasm. *Plant Genome* **2016**, *9*, 2015.10.0103. [[CrossRef](#)]
54. Winkler, L.R.; Michael Bonman, J.; Chao, S.; Admassu Yimer, B.; Bockelman, H.; Esvelt Klos, K. Population Structure and Genotype-Phenotype Associations in a Collection of Oat Landraces and Historic Cultivars. *Front. Plant Sci.* **2016**, *7*, 1077. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
55. Bjørnstad, Å.; He, X.; Tekle, S.; Klos, K.; Huang, Y.F.; Tinker, N.A.; Dong, Y.; Skinnnes, H. Genetic variation and associations involving *Fusarium* head blight and deoxynivalenol accumulation in cultivated oat (*Avena sativa* L.). *Plant Breed.* **2017**, *136*, 620–636. [[CrossRef](#)]
56. Haikka, H.; Knürr, T.; Manninen, O.; Pietilä, L.; Isoahti, M.; Teperi, E.; Mäntysaari, E.A.; Strandén, I. Genomic prediction of grain yield in commercial Finnish oat (*Avena sativa*) and barley (*Hordeum vulgare*) breeding programmes. *Plant Breed.* **2020**, *139*, 550–561. [[CrossRef](#)]

57. Isidro-Sánchez, J.; D'Arcy Cusack, K.; Verheecke-Vaessen, C.; Kahla, A.; Bekele, W.; Doohan, F.; Magan, N.; Medina, A. Genome-wide association mapping of *Fusarium langsethiae* infection and mycotoxin accumulation in oat (*Avena sativa* L.). *Plant Genome* **2020**, *13*, e20023. [CrossRef]
58. Rio, S.; Gallego-Sánchez, L.; Montilla-Bascón, G.; Canales, F.J.; Isidro y Sánchez, J.; Prats, E. Genomic prediction and training set optimization in a structured Mediterranean oat population. *Theor. Appl. Genet.* **2021**, *134*, 3595–3609. [CrossRef] [PubMed]
59. Harlan, J.R. Genetics of Disaster. *J. Environ. Qual.* **1972**, *1*, 212–215. [CrossRef]
60. Aleksandrov, V.; Kartseva, T.; Alqudah, A.M.; Kocheva, K.; Tasheva, K.; Börner, A.; Misheva, S. Genetic diversity, linkage disequilibrium and population structure of bulgarian bread wheat assessed by genome-wide distributed snp markers: From old germplasm to semi-dwarf cultivars. *Plants* **2021**, *10*, 1116. [CrossRef]
61. Troup, G.; Paynter, B. *Oat Variety Sowing Guide for Western Australia*; Biulletin 4891; 2018 Western Australian Agriculture Authority: South Perth, Australia, 2018. Available online: <https://www.agric.wa.gov.au/sites/gateway/files/Oat%20Variety%20Guide%20for%20WA%202018.pdf> (accessed on 28 January 2023).
62. *Polish National List of Agricultural Plant Varieties*; Research Centre for Cultivar Testing: Słupia Wielka, Poland, 2020; ISBN 1231 8299. Available online: [https://coboru.gov.pl/en/nli/nli\\_inf](https://coboru.gov.pl/en/nli/nli_inf) (accessed on 28 January 2023).
63. Sowa, S.; Paczos-Grzęda, E. A study of crown rust resistance in historical and modern oat cultivars representing 120 years of Polish oat breeding. *Euphytica* **2020**, *216*, 1–10. [CrossRef]
64. De Koeber, D.L.; Tinker, N.A.; Wight, C.P.; Deyl, J.; Burrows, V.D.; O'Donoghue, L.S.; Lybaert, A.; Molnar, S.J.; Armstrong, K.C.; Fedak, G.; et al. A molecular linkage map with associated QTLs from a hullless x covered spring oat population. *Theor. Appl. Genet.* **2004**, *108*, 1285–1298. [CrossRef]
65. Tinker, N.A.; Wight, C.P.; Bekele, W.A.; Yan, W.; Jellen, E.N. Genome analysis in *Avena sativa* reveals hidden breeding barriers and opportunities for oat improvement. *Commun. Biol.* **2022**, *5*, 474. [CrossRef]
66. Holland, J.B.; Portyanko, V.A.; Hoffman, D.L.; Lee, M. Genomic regions controlling vernalization and photoperiod responses in oat. *Theor. Appl. Genet.* **2002**, *105*, 113–126. [CrossRef] [PubMed]
67. Bekele, W.A.; Wight, C.P.; Chao, S.; Howarth, C.J.; Tinker, N.A. Haplotype based genotyping-by-sequencing in oat genome research. *Plant Biotechnol. J.* **2018**, *16*, 1452–1463. [CrossRef]
68. Chaffin, A.S.; Huang, Y.Y.; Smith, S.; Bekele, W.A.; Babiker, E.; Gnanesh, B.N.; Foresman, B.J.; Blanchard, S.G.; Jay, J.J.; Reid, R.W.; et al. A Consensus Map in Cultivated Hexaploid Oat Reveals Conserved Grass Synteny with Substantial Subgenome Rearrangement. *Plant Genome* **2016**, *9*, 1–21. [CrossRef] [PubMed]
69. Yan, H.; Bekele, W.A.; Wight, C.P.; Peng, Y.; Langdon, T.; Latta, R.G.; Fu, Y.B.; Diederichsen, A.; Howarth, C.J.; Jellen, E.N.; et al. High-density marker profiling confirms ancestral genomes of *Avena* species and identifies D-genome chromosomes of hexaploid oat. *Theor. Appl. Genet.* **2016**, *129*, 2133–2149. [CrossRef] [PubMed]
70. Kamal, N.; Tsardakas Renhuldt, N.; Bentzer, J.; Gundlach, H.; Haberer, G.; Juhász, A.; Lux, T.; Bose, U.; Tye-Din, J.A.; Lang, D.; et al. The mosaic oat genome gives insights into a uniquely healthy cereal crop. *Nature* **2022**, *606*, 113–119. [CrossRef]
71. Peng, Y.; Yan, H.; Guo, L.; Deng, C.; Wang, C.; Wang, Y.; Kang, L.; Zhou, P.; Yu, K.; Dong, X.; et al. Reference genome assemblies reveal the origin and evolution of allohexaploid oat. *Nat. Genet.* **2022**, *54*, 1248–1258. [CrossRef]
72. Kianian, S.F.; Egli, M.A.; Phillips, R.L.; Rines, H.W.; Somers, D.A.; Gengenbach, B.G.; Webster, F.H.; Livingston, S.M.; Groh, S.; O'Donoghue, L.S.; et al. Association of a major groat oil content QTL and an acetyl-CoA carboxylase gene in oat. *Theor. Appl. Genet.* **1999**, *98*, 884–894. [CrossRef]
73. Kianian, S.F.; Phillips, R.L.; Rines, H.W.; Fulcher, R.G.; Webster, F.H.; Stuthman, D.D. Quantitative trait loci influencing  $\beta$ -glucan content in oat (*Avena sativa*,  $2n=6x=42$ ). *Theor. Appl. Genet.* **2000**, *101*, 1039–1048. [CrossRef]
74. Fogarty, M.C.; Smith, S.M.; Sheridan, J.L.; Hu, G.; Islamovic, E.; Reid, R.; Jackson, E.W.; Maughan, P.J.; Ames, N.P.; Jellen, E.N.; et al. Identification of mixed linkage  $\beta$ -glucan quantitative trait loci and evaluation of *AsCslF6* homoeologs in hexaploid oat. *Crop Sci.* **2020**, *60*, 914–933. [CrossRef]
75. Carlson, M.O.; Montilla-Bascon, G.; Hoekenga, O.A.; Tinker, N.A.; Poland, J.; Baseggio, M.; Sorrells, M.E.; Jannink, J.L.; Gore, M.A.; Yeats, T.H. Multivariate Genome-Wide Association Analyses Reveal the Genetic Basis of Seed Fatty Acid Composition in Oat (*Avena sativa* L.). *G3 Genes Genomes Genet.* **2019**, *9*, 2963–2975. [CrossRef]
76. Holland, J.B.; Moser, H.S.; O'Donoghue, L.S.; Lee, M. QTLs and Epistasis Associated with Vernalization Responses in Oat. *Crop Sci.* **1997**, *37*, 1306–1316. [CrossRef]
77. Siripoonwiwat, W.; O'Donoghue, L.S.; Wesenberg, D.; Hoffman, D.L.; Barbosa-Neto, J.F.; Sorrells, M.E. Chromosomal regions associated with quantitative traits in oat. *J. Agric. Genom.* **1996**, *2*, 1–13.
78. Sunstrum, F.G.; Bekele, W.A.; Wight, C.P.; Yan, W.; Chen, Y.; Tinker, N.A. A genetic linkage map in southern-by-spring oat identifies multiple quantitative trait loci for adaptation and rust resistance. *Plant Breed.* **2019**, *138*, 82–94. [CrossRef]
79. Courtois, B.; Audebert, A.; Dardou, A.; Roques, S.; Ghneim-Herrera, T.; Droc, G.; Frouin, J.; Rouan, L.; Gozé, E.; Kilian, A.; et al. Genome-wide association mapping of root traits in a japonica rice panel. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e0078037. [CrossRef] [PubMed]
80. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*; R Foundation for Statistical Computing; RCoreTeam: Vienna, Austria, 2020; Available online: <https://www.r-project.org/> (accessed on 28 January 2023).
81. Gruber, B.; Unmack, P.J.; Berry, O.F.; Georges, A. dartr: An r package to facilitate analysis of SNP data generated from reduced representation genome sequencing. *Mol. Ecol. Resour.* **2018**, *18*, 691–699. [CrossRef]



82. Gu, Z.; Gu, L.; Eils, R.; Schlesner, M.; Brors, B. circlize Implements and enhances circular visualization in R. *Bioinformatics* **2014**, *30*, 2811–2812. [[CrossRef](#)]
83. Kalinowski, S.T. hp-rare 1.0: A computer program for performing rarefaction on measures of allelic richness. *Mol. Ecol. Notes* **2005**, *5*, 187–189. [[CrossRef](#)]
84. Wright, S. *Evolution and the Genetics of Populations, Volume 2: Theory of Gene Frequencies*; University of Chicago Press: Chicago, IL, USA, 1984.
85. Kim, K.W.; Chung, H.K.; Cho, G.T.; Ma, K.H.; Chandrabalan, D.; Gwag, J.G.; Kim, T.S.; Cho, E.G.; Park, Y.J. PowerCore: A program applying the advanced M strategy with a heuristic search for establishing core sets. *Bioinformatics* **2007**, *23*, 2155–2162. [[CrossRef](#)]

