

pieczętka

**SPRAWOZDANIE O STANIE REALIZACJI ZADANIA**  
z wykonania badań podstawowych na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej  
w 2011 roku

1. Nr decyzji MRiRW: **HOR hn 801-7/11 zadanie nr 47**
2. Nazwa tematu: **Profilowanie molekularne metodą DArT odmian i linii owsa zwyczajnego wykorzystywanych w hodowli twórczej oraz wyprowadzenie populacji mapujących**
3. Podmiot realizujący temat: Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin
4. Wydział/Pracownia/ Pracownicy: Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin
5. Kierownik tematu (zgodnie z kartą tematu): Edyta Paczos-Grzęda, dr  
Wykonawcy: Piotr Tomasz Bednarek, dr hab., prof. IHAR
6. **Informacja o realizacji prac w roku 2011**

a) Materiały i metody:

**Materiał badań**

Materiał badań do analizy polimorfizmu metodą DArT stanowiły odmiany i linie owsa zwyczajnego wytypowane do analiz przez spółki: DANKO, Małopolska Hodowla Roślin i HR Strzelce. Wyznacznikiem doboru form miały być:

- wyrównanie - formy miały reprezentować co najmniej pokolenie F6
- użyteczność w dotychczasowej hodowli
- perspektywiczność

Szczególnie pożądane były formy rodzicielskie dobrych odmian, zarówno polskie linie i odmiany, jak i odmiany zagraniczne.

Ponadto do analizy włączono:

- wszystkie odmiany wyhodowane w Polsce po roku 1977
- mieszańce z *A. macrostachya* dostarczone przez dr Łapińskiego
- formy rodzicielskie populacji mapującej Kanota x Ogle
- kilka odmian, bądź linii niosących geny karłowatości Dw4, Dw6 i Dw7

W sumie wybrano 342 odmiany i linie owsa zwyczajnego (Tab. 1). Spośród obiektów zgłoszonych do badań usunięto formy powtarzające się – zgłoszone przez dwie lub nawet trzy spółki hodowlane. Listę usuniętych form przedstawiono w tabeli 2.

Drugim zadaniem projektu jest wyprowadzenie populacji mapujących.

Poszczególne spółki wytypowały do krzyżowań pod kątem populacji mapujących następujące formy:

**DANKO:**

- DC 1193/04
- DC 1776/04
- DC 2648/04
- DC 1832/05

DC 1852/05  
DC 2112/05  
Rajtar  
Breton

#### **HR Strzelce**

Bingo  
STH 8827  
STH 9210

#### **Małopolska Hodowla Roślin:**

Celer

Do krzyżowań włączono również szczególnie interesujące materiały własne oraz dostarczone przez hodowców w latach poprzednich.

### **Metody**

#### **Doświadczenie polowe**

Warunki i lokalizacja doświadczenia polowego obejmującego formy wytypowane do analiz przez poszczególne spółki były następujące:

- D1 - D110 - Danko - 1 rządkowe poletka długości 1m (siew rzadki 10 ziarniaków/m) - Gospodarstwo Doświadczalne UP w Lublinie w Czesławicach k/Nałęczowa

- S1 - S135 - HR Strzelce - 1 rządkowe poletka długości 1m (siew rzadki 10 ziarniaków/m) hala wegetacyjna HR Strzelce w Strzelcach

- P1 - P124 - Małopolska Hodowla Roślin – 4 rządkowe poletka długości 1 m w siewie gęstym, Polanowice

W fazie krzewienia roślin pobierano fragmenty młodych liści w celu izolacji DNA. Ok. 100 mg tkanki umieszczano w probówkach Eppendorfa o objętości 2 ml i zamrażano w temp. -70 °C do czasu izolacji DNA. Materiał z każdej rośliny pobierano w trzech powtórzeniach.

Rośliny tuż przed kwitnieniem izolowano, w celu niedopuszczenia do obcozapylenia. Zabezpieczano je również przed wyleganiem. Po osiągnięciu dojrzałości woskowej ziarniaki zbierano i traktowano jako reprezentację poszczególnych genotypów.

Z uwagi na to, że analizowane materiały rosły w trzech różnych lokalizacjach, w odmiennych warunkach, nie dokonano oceny fenotypowej. Doświadczenie takie zostanie założone w jednolitych warunkach w przyszłym roku.