**Disclaimer/Publisher’s Note:** The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

**P.3.** **Koroluk A., Sowa S., Paczos-Grzęda E.\*** 2022. Characteristics of progenies derived from bidirectional *Avena sativa* L. and *Avena fatua* L. crosses. *Agriculture* 12(11), 1758. DOI: 10.3390/agriculture121117

**IF: 3,6; MEiN: 100 pkt**

## Article

# Characteristics of Progenies Derived from Bidirectional *Avena sativa* L. and *Avena fatua* L. Crosses

Aneta Koroluk, Sylwia Sowa  and Edyta Paczos-Grzęda \* 

Institute of Plant Genetics, Breeding and Biotechnology, University of Life Sciences in Lublin, 20-950 Lublin, Poland

\* Correspondence: edyta.paczos@up.lublin.pl

**Abstract:** Crossing genetically distant forms is widely used in breeding programs and allows the introduction of beneficial features from the wild into cultivated species. In this study, agronomic traits of two F<sub>2</sub> segregating populations derived from crosses in both directions between *A. sativa* cv. Sam and *A. fatua* '51532', as well as their parental forms, were phenotyped and statistically compared. Almost all mean values of the analysed features in the populations ranged between the values of the two parental forms. In both F<sub>2</sub> populations, high variability of the traits was observed. The plant height was strongly correlated with the length of the first internode below the panicle in all populations except parental form '51532'. An intermediate correlation between the plant height and the panicle length could be observed only for 'Sam' and 'Sam' × '51532'. The segregation of non-shattering to shattering phenotypes of the progeny confirmed a single gene inheritance of the trait. Additionally, in both combinations, transgressive forms in terms of some phenotypic traits were observed. The direction of crosses had no impact on the values of characterised parameters. During the interspecific crosses, new breeding lines and cultivars are obtained, enriched with specific qualitative and quantitative properties. The genetic distinctness between crossed species often prevents the formation of desired hybrids but also enables obtaining superior genotypes with traits exceeding the parental forms. Even though efficient crossbreeding with *A. fatua* is demanding, looking for new germplasm in wild ancestors is crucial for expanding the *Avena* genetic pool and developing long-term strategies beneficial to modern oat breeding.

**Keywords:** *Avena fatua*; *Avena sativa*; interspecific hybrids; phenotyping; wide crossing; oat



**Citation:** Koroluk, A.; Sowa, S.; Paczos-Grzęda, E. Characteristics of Progenies Derived from Bidirectional *Avena sativa* L. and *Avena fatua* L. Crosses. *Agriculture* **2022**, *12*, 1758. <https://doi.org/10.3390/agriculture12111758>

Academic Editor: Ioannis Tokatlidis

Received: 20 September 2022

Accepted: 21 October 2022

Published: 24 October 2022

**Publisher's Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



**Copyright:** © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## 1. Introduction

*A. fatua* is a hexaploid *Avena* species belonging to the family Poaceae, with genome AACDD and a chromosome count of  $2n = 6x = 42$  [1,2]. *A. fatua* may easily adapt to different environmental conditions because of special morphological features, high seed production and a unique germination ecology [3]. This widespread wild oat is one of the 10 worst annual weeds of cereal crops in agricultural regions [4], with increasing resistance to herbicides [5–7]. *A. fatua* causes significant economic danger to crop yield due to the seed shattering allowing achieving long-distance dispersal, the ability of seed dormancy, enabling the seeds to remain viable for several years in the soil and competitiveness at the seedling stage [8,9]. At the same time, it may be widely used in breeding programs as a new source of useful genes since *A. fatua* genotypes can be crossed quite easily with oat cultivars.

Many researchers have proven that wild *A. fatua* is a rich source of useful genes and has tremendous potential for oat varieties improvement. Briggles and Youngs [10] indicated that this wild oat contains disease-resistance genes and other valuable properties such as early maturity, rapid growth rate, seed dormancy, high seed protein and high groat percentage. Another advantage of *A. fatua* is its good adaptation to difficult growing conditions. It grows in equal amounts on alkaline and acidic soils, both nutrient-rich and poor. Luby and

Stuthman [11] established that *A. fatua* might contribute to *A. sativa* valuable agronomic and grain quality traits, such as increased oil content (9.2%), which is associated with increased grain energy. *A. fatua* contained the highest level of esterase and lipase among species of Gramineae; therefore, it was considered a good feedstock for these enzymes in industry production [12]. The grain of *A. fatua* contained over 20% of protein, 8% of lipid and 55% of starch and was rich in essential minerals and vitamins [13]. Moreover, *A. fatua* was a source of dwarfing genes crossed into cultivated oat for increased lodging resistance [14] and resistance to barley yellow dwarf virus (BYDV) [15]; however, it remains underexploited as a fungal resistance gene donor.

*A. fatua*, widely available and richly gathered in global collections, can still be a valuable source of new gene alleles for the improvement of cultivated oat. The most recent studies indicate that *A. fatua* may be a valuable source of resistance genes to the most damaging fungal diseases of oat. Paczos-Grzęda et al. [16] tested 204 worldwide accessions of *A. fatua* in terms of crown rust reaction using host-pathogen tests with five highly virulent races of *Puccinia coronata* f. sp. *avenae*. Twelve of them, mainly derived from Kenya or Egypt, allowed postulation of the likely presence of novel crown rust resistance genes. Similarly, Okoń et al. [17] tested eleven genotypes of *A. fatua* with the three most virulent isolates of *Blumeria graminis* f. sp. *avenae*, and some of the genotypes presented intermediate resistance.

Previous studies confirm that cultivated oat (*A. sativa*) has a very narrow gene pool [18–24]. In order to extend the genetic variability of oat, interspecies and intergeneric crosses were carried out. As an exotic alleles source, *A. sterilis* and *A. fatua* accessions were used [11,14,15]. There are no crossing barriers between hexaploid species within the genus *Avena*, and hybrids between *A. sativa*, *A. byzantina*, *A. fatua* and *A. sterilis* could be obtained with relatively low effort [25]. Wild and weedy species seeds or spikelets shattering at maturity inherited as a recessive trait is the main obstacle. However, plant breeders, mostly for economic reasons, usually source populations for cultivar development from crosses within regionally adapted *A. sativa* cultivars with good agronomic performance to avoid yield penalties connected with undesirable alleles derived from wild progenitors and linkage drag [24]. Linkage drag is a severe limitation on the use of potentially beneficial alleles accumulated in wild species and may not always be removed, even by multiple backcrossing to the recurrent parents [26]. By narrowing the starting material, breeders do not need to eliminate the undesirable features, significantly speeding up the breeding process, but this attempt leads to meeting only short-term breeding goals and narrowing the cultivated oat gene pool [27]. Therefore, prebreeding programmes are conducted by scientific institutions to support breeders and provide preliminary evaluated and selected lines. During the initial selection, many quantitative traits determining the value of the evaluated forms are taken into account. The most frequently assessed traits, such as plant height, tillering, earliness and fertility of the spikelet or 1000 kernel weight, are determined due to their direct impact on yield, which is still the basic goal of modern oat breeding [28].

Interspecific crosses of Polish *A. sativa* cultivars with *A. sterilis* and *A. fatua* were performed previously [29–31], and within segregating progeny lines, characterising advantageous traits were identified. The best lines were given over to the breeders for further crosses or selection. This study is a continuation of our previous efforts and attempts to determine the influence of *A. fatua* on the extension of genetic variability in cultivated oat based on the assessment of the morphological traits of two hybrid F<sub>2</sub> populations derived from crosses between *A. sativa* and *A. fatua*. This study also investigated whether cross-breeding with *A. fatua* and the crossing direction affects the breeding value of cultivated oat.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Plant Material

The study materials were hexaploid oat hybrids of the F<sub>1</sub> and F<sub>2</sub> generations derived from crosses: *A. sativa* L. cv. Sam × *A. fatua* L. '51532' and *A. fatua* L. '51532' × *A. sativa* L. cv. Sam obtained at the Institute of Plant Genetics, Breeding and Biotechnology of the Univer-



sity of Life Sciences in Lublin, Poland, as well as the parental forms of studied populations. 'Sam' is a Polish variety of common oat derived from Strzelce Plant Breeding company, with a pedigree (Flamingsnova  $\times$  Swan mut)  $\times$  {[Alfred  $\times$  (Garland  $\times$  C2)]  $\times$  Swan mut.}. The '51532' is the accession of wild oat *A. fatua* L. originated from Peru and was obtained from the Polish genebank (National Center for Plant Genetic Resources in Radzików, Poland).

The field experiment was carried out at the Experimental Farm of the University of Life Sciences in Lublin, in Czesławice (Czesławice 51°18' N, 22°15' E). Forms intended for crossing, as well as field and laboratory evaluation, were sown on brown soil made of loess, belonging to the 2nd valuation class. The forecrop was potatoes. In late autumn, deep ploughing was performed, and in spring, mineral fertilisation was applied in the amount of 60 N kg  $\cdot$  ha<sup>-1</sup>, 80 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> kg  $\cdot$  ha<sup>-1</sup> and 100 K<sub>2</sub>O 100 kg  $\cdot$  ha<sup>-1</sup>.

Parental components for the crossing were sown manually on 2-row plots, about 1 m long and 0.6 m wide, in April 2016. As a result of the crossing, F<sub>1</sub> hybrid grains were obtained, which in 2017 were sown on experimental plots to obtain F<sub>2</sub> grains. F<sub>2</sub> generation hybrid grains were harvested from each F<sub>1</sub> plant and sown pointwise at a distance of 10 cm  $\times$  20 cm in April 2018. At the beginning of the growing season, maintenance spraying with herbicide (Chwastox D) was carried out, and later, the weeds were removed manually. In addition, spraying by Fastac 10EC was performed against the cereal leaf beetle (*Oulema melanopus*) at the rate of 0.1 L  $\cdot$  ha<sup>-1</sup>.

Plants of the segregating progeny and *A. fatua* were protected against grain shedding by putting cellophane isolators on panicles. Field observations were made during the growing season; afterward, in the phase of full maturity, the plants were harvested for laboratory evaluation of agronomic traits.

## 2.2. Phenotyping and Data Analysis

Phenotyping was carried out to evaluate the basic agricultural values of plants in field and laboratory conditions. The heading date was recorded in the field as the date on which the base of the panicle had just emerged from the boot and expressed as the number of days from 1st May to the heading date. Plant height (cm) was measured just before harvest as the distance from the soil surface to the apex of the panicle. The following factors were assessed in the laboratory conditions: the number of productive and unproductive tillers; the number of internodes in the main shoot; length of the first internode below the panicle (cm); diameter of the second from the bottom internode in the main shoot (cm) measured with vernier; the main panicle length (cm), from the bottom of panicle to the top of the upper spikelet; the number of spikelets from the main panicle; and number and weight (g) of kernels from the main panicle. In the case of shattering *A. fatua* plants and F<sub>2</sub> progeny, the number of spikelets and kernels were assessed after careful removal of cellophane isolators from the panicles. Additionally, the following were calculated: the fertility of the spikelet (number of grains per one spikelet in the main panicle), 1000 kernels weight (g) (weight of grains per panicle/number of grains from the panicle  $\times$  1000) and lodging factor Lc [32] determined based on the ratio of plant height to the diameter of the second internode from the bottom.

For each analysed trait, mean, median, minimum, maximum and standard deviation were calculated. The fit of the traits to a normal distribution was assessed using Shapiro–Wilk's normality test ( $\alpha = 0.05$ ). The homogeneity of variance was tested using Bartlett's test. Multiple comparisons among all genotypes were carried out according to Tukey's test or mean ranks post hoc comparison ( $p < 0.05$ ). Chi-squared ( $\chi^2$ ) analyses of the phenotyping data from F<sub>2</sub> progeny were conducted to test the goodness-of-fit of observed to expected segregation ratios. Two sample test comparison of shattering and non-shattering progeny from the cross *A. fatua* '51532' and *A. sativa* 'Sam' was performed by t-test or Mann–Whitney *U* test ( $p < 0.05$ ). The Spearman correlation between analysed phenotypic traits was assessed for all data and divided into populations. The results were statistically analysed using STATISTICA 13.3 [33] and PAST 4.1 software [34].

### 3. Results

A phenotypic evaluation was carried out for 30 plants of each of the tested parental forms of the combinations, as well as 158 plants of the *A. fatua* L. '51532' × *A. sativa* L. cv. Sam and 152 plants of the *A. sativa* L. cv. Sam × *A. fatua* L. '51532' population.

Analysis of variance results indicated statistically significant differences ( $p \leq 0.0011$ ) among studied populations for all phenotyped traits.

The plant height of studied parental forms ranged from 108 to 143 cm for cv. Sam and 125–155 cm for '51532'. The minimum plant height within the cv. Sam × '51532' population was 65 cm, and the maximum height was 156 cm, while for the '51532' × cv. Sam population, these values ranged from 98 cm to 170 cm (Table 1). The standard deviation for both populations was at the level of 15.5 and 14.4, respectively, showing high variability of the trait (Table 1). The results confirmed a normal distribution of the trait for '51532' × cv. Sam population. Statistically significant differences in height were observed between parental forms. The plants of the cv. Sam × '51532' population were lower than the parental forms and the '51532' × cv. Sam population, while the genotypes of the '51532' × cv. Sam population did not differ significantly from the parental forms (Table 2).

When taking into account the number of productive and unproductive tillers, it was noticed that the 'Sam' parental form differed significantly from other populations, as it developed on average 2.6 and 1.3 of the tillers, respectively. In both parental and  $F_2$  forms, a greater number of productive than unproductive tillers was observed. Both populations developed the same average number of unproductive tillers (2.4) (Table 1). Additionally, a significant increase in the number of productive and unproductive tillers was noted in  $F_2$  populations in comparison to *A. sativa* 'Sam' (Table 2). Both traits did not have a normal distribution for any of the studied populations.

The number of internodes in the main shoot of the 'Sam' cultivar differed from other populations, achieving the highest mean number of 5.7 (Table 2). The mean number of internodes of both analysed populations did not differ from *A. fatua* '51532'. The median of the analysed trait was 5 for the cv. Sam × '51532' population as well as wild form '51532', and for the '51532' × cv., Sam population reached 4. The minimum number of internodes for populations and '51532' was 3; the maximum was 6 for the cv. Sam × '51532' population and '51532', and the maximum was 7 for the '51532' × cv. Sam population (Table 1). The trait distribution was not normal for any of the studied populations.

The average distance between the panicle and the internode below in *A. sativa* cv. Sam was 50 cm and in *A. fatua* '51532', 55.7 cm. A large differentiation of the tested trait was found in the individuals of the '51532' as well as hybrid populations, and the standard deviation ranged from 8.2 to 10 (Table 1). Cv. Sam × '51532' population and 'Sam' cultivar differed significantly from '51532' × cv. Sam population and its maternal form '51532' (Table 2). Normal distribution was observed in the '51532' × cv. Sam population.

The diameter of the second internode in the main shoot measured from the root in both parental forms differed significantly from each other and in both populations (Table 2). In the 'Sam' cultivar, the thickest internodes were observed with an average value of 6.5 cm, while in the wild form '51532', the internodes were much thinner, on average 3.6 cm (Table 1). Individuals of both populations developed internodes of similar thickness; for the cv. Sam × '51532' population, the internode diameter ranged from 2.1 to 7.6, and for the '51532' × cv., Sam population was from 2.9 to 7.7. The trait had a normal distribution in studied  $F_2$  populations.

**Table 1.** Statistical analysis of agronomic traits of parental forms *Avena sativa* cv. Sam and *Avena fatua* ‘51532’ as well as their F<sub>2</sub> populations.

Parental form/Population		Plant Height	Number of Productive Tillers	Number of Unproductive Tillers	Number of Internodes in the Main Shoot	Length of the First Internode	Diameter of the Main Shoot Second Internode	The Main Panicle Length
<i>A. sativa</i> cv. Sam	Mean	130.0	2.6	1.3	5.7	50.0	6.5	25.9
	Min	108.0	1.0	0.0	5.0	43.0	5.5	22.0
	Max	143.0	4.0	4.0	6.0	58.0	7.5	29.0
	Stand. Dev.	8.8	0.8	1.2	0.5	3.5	0.7	1.6
	Median	130.0	3.0	1.0	6.0	50.0	6.5	25.0
<i>A. fatua</i> ‘51532’	Mean	139.7	6.3	3.6	4.8	55.7	3.6	23.1
	Min	125.0	1.0	0.0	3.0	27.0	2.9	14.0
	Max	155.0	20.0	8.0	6.0	69.0	4.3	28.0
	Stand. Dev.	7.5	4.2	2.3	0.6	10.0	0.4	2.8
	Median	140.0	6.0	4.0	5.0	58.0	3.5	23.0
51532 × cv. Sam	Mean	135.0	5.6	2.4	4.4	57.3	5.2	25.1
	Min	98.0	1.0	0.0	3.0	31.0	2.9	15.0
	Max	170.0	20.0	10.0	7.0	79.0	7.7	36.0
	Stand. Dev.	14.4	2.9	2.2	0.6	8.2	0.9	3.3
	Median	136.0	5.0	2.0	4.0	57.0	5.3	25.0
cv. Sam × 51532	Mean	121.0	4.7	2.4	4.6	51.0	5.0	23.6
	Min	65.0	1.0	0.0	3.0	22.0	2.1	15.0
	Max	156.0	19.0	11.0	6.0	90.0	7.6	35.0
	Stand. Dev.	15.5	2.8	2.3	0.6	9.1	0.9	3.8
	Median	120.0	4.0	2.0	5.0	52.0	5.0	23.0

Trait distribution among studied populations

A point across the box is depicted as the median. The box indicates the 25th and 75th percentiles, and the whiskers represent minimum and maximum values.

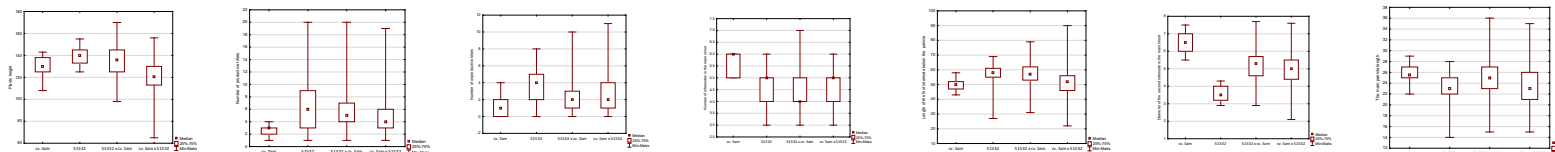


Table 1. Cont.

Parental form/Population	Plant Height	Number of Productive Tillers	Number of Unproductive Tillers	Number of Internodes in the Main Shoot	Length of the First Internode	Diameter of the Main Shoot Second Internode	The Main Panicle Length
Parental form/Population	Number of Spikelets from the Main Panicle	Number of Kernels from the Main Panicle	Weight of Kernels from the main Panicle	The Fertility of the Spikelet	1000 Kernels Weight	Lodging Factor Lc	Number of Days from 1st May to the Heading Date
<i>A. sativa</i> cv. Sam	Mean	103.3	212.2	7.5	2.1	34.9	51
	Min	85.0	166.0	5.47	1.7	27.7	49
	Max	125.0	255.0	7.5	2.7	41.8	53
	Stand. Dev.	13.2	28.2	1.3	0.2	3.2	1.4
	Median	104.0	209.0	7.5	2.0	34.4	51
<i>A. fatua</i> 51532	Mean	38.7	74.6	1.5	1.9	20.1	58.7
	Min	27.0	35.0	0.7	1.0	14.0	51.0
	Max	50.0	103.0	2.0	2.6	24.4	66.0
	Stand. Dev.	6.1	14.2	0.3	0.3	2.6	4.3
	Median	38.0	76.0	1.5	1.9	20.4	59.0
51532 × cv. Sam	Mean	55.2	91.4	2.3	1.7	24.7	54.1
	Min	11.0	12.0	0.24	0.4	2.5	46.0
	Max	131.0	217.0	5.0	2.9	38.0	66.0
	Stand. Dev.	23.4	41.2	1.1	0.6	5.7	3.9
	Median	52.0	85.0	2.2	1.7	24.8	53.0
cv. Sam × 51532	Mean	53.2	96.2	2.3	1.9	23.8	53.5
	Min	15.0	10.0	0.2	0.4	5.9	47.0
	Max	139.0	289.0	6.6	3.0	46.4	65.0
	Stand. Dev.	25.6	47.4	1.1	0.5	5.6	3.5
	Median	47.0	93.0	2.3	1.9	24.2	53.0

**Trait distribution among studied populations**

A point across the box is depicted as the median. The box indicates the 25th and 75th percentiles, and the whiskers represent minimum and maximum values.