#### **Izolacja DNA**

DNA izolowano z pojedynczych roślin reprezentujących 342 formy stosując standardowy zestaw GeneMatrix Plant and Fungi DNA Isolation Kit (EURx) zgodnie z procedurą opisaną przez producenta zestawu. Do izolacji wykorzystano zamrożone wcześniej liście. Ocena stężenia preparatów wykonano spektrofotometrycznie (Nanodrop). Integralność i czystość preparatów DNA weryfikowano elektroforetycznie na żelu agarozowym.

### **Analizy DArT**

Po 2,5 µg DNA każdego preparatu wysłano na analizy DArT. Wyniki analiz uzyskano w postaci macierzy binarnych.

### **Analizy statystyczne**

Analizę skupień wykonano metodą najbliższych sąsiadów stosując dystans genetyczny obliczony wg Dice'a. Obliczenia wykonano w programie PAST (Hammer, Ø., Harper, D.A.T., and P. D. Ryan, 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica* 4(1): 9pp. <http://www.nhm.uio.no/norlex/past/pastmanual.pdf>). Wiarygodność grupowania oceniono poprzez bootstrapowanie.

Analizę składowych głównych (PCoA) wykonano również w programie PAST (Hammer, Ø., Harper, D.A.T., and P. D. Ryan, 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica* 4(1): 9pp. <http://www.nhm.uio.no/norlex/past/pastmanual.pdf>).

### **Wyprowadzenie populacji mapujących**

W roku bieżącym przeprowadzono krzyżowania mające na celu uzyskanie pokolenia F1 o zdefiniowanym pochodzeniu. Krzyżowanie takie dotyczyło par konkretnych osobników rodzicielskich, z których jednocześnie pobierany był materiał do izolacji DNA.

Zapylenie poszczególnych wiech powtarzano niekiedy kilkakrotnie na przestrzeni kilku dni w celu podniesienia efektywności krzyżowania. Utrudnieniem w uzyskiwaniu ziarniaków mieszańcowych z których mają być wyprowadzane populacje mapujące jest konieczność krzyżowania pojedynczych osobników, oznaczanie ich i pobieranie materiału do izolacji DNA. Ograniczeniem jest również czasem niedostępność pyłku, bądź brak synchronizacji kwitnienia roślin.

- b)** Szczegółowe omówienie wykonanych prac i uzyskanych wyników (łącznie dla wszystkich Pracowni realizujących temat).

Początkowo DNA izolowano metodą manualną rekomendowaną do analiz DArT przez DArT Technologies Ltd. Jednak po dostarczeniu materiału do wykonawcy okazało się, że DNA pewnej części genotypów nie spełnia wszystkich norm warunkujących poprawną analizę. Przeprowadzono ponowną izolację DNA stosując komercyjny zestaw do izolacji. Średnio, ze 100 mg świeżej tkanki roślinnej uzyskano po 20 µg DNA. Preparaty nie zawierały zanieczyszczeń RNA i nie wykazywały cech dezintegracji. Na bazie uzyskanych preparatów przeprowadzono profilowanie form owsa stosując metodę DArT. Wybór metody był podyktowany możliwością uzyskania wielu markerów molekularnych w wyniku jednokrotnej analizy.

Metoda DArT polega na trawieniu genomowego DNA enzymem restrykcyjnym PstI. Endonukleaza ta jest enzymem wrażliwym na metylację, co sprawia, że preferowane są te obszary genomowego DNA, które nie są metylowane. Do wolnych końców fragmentów DNA uwolnionych po restrykcji dołączane są adaptory. Adaptory to syntetyczne heterodupleksy o znanej sekwencji DNA. Stosując reakcję PCR uzyskane fragmenty wzmacnia się a następnie

hybrydyzuje z fluorescencyjnymi sondami nadrukowanymi na szkiełkach mikroskopowych. Wynik hybrydyzacji jest odczytywany za pomocą specjalnego czytnika a następnie transformowany do postaci binarnej.

Do identyfikacji markerów DArT wykorzystano macierz z 7680 sondami. Po usunięciu sygnałów niepewnych liczba markerów zmniejszyła się do niecałych 4000. Z kolei po redukcji sond na podstawie ich informatywności i powtarzalności pozostawiono początkowo 2144, potem 1521 markerów. Odrzucenie markerów redundantnych, czyli wykazujących ten sam typ segregacji zredukowało ilość analizowanych loci do prawie 800. Ostatecznie całość obliczeń dokonano dla matrycy utworzonej przez 793 markery.