**Table 2.** Mean ranks post hoc comparison of agronomic traits among parental forms *Avena sativa* cv. Sam and *Avena fatua* '51532' as well as their F<sub>2</sub> populations. Lowercase letters (a, b, c, d) indicate homogeneous groups ( $p < 0.05$ ).

Population	Plant Height	Number of Productive Tillers	Number of Unproductive Tillers	Number of Internodes in the Main Shoot	Length of the First Internode below the Panicle	Diameter of the Main Shoot Second Internode	The Main Panicle Length	Number of Spikelets from the Main Panicle	Number of Kernels from the Main Panicle	Weight of Kernels from the Main Panicle	The Fertility of the Spikelet	1000 Kernels Weight	Lodging Factor Lc	Number of Days from 1st May to Head Date
cv. Sam	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
51532	b	bc	b	b	b	b	b	b	b	b	ab	b	b	b
51532 × cv. Sam	ab	b	bc	b	b	c	a	c	b	c	b	c	c	c
cv. Sam × 51532	c	c	c	b	a	c	b	c	b	c	ab	c	d	c

It was observed that cv. Sam and the '51532' × cv. Sam plants had significantly longer main panicles in comparison to the '51532' and cv. Sam × '51532' (Table 2); however, the differentiation of the measurements was much higher in both populations. The panicles length of the parental forms ranged from 22 to 29 cm in the 'Sam' and from 14 to 28 cm in the '51532' plants. The shortest panicle of plants of both populations was 15 cm long, and the longest measured 35 cm in the cv. Sam × '51532' population and 36 cm in the '51532' × cv. Sam population (Table 1). A normal distribution of the trait was observed in the cv. Sam × '51532' population.

The highest average number of spikelets was observed for the 'Sam' cultivar (103.3) and the lowest (38.7) for the '51532' (Tables 1 and 2). The mean number of spikelets in both of the populations was at a comparable level of 53.2 for the cv. Sam × '51532' and 55.2 for the '51532' × cv. Sam. The trait was very diverse in the progeny and ranged from 15 to 139 in the cv. Sam × '51532' population (standard deviation of 25.6) and from 11 to 131 in the '51532' × cv. Sam population (standard deviation of 23.4) (Table 1), and the measurements exceeded the maximum number of spikelets from the main panicles of cv. Sam (125). The consequence of the variation in the number of spikelets was the variation in the number of kernels and kernel weights of the main panicle. The standard deviation of the number of kernels was at a similarly high level in cv. Sam × '51532' population (47.4) and '51532' × cv. Sam population (41.2). The mean number, as well as the weight of kernels from the main panicle of populations, was slightly higher than that of the parental form '51532'; however, still much lower than that of the 'Sam' cultivar (Table 1). Plants of both populations developed panicles with the same average kernel weight (2.3 g) and a comparable number of kernels, from 10 to 289 in the cv. Sam × '51532' population, and from 12 to 217 in the '51532' × cv. Sam population (Table 2). In both F<sub>2</sub> populations, all three traits had a distribution far from normal.

The fertility of the spikelet differed significantly only between the '51532' × cv. Sam population (1.7) and its paternal form 'Sam' (2.1) (Table 2). In the cv. Sam × '51532' population and paternal form '51532' spikelet fertility was 1.9 and 1.7, respectively (Table 1). The results confirmed the normal distribution of the trait for the '51532' × cv. Sam population.

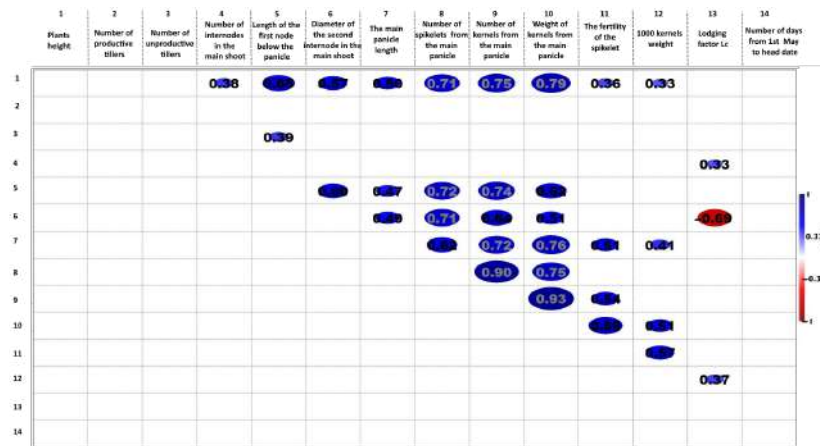
The analysis of the 1000 kernels weight showed the highest mean (34.9 g) for the 'Sam' variety and the lowest (20.1 g) for the '51532', which was significantly different from the populations and the 'Sam' parental form. The differentiation of the trait in the hybrids was at a high level and ranged from 5.9 to 46.4 g in the cv. Sam × '51532' population and from 2.5 to 38 g in the '51532' × cv. Sam population (Table 1). The distribution of the trait in the populations was not normal.

In terms of the lodging factor, each of the groups was statistically different (Table 2). The lowest coefficient was observed in *A. sativa* 'Sam' (20.2) and the highest in *A. fatua* '51532' (39.6) (Table 1). In parental forms, the trait was less varied than in populations, while in the case of populations, greater differentiation of the trait was observed in the '51532' × cv. Sam population. The distribution of the trait was far from normal within the progeny of studied F<sub>2</sub> populations.

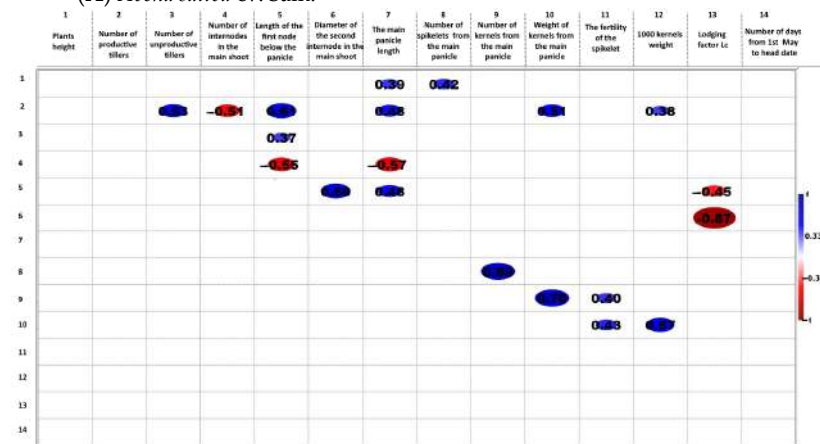
The last statistically analysed trait was the number of days from 1st May to the heading date. The panicles of *A. fatua* '51532' matured at the latest on average 58.7 days from 1st May, which made the group statistically different from other analysed populations (Table 2). In *A. sativa* 'Sam' and populations, the maturation period of the panicles was a few days shorter and amounted to 54.3 days in the cv. 'Sam', 53.5 days in the plants of the cv. Sam × '51532' population and 54.1 days in the plants of the '51532' × cv. Sam population (Table 1). The trait distribution was comparable, but a lack of normal distribution was noted in populations.

The largest number (13) of correlated traits ( $r > 0.65$ ) were noticed in the cv. Sam and the smallest (2) in '51532' × cv. Sam. The number of kernels was correlated with the weight of kernels from the main panicle ( $r \approx 0.87$ ,  $p > 0.05$ ), regardless of whether the entire dataset was analysed or the data were grouped by population; however, the weakest correlation was observed for '51532' ( $r = 0.7$ ). Similarly, the number of spikelets

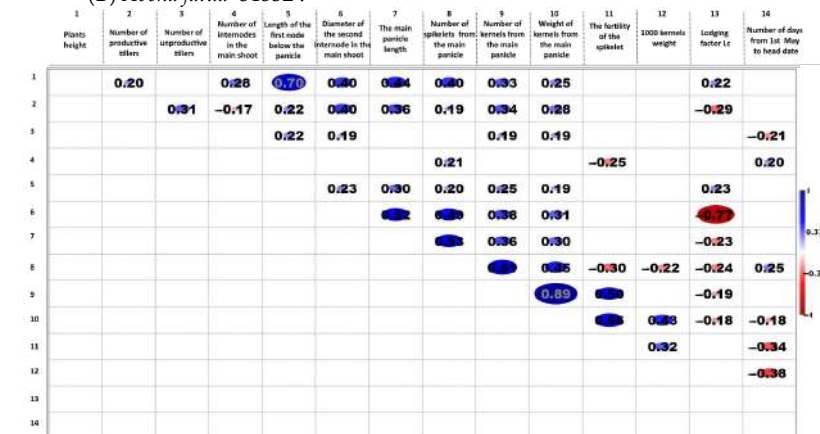
was positively correlated with the number of kernels from the main panicle as well as the diameter of the second internode was negatively correlated with the lodging factor (Lc) ( $r < -0.69$ ). The plant height was positively correlated with the length of the first internode below the panicle ( $r > 0.65$ ,  $p > 0.05$ ) in all populations except ‘51532’. Additionally, in ‘Sam’ and cv. Sam  $\times$  ‘51532’, the diameter of the second internode in the main shoot was correlated with the number of spikelets from the main panicle ( $r = 0.71$ ) (Figure 1).



(A) *Avena sativa* cv. Sam.



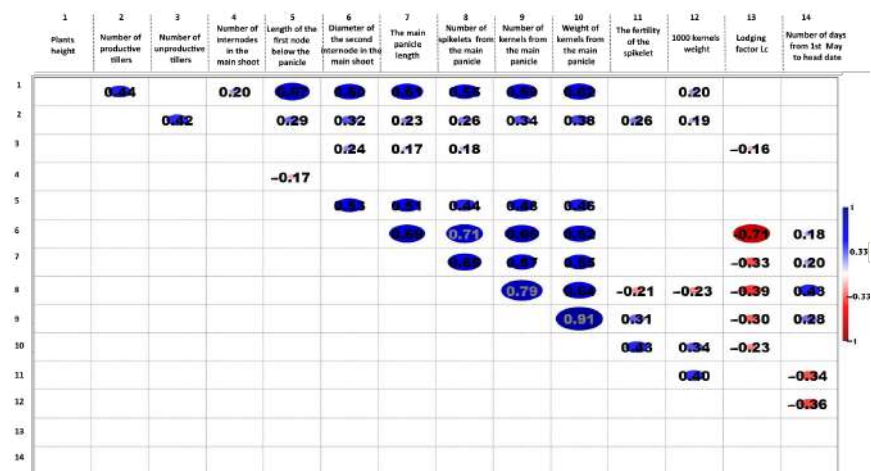
(B) *Avena fatua* ‘51532’.



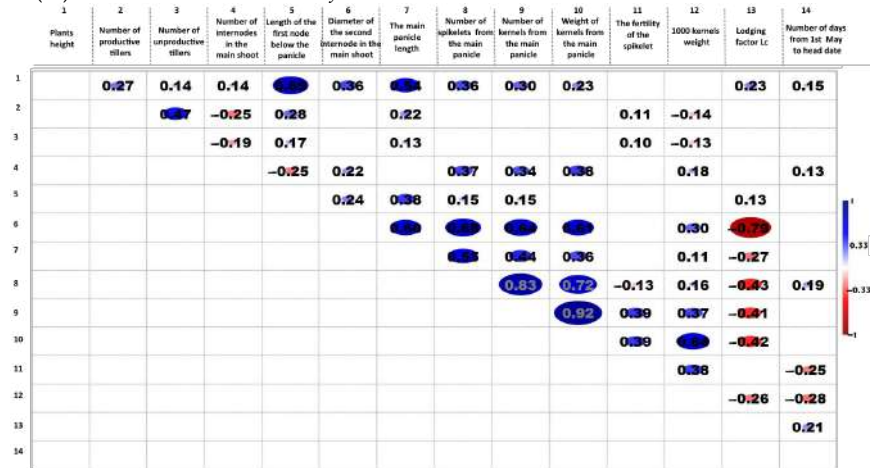
(C) *Avena fatua* ‘51532’  $\times$  *Avena sativa* ‘Sam’.

Figure 1. Cont.





(D) *Avena sativa* ‘Sam’ × *Avena fatua* ‘51532’



(E) Full dataset

**Figure 1.** Heatmaps of Spearman’s correlation coefficient ( $r$ ) showing association of agronomic traits evaluated across (A) *Avena sativa* cv. Sam and (B) *Avena fatua* ‘51532’, as well as (C,D) their F2 populations and (E) full dataset. Blue colours represent positive correlation, while red show negative correlation. R values with  $p > 0.05$  are blank. The size of the ellipses corresponds to the correlation level.  $R > 7.0$  is in gray.

In both populations the segregation patterns based on Chi-square tests, fit a Mendelian ratio of three non-shattering/one shattering phenotype in F<sub>2</sub> population (*Avena fatua* ‘51532’ × *Avena sativa* ‘Sam’:  $\chi^2 = 0.684$ ;  $p$ -value = 0.408; *Avena sativa* ‘Sam’ × *Avena fatua* ‘51532’:  $\chi^2 = 0.035$ ;  $p$ -value = 0.851) (Table 3). Two sample test comparisons of shattering and non-shattering progeny of the population showed statistically significant differences ( $p < 0.05$ ) between the genotypes of ‘51532’ × cv. Sam in terms of the number of unproductive tillers.

**Table 3.** Segregation ratios of shattering in F<sub>2</sub> progeny from the cross *Avena fatua* ‘51532’ and *Avena sativa* ‘Sam’.

Population	‘Celer’/STH9210		Ratio	$\chi^2$	$p$ -Value
	Non-Shattering	Shattering			
<i>Avena fatua</i> ‘51532’ × <i>Avena sativa</i> ‘Sam’	123	35	3:1	0.684	0.40837
<i>Avena sativa</i> ‘Sam’ × <i>Avena fatua</i> ‘51532’	115	37	3:1	0.035	0.85141



#### 4. Discussion

*Avena sativa* L. is a cereal species cultivated on a global scale with a high range of applications from the food industry to pharmaceuticals and animal feed [28]. Modern oat breeding prioritises high yield and other desirable agronomic traits, including resistance to biotic and abiotic stress. Wild oat progenitors have been proven to be a rich source of useful genes [35–38]; however, all *Avena* spp. are grouped into three gene pools [39], and successful transfer of genes from diploids or tetraploids from the secondary and tertiary gene pool to hexaploid *A. sativa* is more demanding and requires special techniques [40]. Thus hexaploid wild oat species from the primary gene pool, including *A. fatua* L., may be an available source of genetic diversity as they cross relatively easily and produce fertile progeny. In this study, we compared selected phenotypic traits of two populations between *A. sativa* cv. Sam and *A. fatua* ‘51532’ in both crossing directions, as well as their parental forms, to assess whether crossbreeding with *A. fatua* affects the breeding value of cultivated oat.

In this research, traits influencing the agronomic value of the plant related to the yield were selected. Tall plants are prone to lodging, which is one of the major causes of crop losses. Lodging prevents effective vegetation, hinders harvesting, affects the quality of the grain and reduces the usefulness of straw [41]. On average, cv. Sam was 10 cm shorter than ‘51532’, which is typical for cultivated varieties. Interestingly, cv. Sam × ‘51532’ reached a lower average height than cv. Sam; however, in both populations, high variability of the trait was observed since it is the F<sub>2</sub> generation. In our study, plant height was strongly correlated with the length of the first internode below the panicle. Some studies suggest that plant height might be correlated with panicle length [42]; however, in this case, an intermediate correlation could be observed only for ‘Sam’ and ‘Sam’ × ‘51532’. Although usually lower plant height correlates with high yield, several studies showed that yield is reduced when plants are shortened too much with dwarfism genes [43]. Incorporating dwarfism genes into cultivars may cause some yield penalty associated, e.g., with failure of the panicle to fully emerge from the leaf sheath [44] or compact panicle architecture [14,45]

The number of internodes and the diameter of the second internode in the main shoot, as well as the length of the first internode below the panicle, are related to plant height and, thus, are resistant to lodging [46]. In these cases, as in the case of all analysed traits, there was a statistically significant difference between the parental forms. Crossing with *A. fatua* lowered the average number of internodes in the main shoot, and in hybrids, the number was lower than in ‘51532’. Regardless of the direction of crossing, the diameter has reached an average value, while the length of the first internode below the panicle seemed to be inherited from the maternal form. Researchers claim that possible nuclear-cytoplasmic effects could be expected even in less distant crosses of oat, such as enhanced yield of the lines with *A. sterilis* cytoplasm [47] or different levels of disease resistance [48]. Additionally, in *Avena*, significant interactions between the cytoplasm and nuclear genes of groat protein content in interspecific matings of *A. sativa* and *A. sterilis* were reported [49]. However, it should be taken into account that quantitative traits may also be influenced by environmental conditions [50].

In ‘Sam’, the main panicle length was strongly correlated with the number and weight of kernels; a slightly weaker correlation of these traits was observed in the ‘Sam’ × ‘51532’. However, no such correlation was observed in *A. fatua* parental form ‘51532’ as well as the ‘51532’ × ‘Sam’. Almost all values of these traits in the populations ranged between the two parental forms, similar to the number of days from 1st May to the heading date in the assessment of earliness. The selection for short plant height and earliness has been one of the main goals of different oat breeding programs. Oat is particularly susceptible to drought during the flowering time, so the heading date is of fundamental importance in dry summer temperate climates since the early heading date enables drought avoidance [51] and may be crucial for world breeding in a systematically warming climate.

In both studied populations, the segregation of non-shattering to shattering genotypes of the progeny fitting a Mendelian ratio was observed, confirming a single gene inheritance.

Shattering in wild *Avena* progenitors is essential for seed dispersal and enables the survival of the species. The domestication made this process possible to control and allowed for increasing the harvesting efficiency and limiting yield losses. In this study, most of the examined traits did not show any significant correlation with shattering except the number of unproductive tillers in the '51532' × cv. Sam population in which the non-shattering plants were less tillering.

Some plants of the studied populations were characterised by the value of phenotypic traits exceeding the parental forms. This was in the case of the plant height, the number of unproductive tillers, the length of the first internode below the panicle, the main panicle length, fertility of the spikelet and 1000 kernel weight. The occurrence of a wider range of variability of traits, in comparison to the parental generation, is most likely the result of a large genetic diversity of parental forms, multi-gene inheritance of the examined phenotypic traits and additive gene action [52]. The phenomenon of transgression was observed, e.g., for the chlorophyll fluorescence parameters in sunflower (*Helianthus annuus* L.) [53] and for parameters related to yielding and flowering time in barley [54]. Transgressive segregation and heterosis are the basis of effective plant breeding, enabling obtaining of superior genotypes with traits not found even in parental forms [55].

Studies of oat genetic variation show that diversity within obsolete as well as modern gene pools is quite narrow [18–21,23]. Over the years of selection, some valuable alleles have been lost, so looking for new germplasm in wild ancestors, obsolete cultivars and landraces is crucial for the oat breeding progress [22]. Efficient crossbreeding with wild forms such as *A. fatua* is demanding and requires backcrossing due to the presence of many primitive features in hybrids of the early generations. However, expanding the *Avena* genetic pool is essential for developing long-term strategies beneficial to modern oat breeding.

## 5. Conclusions

*A. fatua* is a valuable source of genes for the improvement of cultivated oat. Statistical characteristics of phenotypic traits of progenies derived from bidirectional crosses enabled us to evaluate whether crossing with *A. fatua* reduces the agronomic utility of the resulting hybrids. Almost all mean values of the analysed features in the populations ranged between the values of the two parental forms; however, in both combinations, transgressive, superior genotypes with traits exceeding the parental forms were observed. Especially genotypes with increased fertility of the spikelet and 1000 kernel weight might constitute relevant breeding material. Obtained results also confirmed earlier reports on the correlation between plant height and the length of the first internode below the panicle; however, no strong correlation between the height and the length of the panicle was observed. A unique trait of wild oat species is also the agronomically unfavourable shattering. The conducted research confirmed the potential single-gene inheritance of this trait in *A. fatua* and excluded correlation with most of the analysed traits, except the number of unproductive tillers. Statistical analysis showed no influence of the crossing direction on the agronomic parameters of the studied populations obtained from interspecies crossing.