Analiza skupień w oparciu o indeks Dice'a (Rys. 1) umożliwiła identyfikację trzech głównych skupień. Na podstawie współczynnika bootstrap stwierdzono, że dane są silnie strukturyzowane. Analiza genotypów poszczególnych skupień wykazała, że grupowanie odzwierciedla pochodzenie badanych form. I tak jedno ze skupień obejmowało formy pochodzące z Danko, kolejne – formy ze Strzelc. Trzecie, najbardziej zróżnicowane skupienie zawierało przede wszystkim owsy ozime, w głównej mierze pochodzące z Polanowic i od dr łąpińskiego.

Analiza składowych głównych (Rys. 2) wykazała, że badane formy owsa praktycznie nie podlegają różnicowaniu. Nieliczne obiekty grupowały się poza głównym skupieniem. Pewna grupa form nieznacznie odstawała od głównej grupy. Uzyskane grupowanie było warunkowane tylko 17% zmienności odpowiadające dwóm pierwszym składowym głównym. Niewielki procent zmienności tłumaczący obraz PCoA sugeruje, że struktura danych nie musi być silna.

## **PODSUMOWANIE ANALIZ DArT**

1. Metoda DArT pozwoliła na skuteczne różnicowanie udostępnionych do analiz form owsa.
2. W efekcie przeprowadzonych badań uzyskane zostały profile genetyczne analizowanych obiektów, które będą mogły stanowić podstawę do ich identyfikacji lub dokumentowania odrębności.
3. Możliwe jest wytypowanie obiektów stanowiących źródło unikalnych alleli oraz genotypów o bardzo dużym podobieństwie – duplikatów.
4. Można stwierdzić, że formy pochodzące z hodowli Strzelce oraz z hodowli Danko reprezentują w pewnym stopniu odrębne pule genetyczne, co wskazywałoby na zróżnicowanie wykorzystywanych do krzyżowań komponentów oraz odmienne cele hodowlane.
5. Określono również relacje podobieństwa pomiędzy poszczególnymi formami. Uzyskane wyniki stają się szczególnie cenne po skonfrontowaniu ich z pochodzeniem badanych form (rodowody oraz miejsce wyhodowania).
6. Dystans genetyczny oszacowany pomiędzy poszczególnymi parami genotypów będzie wartościowym wyznacznikiem przy typowaniu komponentów do krzyżowań mających na celu uzyskanie nowych odmian oraz doborze form rodzicielskich dla różnego rodzaju populacji mapujących.





W efekcie przeprowadzonych krzyżowań uzyskano 671 ziarniaków (Tab.3, Tab.4). Efektywność krzyżowania wyniosła 19,68%.

Na podstawie wyników DArT został określony dystans genetyczny pomiędzy krzyżowanymi formami (Tab. 5) oraz liczba loci je różnicująca (Tab. 6). Mieszańce charakteryzujące się największą liczbą takich loci – markerów (np. STH 9787 z DC 1832/05, DC 1852/05 czy DC 2112/05 powinny stanowić dobry materiał do prac hodowlanych, a jednocześnie zostaną przeznaczone do wyprowadzenia populacji mapujących.

W załączeniu tabele cytowane w tekście:

- Tab. 1. Odmiany i rody owsa przeznaczone do analiz DArT.
- Tab. 2. Powtarzające się rody/odmiany usunięte z analizy.
- Tab. 3. Kombinacje mieszańcowe uzyskane w roku 2011.
- Tab. 4. Kombinacje mieszańcowe uzyskane w roku 2011 z udziałem materiałów własnych.
- Tab. 5. Wartości dystansu genetycznego pomiędzy odmianami i liniami wytypowanymi jako formy rodzicielskie do krzyżowań w roku 2011.
- Tab. 6. Liczba loci DArT różnicująca formy rodzicielskie – potencjalnie segregujących u mieszańców.

Dostępne są również w wersji elektronicznej:

- matryca markerów i profili DArT
- matryca indeksów dystansu genetycznego

## TABELE CYTOWANE W TEKŚCIE

Tab. 1. Odmiany i rody owsa przeznaczone do analiz DArT.