**Author Contributions:** Conceptualisation and methodology, A.K., E.P.-G. and S.S.; investigation, A.K.; resources E.P.-G.; writing—original draft preparation, A.K.; writing—review and editing, E.P.-G. and S.S.; visualisation, S.S.; All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research received no external funding.

**Institutional Review Board Statement:** Not applicable.

**Data Availability Statement:** Not applicable.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results.

## References

- Baum, B.R. *Oats: Wild and Cultivated: A Monograph of the Genus Avena L. (Poaceae)*; Monograph; Supply and Service Canada: Ottawa, ON, Canada, 1977.
- Loskutov, I.G. On Evolutionary Pathways of *Avena* Species. *Genet. Resour. Crop Evol.* **2008**, *55*, 211–220. [[CrossRef](#)]
- Bajwa, A.A.; Akhter, M.J.; Iqbal, N.; Peerzada, A.M.; Hanif, Z.; Manalil, S.; Hashim, S. Biology and Management of *Avena fatua* and *Avena ludoviciana*: Two Noxious Weed Species of Agro-Ecosystems. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2017**, *24*, 19465–19479. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Holm, L.G.; Plucknett, D.L.; Pancho, J.V.; Herberger, J.P. *The World's Worst Weeds. Distribution and Biology*; The University Press of Hawaii: Honolulu, HI, USA, 1991.
- Adamczewski, K.; Kierzek, R.; Matysiak, K. Wild Oat (*Avena fatua* L.) Biotypes Resistant to Acetolactate Synthase and Acetyl-CoA Carboxylase Inhibitors in Poland. *Plant Soil Environ.* **2013**, *59*, 432–437. [[CrossRef](#)]
- Owen, M.J.; Powles, S.B. Distribution and Frequency of Herbicide-Resistant Wild Oat (*Avena* spp.) across the Western Australian Grain Belt. *Crop Pasture Sci.* **2009**, *60*, 25–31. [[CrossRef](#)]
- Thill, D.C.; O'Donovan, J.T.; Mallory-Smith, C.A. Integrated Weed Management Strategies for Delaying Herbicide Resistance in Wild Oats. *Phytoprotection* **1994**, *75*, 61. [[CrossRef](#)]
- Carsten, L.D.; Maxwell, B.; Johnston, M.R.; Sands, D.C. Impact of Crown Rust (*Puccinia coronata* f. sp. *Avenae*) on Competitive Interactions between Wild Oats (*Avena fatua*) and Stipa (*Nassella pulchra*). *Biol. Control* **2001**, *22*, 207–218. [[CrossRef](#)]
- Stokłosa, A. Influence of Light and Temperature on Germination of Wild Oat [*Avena fatua* L.] Varieties. *Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska. Sect. E Agric.* **2007**, *LXII*, 59–69. [[CrossRef](#)]
- Briggle, L.W.; Youngs, V.I. Collection and Evaluation of *Avena fatua* L. *Oat. Newsl.* **1975**, *25*, 9–10.
- Luby, J.J.; Stuthman, D.D. Evaluation of *Avena sativa* L./*A. fatua* L. Progenies for Agronomic and Grain Quality Characters. *Crop Sci.* **1983**, *23*, 1047–1052. [[CrossRef](#)]
- Mohamed, M.A.; Mohamed, T.M.; Mohamed, S.A.; Fahmy, A.S. Distribution of Lipases in the Gramineae. Partial Purification and Characterization of Esterase from *Avena fatua*. *Bioresour. Technol.* **2000**, *73*, 227–234. [[CrossRef](#)]
- Sosulski, F.W.; Sosulski, K. Processing and Composition of Wild Oat Groats (*Avena fatua* L.). *J. Food Eng.* **1985**, *4*, 189–203. [[CrossRef](#)]
- Morikawa, T.; Sumiya, M.; Kuriyama, S. Transfer of New Dwarfing Genes from the Weed Species *Avena fatua* into Cultivated Oat *A. byzantina*. *Plant Breed.* **2007**, *126*, 30–35. [[CrossRef](#)]
- Rines, H.W.; Stuthman, D.D.; Briggle, L.W.; Youngs, V.I.; Jedlinski, H.; Smith, D.H.; Webster, J.A.; Rothman, P.G. Collection and Evaluation of *Avena fatua* for Use in Oat Improvement. *Crop Sci.* **1980**, *20*, 63–68. [[CrossRef](#)]
- Paczos-Grzęda, E.; Sowa, S.; Koroluk, A.; Langdon, T. Characteristics of Resistance to *Puccinia coronata* f. sp. *Avenae* in *Avena fatua*. *Plant Dis.* **2018**, *102*, 2616–2624. [[CrossRef](#)]
- Okoń, S.M.; Chrzastek, M.; Kowalczyk, K.; Koroluk, A. Identification of New Sources of Resistance to Powdery Mildew in Oat. *Eur. J. Plant Pathol.* **2014**, *139*, 9–12. [[CrossRef](#)]
- Paczos-Grzęda, E. Pedigree, RAPD and Simplified AFLP-Based Assessment of Genetic Relationships among *Avena sativa* L. Cultivars. *Euphytica* **2004**, *138*, 13–22. [[CrossRef](#)]
- Paczos-Grzęda, E. Wykorzystanie Metod ISSR i RAPD Oraz Analizy Rodowodów Do Oceny Podobieństwa Międzyodmianowego *Avena sativa* (*Avena sativa* Cultivars Similarity Estimation Based on RAPD and ISSR Methods and Pedigree Analysis). *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* **2007**, *517*, 547–558.
- Boczkowska, M.; Harasimiuk, M.; Onyśk, A. Studies on Genetic Variation within Old Polish Cultivars of Common Oat. *Cereal Res. Commun.* **2015**, *43*, 12–21. [[CrossRef](#)]
- Boczkowska, M.; Onyśk, A. Unused Genetic Resources: A Case Study of Polish Common Oat Germplasm. *Ann. Appl. Biol.* **2016**, *169*, 155–165. [[CrossRef](#)]
- Boczkowska, M.; Łapiński, B.; Kordulasińska, I.; Dostatny, D.F.; Czembor, J.H. Promoting the Use of Common Oat Genetic Resources through Diversity Analysis and Core Collection Construction. *PLoS ONE* **2016**, *11*, e0167855. [[CrossRef](#)]
- Montilla-Bascón, G.; Sánchez-Martín, J.; Rispaíl, N.; Rubiales, D.; Mur, L.; Langdon, T.; Griffiths, I.; Howarth, C.; Prats, E. Genetic Diversity and Population Structure Among Oat Cultivars and Landraces. *Plant Mol. Biol. Report.* **2013**, *31*, 1305–1314. [[CrossRef](#)]
- Koroluk, A.; Paczos-Grzęda, E.; Sowa, S.; Boczkowska, M.; Toporowska, J. Diversity of Polish Oat Cultivars with a Glance at Breeding History and Perspectives. *Agronomy* **2022**, *12*, 2423. [[CrossRef](#)]
- Rajhathy, T.; Thomas, H. Cytogenetics of Oats. *Misc. Publ. Genet. Soc. Can.* **1974**, *2*, 1–90.
- Summers, R.W.; Brown, J.K.M. Constraints on Breeding for Disease Resistance in Commercially Competitive Wheat Cultivars. *Plant Pathol.* **2013**, *62*, 115–121. [[CrossRef](#)]
- Li, Y.; Shi, F.; Lin, Z.; Robinson, H.; Moody, D.; Rattey, A.; Godoy, J.; Mullan, D.; Keeble-Gagnere, G.; Hayden, M.J.; et al. Benefit of Introgression Depends on Level of Genetic Trait Variation in Cereal Breeding Programmes. *Front. Plant Sci.* **2022**, *13*, 1926. [[CrossRef](#)]
- Boczkowska, M.; Podyma, W.; Łapiński, B. Oat. In *Genetic and Genomic Resources for Grain Cereals Improvement*; Singh, M., Upadhyaya, H.D., Eds.; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2016; pp. 159–225. ISBN 9780128020005.
- Chrzastek, M.; Paczos-Grzęda, E. Molecular and Cytogenetic Analysis and Estimation of Some Quantitative Traits of Interspecific Hybrids *Avena sativa* L. × *Avena fatua* L. *Biul. Inst. Hod. Aklim. Roślin* **2003**, *230*, 387–397.

30. Paczos-Grzęda, E. Characterization of Some Quantitative Traits in Interspecific Hybrids of Hexaploid Oat *Avena sativa* L. × *Avena sterilis* L. and Initial Forms. *Biul. Inst. Hod. Aklim. Roślin* **2003**, *229*, 33–41.
31. Chrzęstek, M.; Kruk, K.; Wojtowicz, E. Effect of Male Genotype on Pollen Viability and Some Yield Related Traits of Interspecific Hybrids *Avena sativa* L. Cv. Borowiak × *Avena sterilis* L. *Biul. Inst. Hod. Aklim. Roślin* **2009**, *252*, 245–253.
32. Milczarski, P. Identification of QTL Determining Flag Leaf Length in Two Rye Mapping Populations *Secale cereale* L. *Biul. Inst. Hod. Aklim. Roślin* **2008**, *250*, 203–209.
33. TIBCO Software Inc. Statistica (Data Analysis Software System), Version 13. 2017. Available online: [Http://Statistica.io](http://Statistica.io) (accessed on 5 September 2022).
34. Hammer, Ø.; Harper, D.A.T.; Ryan, P.D. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontol. Electron.* **2001**, *4*, 1–9.
35. Okoń, S.M.; Ociepa, T.; Paczos-Grzęda, E.; Ladizinsky, G. Evaluation of Resistance to *Blumeria graminis* (DC.) f. sp. *Avenae*, in *Avena murphyi* and *A. magna* Genotypes. *Crop Prot.* **2018**, *106*, 177–181. [[CrossRef](#)]
36. Sowa, S.; Paczos-Grzęda, E.; Koroluk, A.; Okoń, S.; Ostrowska, A.; Ociepa, T.; Chrzęstek, M.; Kowalczyk, K. Resistance to *Puccinia coronata* f. sp. *Avenae* in *Avena magna*, *A. murphyi*, and *A. insularis*. *Plant Dis.* **2016**, *100*, 1184–1191. [[CrossRef](#)]
37. Paczos-Grzęda, E.; Boczkowska, M.; Sowa, S.; Koroluk, A.; Toporowska, J. Hidden Diversity of Crown Rust Resistance within Genebank Resources of *Avena sterilis* L. *Agronomy* **2021**, *11*, 315. [[CrossRef](#)]
38. Paczos-Grzęda, E.; Sowa, S.; Boczkowska, M.; Langdon, T. Detached Leaf Assays for Resistance to Crown Rust Reveal Diversity within Populations of *Avena sterilis* L. *Plant Dis.* **2019**, *103*, 832–840. [[CrossRef](#)]
39. Harlan, J.R.; de Wet, J.M.J. Toward a Rational Classification of Cultivated Plants. *Taxon* **1971**, *20*, 509–517. [[CrossRef](#)]
40. Aung, T.; Chong, J.; Leggett, M. The Transfer of Crown Rust Resistance *Pc94* from a Wild Diploid to Cultivated Hexaploid Oat. In Proceedings of the 9th International European and Mediterranean Cereal Rust and Powdery Mildews Conference 2–6 September 1996; Kema, G.H.J., Niks, R.E., Daamen, R.A., Eds.; Wageningen, European and Mediterranean Cereal Rust Foundation: Lunteren, The Netherlands, 1996; pp. 167–171.
41. Rajkumara, S. Lodging in Cereals—A Review. *Agric. Rev.* **2008**, *29*, 55–60.
42. Marshall, H.G.; Murphy, C.F. Inheritance of Dwarfness in Three Oat Crosses and Relationship of Height to Panicle and Culm Length. *Crop Sci.* **1981**, *21*, 335–338. [[CrossRef](#)]
43. Flintham, J.E.; Börner, A.; Worland, A.J.; Gale, M.D. Optimizing Wheat Grain Yield: Effects of Rht (Gibberellin-Insensitive) Dwarfing Genes. *J. Agric. Sci.* **1997**, *128*, 11–25. [[CrossRef](#)]
44. Yan, H.; Yu, K.; Xu, Y.; Zhou, P.; Zhao, J.; Li, Y.; Liu, X.; Ren, C.; Peng, Y. Position Validation of the Dwarfing Gene *Dw6* in Oat (*Avena sativa* L.) and Its Correlated Effects on Agronomic Traits. *Front. Plant Sci.* **2021**, *12*, 1–13. [[CrossRef](#)]
45. Milacha, S.C.K.; Rines, H.W.; Phillips, R.L. Plant Height Components and Gibberellic Acid Response of Oat Dwarf Lines. *Crop Sci.* **2002**, *42*, 1147–1154. [[CrossRef](#)]
46. Berry, P.M.; Kendall, S.; Rutterford, Z.; Orford, S.; Griffiths, S. Historical Analysis of the Effects of Breeding on the Height of Winter Wheat (*Triticum aestivum*) and Consequences for Lodging. *Euphytica* **2015**, *203*, 375–383. [[CrossRef](#)]
47. Beavis, W.D.; Frey, K.J. Expression of Nuclear-Cytoplasmic Interactions and Heterosis in Quantitative Traits of Oats (*Avena* spp.). *Euphytica* **1987**, *36*, 877–886. [[CrossRef](#)]
48. Simons, M.D. Association of Host Cytoplasm with Reaction to *Puccinia Coronata* in Progeny of Crosses between Wild and Cultivated Oats. *Plant Dis.* **1985**, *69*, 969–971. [[CrossRef](#)]
49. Rezai, A.; Frey, K.J. Cytoplasmic Effect on Groat Protein Content in Interspecific Matings of *Avena sativa* L. and *A. sterilis* L. *J. Iowa Acad. Sci. JIAS* **1989**, *96*, 104–107.
50. Anderson, J.T.; Wagner, M.R.; Rushworth, C.A.; Prasad, K.V.S.K.; Mitchell-Olds, T. The Evolution of Quantitative Traits in Complex Environments. *Heredity* **2014**, *112*, 4–12. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
51. Canales, F.J.; Montilla-Bascón, G.; Bekele, W.A.; Howarth, C.J.; Langdon, T.; Rispaill, N.; Tinker, N.A.; Prats, E. Population Genomics of Mediterranean Oat (*A. sativa*) Reveals High Genetic Diversity and Three Loci for Heading Date. *Theor. Appl. Genet.* **2021**, *134*, 2063–2077. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
52. Xu, Y.F.; Li, S.S.; Li, L.H.; Ma, F.F.; Fu, X.Y.; Shi, Z.L.; Xu, H.X.; Ma, P.T.; An, D.G. QTL Mapping for Yield and Photosynthetic Related Traits under Different Water Regimes in Wheat. *Mol. Breed.* **2017**, *37*, 34. [[CrossRef](#)]
53. Poormohammad Kiani, S.; Maury, P.; Sarrafi, A.; Grieu, P. QTL Analysis of Chlorophyll Fluorescence Parameters in Sunflower (*Helianthus annuus* L.) under Well-Watered and Water-Stressed Conditions. *Plant Sci.* **2008**, *175*, 565–573. [[CrossRef](#)]
54. Tondelli, A.; Francia, E.; Visioni, A.; Comadran, J.; Mastrangelo, A.M.; Akar, T.; Al-Yassin, A.; Ceccarelli, S.; Grandi, S.; Benbelkacem, A.; et al. QTLs for Barley Yield Adaptation to Mediterranean Environments in the “Nure” × “Tremois” Biparental Population. *Euphytica* **2014**, *197*, 73–86. [[CrossRef](#)]
55. Mackay, I.J.; Cockram, J.; Howell, P.; Powell, W. Understanding the Classics: The Unifying Concepts of Transgressive Segregation, Inbreeding Depression and Heterosis and Their Central Relevance for Crop Breeding. *Plant Biotechnol. J.* **2021**, *19*, 26–34. [[CrossRef](#)]

## **8. Oświadczenia doktoranta i współautorów dotyczące ich wkładu w przygotowanie publikacji wchodzących w skład rozprawy doktorskiej**

---

- P.1. Koroluk A., Paczos-Grzęda E.\*, Sowa S., Boczkowska M., Toporowska J. 2022.**  
Diversity of Polish oat cultivars with a glance at breeding history and perspectives.  
Agronomy-Basel 12(10), 2423. DOI: 10.3390/agronomy12102423.

**IF: 3,7; MEiN: 100 pkt**

Lublin, 5.02.2024 r.

mgr inż. Aneta Koroluk  
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie  
Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin  
ul. Akademicka 15, 20-950 Lublin  
aneta.koroluk@up.lublin.pl

**Rada Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo**  
**Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie**

### **Oświadczenie o współautorstwie**

Niniejszym oświadczam, że w pracy:

Koroluk A, Paczos-Grzęda E.\*, Sowa S., Boczkowska M., Toporowska J. 2022.  
Diversity of Polish oat cultivars with a glance at breeding history and perspectives.  
Agronomy-Basel 12(10), 2423. DOI: 10.3390/agronomy12102423.

mój wkład polegał na udziale w opracowaniu koncepcji badań i formułowaniu hipotezy badawczej. Przygotowałam i pobierałam materiał roślinny, przeprowadziłam izolację DNA, ocenę jego parametrów oraz analizy molekularne. Brałam udział w procesie analizy statystycznej uzyskanych danych oraz uczestniczyłam w tworzeniu pierwotnej wersji manuskryptu. Mój udział procentowy szacuję na 50%.

Aneta Koroluk

.....  
mgr inż. Aneta Koroluk



Lublin, 5.02.2024 r.

dr hab. Edyta Paczos-Grzęda, prof. uczelni  
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie  
Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin  
ul. Akademicka 15, 20-950 Lublin  
81 445 68-66, edyta.paczos@up.lublin.pl

**Rada Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo**

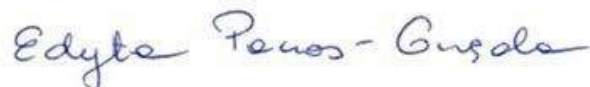
**Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie**

### **Oświadczenie o współautorstwie**

Niniejszym oświadczam, że w pracy:

Koroń A, Paczos-Grzęda E.\*, Sowa S., Boczkowska M., Toporowska J. 2022.  
Diversity of Polish oat cultivars with a glance at breeding history and perspectives.  
Agronomy-Basel 12(10), 2423. DOI: 10.3390/agronomy12102423.

mój wkład polegał na udziale w opracowaniu koncepcji badań, formułowaniu hipotezy badawczej, analizie uzyskanych danych oraz redagowaniu manuskryptu. Mój udział procentowy szacuję na 25%.



.....

dr hab. Edyta Paczos-Grzęda, prof. uczelni



Lublin, 5.02.2024 r.

dr Sylwia Sowa  
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie  
Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin  
ul. Akademicka 15, 20-950 Lublin  
sylwia.sowa@up.lublin.pl

**Rada Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo**

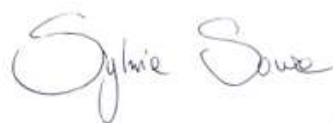
**Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie**

### **Oświadczenie o współautorstwie**

Niniejszym oświadczam, że w pracy:

Korołuk A, Paczos-Grzęda E.\*, Sowa S., Boczowska M., Toporowska J. 2022.  
Diversity of Polish oat cultivars with a glance at breeding history and perspectives.  
Agronomy-Basel 12(10), 2423. DOI: 10.3390/agronomy12102423.

mój wkład polegał na udziale w analizie statystycznej uzyskanych danych oraz redagowaniu manuskryptu. Mój udział procentowy szacuję na 10%.



.....  
dr Sylwia Sowa

Lublin, 5.02.2024 r.

mgr inż. Joanna Lech (Toporowska)  
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie  
Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin  
ul. Akademicka 15, 20-950 Lublin  
joanna.toporowska@up.lublin.pl

**Rada Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo**

**Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie**

### **Oświadczenie o współautorstwie**

Niniejszym oświadczam, że w pracy:

Korołuk A, Paczos-Grzęda E.\*, Sowa S., Boczowska M., Toporowska J. 2022.  
Diversity of Polish oat cultivars with a glance at breeding history and perspectives.  
Agronomy-Basel 12(10), 2423. DOI: 10.3390/agronomy12102423.

mój wkład polegał na współudziale w przygotowaniu i pobieraniu materiału roślinnego oraz izolacji DNA i ocenie jego parametrów. Mój udział procentowy szacuję na 5%.



.....

mgr inż. Joanna Lech (Toporowska)



**INSTYTUT HODOWLI I AKLIMATYZACJI ROŚLIN**  
**PAŃSTWOWY INSTYTUT BADAWCZY**  
**PLANT BREEDING AND ACCLIMATIZATION INSTITUTE**  
**NATIONAL RESEARCH INSTITUTE**

tel.centrala: +(4822)7253611, fax: +(4822)7254714, e-mail: [postbox@ihar.edu.pl](mailto:postbox@ihar.edu.pl),  
<http://www.ihar.edu.pl>, REGON 000079480, NIP 529-000-70-29, KRS 0000074008  
Nr konta: PEKAO I/O Błonie, 54 1240 2164 1111 0000 3561 7204

**Krajowe Centrum Roślinnych Zasobów Genowych**  
PL 05-870 Błonie, Radzików  
tel. +(4822) 733 46 50

Radzików, 08-02-2024

dr hab. Maja Boczkowska, prof. Instytutu  
Krajowe Centrum Roślinnych Zasobów Genowych  
Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin  
Radzików, 05-870 Błonie  
Tel. 22 7253611, [m.boczkowska@ihar.edu.pl](mailto:m.boczkowska@ihar.edu.pl)

**Rada Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo**  
**Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie**

**Oświadczenie o współautorstwie**

Niniejszym oświadczam, że w pracy:

Koroluk A, Paczos-Grzęda E.\*, Sowa S., Boczkowska M., Toporowska J. 2022.  
Diversity of Polish oat cultivars with a glance at breeding history and perspectives.  
Agronomy-Basel 12(10), 2423. DOI: 10.3390/agronomy12102423.

mój wkład polegał na udziale w analizie statystycznej uzyskanych danych oraz redagowaniu manuskryptu. Mój udział procentowy szacuję na 10%.

Dokument podpisany przez  
Maja Boczkowska  
Data: 2024.02.08 17:04:50  
CET

.....  
dr hab. Maja Boczkowska, prof. Instytutu

**P.2. Koroluk A., Sowa S., Boczkowska M., Paczos-Grzęda E.\* 2023. Utilizing Genomics to Characterize the Common Oat Gene Pool—the Story of More than a Century of Polish Breeding. Int. J. Mol. Sci. 24(7), 6547. DOI: 10.3390/ijms24076547.**

**IF: 5,6; MEiN: 140 pkt**

Lublin, 5.02.2024 r.

mgr inż. Aneta Koroluk  
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie  
Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin  
ul. Akademicka 15, 20-950 Lublin  
aneta.koroluk@up.lublin.pl

**Rada Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo**  
**Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie**

**Oświadczenie o współautorstwie**

Niniejszym oświadczam, że w pracy:

**Koroluk A., Sowa S., Boczowska M., Paczos-Grzęda E.\* 2023. Utilizing Genomics to Characterize the Common Oat Gene Pool—the Story of More than a Century of Polish Breeding. Int. J. Mol. Sci. 24(7), 6547. DOI: 10.3390/ijms24076547.**

mój wkład polegał na współudziale w tworzeniu koncepcji badań; zaplanowaniu doświadczenia i przeprowadzeniu analiz laboratoryjnych obejmujących przygotowanie i pobieranie materiału roślinnego, izolację DNA, ocenę parametrów ilościowych i jakościowych uzyskanych preparatów oraz przygotowanie materiału do wysyłki w celu przeprowadzenia analiz przez firmę zewnętrzną. Uczestniczyłam w analizie statystycznej uzyskanych danych oraz stworzyłam pierwotną wersję manuskryptu. Mój udział procentowy szacuję na 50%.

Aneta Koroluk

.....

mgr inż. Aneta Koroluk

Lublin, 5.02.2024 r.

dr Sylwia Sowa  
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie  
Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin  
ul. Akademicka 15, 20-950 Lublin  
sylwia.sowa@up.lublin.pl

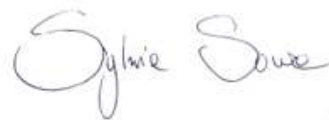
**Rada Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo**  
**Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie**

### **Oświadczenie o współautorstwie**

Niniejszym oświadczam, że w pracy:

Koroluk A., Sowa S., Boczkowska M., Paczos-Grzęda E.\* 2023. Utilizing Genomics to Characterize the Common Oat Gene Pool—the Story of More than a Century of Polish Breeding. *Int. J. Mol. Sci.* 24(7), 6547. DOI: 10.3390/ijms24076547.

mój wkład polegał na udziale w analizie statystycznej uzyskanych danych oraz redagowaniu ostatecznej wersji manuskryptu. Mój udział procentowy szacuję na 15%.



.....

dr Sylwia Sowa

Lublin, 5.02.2024 r.

dr hab. Edyta Paczos-Grzęda, prof. uczelni  
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie  
Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin  
ul. Akademicka 15, 20-950 Lublin  
81 445 68-66, edyta.paczos@up.lublin.pl

**Rada Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo  
Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie**

**Oświadczenie o współautorstwie**

Niniejszym oświadczam, że w pracy:

Koroluk A., Sowa S., Boczkowska M., Paczos-Grzęda E.\* 2023. Utilizing Genomics to Characterize the Common Oat Gene Pool—the Story of More than a Century of Polish Breeding. *Int. J. Mol. Sci.* 24(7), 6547. DOI: 10.3390/ijms24076547.

mój wkład polegał na udziale w opracowaniu koncepcji badań, formułowaniu hipotezy badawczej, analizie uzyskanych danych oraz redagowaniu i przygotowaniu ostatecznej wersji manuskryptu. Mój udział procentowy szacuję na 20%.



.....  
dr hab. Edyta Paczos-Grzęda, prof.. uczelni





**INSTYTUT HODOWLI I AKLIMATYZACJI ROŚLIN**  
**PAŃSTWOWY INSTYTUT BADAWCZY**  
**PLANT BREEDING AND ACCLIMATIZATION INSTITUTE**  
**NATIONAL RESEARCH INSTITUTE**

tel.centrala: +(4822)7253611, fax: +(4822)7254714, e-mail: [postbox@ihar.edu.pl](mailto:postbox@ihar.edu.pl),  
<http://www.ihar.edu.pl>, REGON 000079480, NIP 529-000-70-29, KRS 0000074008  
Nr konta: PEKAO I/O Błonie, 54 1240 2164 1111 0000 3561 7204

**Krajowe Centrum Roślinnych Zasobów Genowych**  
PL 05-870 Błonie, Radzików  
tel. +(4822) 733 46 50

Radzików, 08-02-2024

dr hab. Maja Boczkowska, prof. Instytutu  
Krajowe Centrum Roślinnych Zasobów Genowych  
Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin  
Radzików, 05-870 Błonie  
Tel. 22 7253611, [m.boczkowska@ihar.edu.pl](mailto:m.boczkowska@ihar.edu.pl)

**Rada Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo**  
**Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie**

**Oświadczenie o współautorstwie**

Niniejszym oświadczam, że w pracy:

Koroluk A., Sowa S., Boczkowska M., Paczos-Grzęda E.\* 2023. Utilizing Genomics to Characterize the Common Oat Gene Pool—the Story of More than a Century of Polish Breeding. *Int. J. Mol. Sci.* 24(7), 6547. DOI: 10.3390/ijms24076547.

mój wkład polegał na udziale w analizie statystycznej uzyskanych danych oraz redagowaniu manuskryptu. Mój udział procentowy szacuję na 15%.

Dokument podpisany  
przez Maja Boczkowska  
Data: 2024.02.08 17:04:33  
CET

dr hab. Maja Boczkowska, prof. Instytutu

**P.3.** Koroluk A., Sowa S., Paczos-Grzęda E.\* 2022. Characteristics of progenies derived from bidirectional *Avena sativa* L. and *Avena fatua* L. crosses. Agriculture 12(11), 1758. DOI: 10.3390/agriculture121117

**IF: 3,6; MEiN: 100 pkt**

Lublin, 5.02.2024 r.

mgr inż. Aneta Koroluk  
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie  
Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin  
ul. Akademicka 15, 20-950 Lublin  
aneta.koroluk@up.lublin.pl

**Rada Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo  
Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie**

**Oświadczenie o współautorstwie**

Niniejszym oświadczam, że w pracy:

Koroluk A., Sowa S., Paczos-Grzęda E.\* 2022. Characteristics of progenies derived from bidirectional *Avena sativa* L. and *Avena fatua* L. crosses. Agriculture 12(11), 1758. DOI: 10.3390/agriculture121117

mój wkład polegał na udziale w opracowaniu koncepcji badań, zaplanowaniu i przeprowadzeniu eksperymentu polowego, pielęgnacji roślin w trakcie wegetacji, ocenie cech plonotwórczych roślin w warunkach polowych oraz po zbiorze. Byłam zaangażowana w proces analizy statystycznej uzyskanych danych oraz pisanie manuskryptu. Mój udział procentowy szacuję na 60%.



.....

mgr inż. Aneta Koroluk

Lublin, 5.02.2024 r.

dr Sylwia Sowa  
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie  
Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin  
ul. Akademicka 15, 20-950 Lublin  
sylwia.sowa@up.lublin.pl

**Rada Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo**  
**Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie**

### **Oświadczenie o współautorstwie**

Niniejszym oświadczam, że w pracy:

Koroluk A., Sowa S., Paczos-Grzęda E.\* 2022. Characteristics of progenies derived from bidirectional *Avena sativa* L. and *Avena fatua* L. crosses. *Agriculture* 12(11), 1758. DOI: 10.3390/agriculture121117

mój wkład polegał na udziale w analizie statystycznej uzyskanych danych oraz redagowaniu ostatecznej wersji manuskryptu. Mój udział procentowy szacuję na 15%.



.....

dr Sylwia Sowa

Lublin, 5.02.2024 r.

dr hab. Edyta Paczos-Grzęda, prof. uczelni  
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie  
Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin  
ul. Akademicka 15, 20-950 Lublin  
81 445 68-66, edyta.paczos@up.lublin.pl

**Rada Dyscypliny Rolnictwo i Ogrodnictwo  
Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie**

### **Oświadczenie o współautorstwie**

Niniejszym oświadczam, że w pracy:

Koroluk A., Sowa S., Paczos-Grzęda E.\* 2022. Characteristics of progenies derived from bidirectional *Avena sativa* L. and *Avena fatua* L. crosses. *Agriculture* 12(11), 1758. DOI: 10.3390/agriculture121117

mój wkład polegał na udziale w opracowaniu koncepcji badań, formułowaniu hipotezy badawczej, analizie uzyskanych danych oraz redagowaniu i przygotowaniu ostatecznej wersji manuskryptu. Mój udział procentowy szacuję na 25%.



.....

dr hab. Edyta Paczos-Grzęda, prof. uczelni