Lp.	Oznaczenie prób	Ród/Odmiana	Pochodzenie	Numer alternatywny
1	1_D	DC 2359/03	Flipper * Szakal	
2	2_D	DC 1193/04	Flämingsplus * Bajka	
3	3_D	DC 1776/04	STH 190 * Flämingsstern	
4	4_D	DC 2648/04	Atego * CHD 2502	
5	5_D	DC 2746/04	(Coach * Arab) * Szakal	
6	6_D	DC 1832/05	Krezus * Rajtar	
7	7_D	DC 1852/05	(Coach * Chwat)* Szakal	
8	8_D	DC 2112/05	Flämingsprofi * CHD 2502	
9	9_D	DC 239/07	Arab * Chwat	
10	10_D	DC 2193/05	STH 6002 * Coach	
11	11_D	DC 2212/05	Coach * Krezus	
12	12_D	DC 2225/05	CHD 2903 * Rajtar	
13	13_D	DC 2232/05	Cwał * Flämingsprofi	
14	14_D	DC 2289/05	Krezus * Nelson	
15	15_D	DC 2298/05	Atego * Cwał	
16	16_D	DC 2386/05	(Krezus*Cwał) * Nelson	
17	17_D	DC 06011-8	Nelson * STH 29	
18	18_D	DC 06083	Duffy * Breton	
19	19_D	DC 06129	Breton * Flämingsprofi	
20	20_D	DC 06131	CHD 1438/00 * Nelson	
21	21_D	DC 06236	(Flämingsprofi * Furman)* Deresz	
22	22_D	DC 2973/03	STH 4999 * Sallust	
23	23_D	DC 2188/04	STH 3997 * Jakub	
24	24_D	DC 2215/04	Bullion * Mozart	
25	25_D	DC 2612/04	Samuel * STH 6202	
26	26_D	DC 2711/04	(Izak*Bullion)*Akt	
27	27_D	DC 1887/05	Lisbeth* Avenuda	
28	28_D	DC 2157/05	(POB-W 492/97* STH 7093)*Polar	
29	29_D	Nagus	Auron * POB-W 481/97	41 P
30	30_D	CHD 1430/02	Szakal * Caracas	
31	31_D	CHD 3757/02	Cwał * Chwat	
32	32_D	CHD 3804/02	Caracas* STH 4699	



Tab. 1. Odmiany i rody owsa przeznaczone do analiz DArT.(cd.)

Lp.	Oznaczenie prób	Ród/Odmiana	Pochodzenie	Numer alternatywny
33	33_D	CHD 3765/02	Kanton * Deresz	
34	34_D	CHD 2080/03	Aragon * Deresz	
35	35_D	CHD 2249/03	Coach * Szakal	
36	36_D	CHD 1375/00	(STH275/1/90*CHD692)*CHD 1236/91	
37	37_D	CHD 2502	POB-W*[Alfred*(Garland*C2)]	
38	38_D	Rp 8182		
39	39_D	Atego		3 P
40	40_D	Coach		
41	41_D	Flämingskurz		15 P
42	42_D	Flämingsprofi		
43	43_D	Fusch		
44	44_D	Kanton		24 P
45	45_D	Nordstern		31 P
46	46_D	Pogon	Niemcy	
47	47_D	Scorpion	Niemcy	12 S, 36 P
48	48_D	Belinda	Szwecja	10 S
49	49_D	Wendela	Szwecja	
50	50_D	Typhon		40 P
51	51_D	Vendelin	Słowacja	
52	52_D	Zvolen	Słowacja	
53	53_D	Ł 4154/07		
54	54_D	Ł 33/09		
55	55_D	Ł 36/09		
56	56_D	Ł 66/09		
57	57_D	Pergamon		
58	58_D	Buggy		7 P
59	59_D	Canyon		8 S, 12 P
60	60_D	Husky		23 P
61	61_D	Carron		9 P
62	62_D	Contender		9 S, 11 P
63	63_D	Flämingsgold		14 P
64	64_D	Rozmar	Słowacja	

Tab. 1. Odmiany irody owsa przeznaczone do analiz DArT.(cd.)

Lp.	Oznaczenie prób	Ród/Odmiana	Pochodzenie	Numer alternatywny
65	65_D	Valentin	Słowacja	
66	66_D	Caracas		8 P
67	67_D	Jumbo		
68	68_D	Radius		
69	69_D	CHD 3170/02	P(508) 19251/74 * CHD 1743	
70	70_D	CHD 3416/02	Sallust * Akt	
71	71_D	CHD 1408/05	(POB-W 481/97 * Jawor) * Akt	
72	72_D	Auron		4 P
73	73_D	Bullion		
74	74_D	DA 503-1 ©		
75	75_D	Izak		
76	76_D	Jakub		83 S
77	77_D	Lisbeth	Finlandia	
78	78_D	Magda		
79	79_D	Mozart		
80	80_D	Neon		
81	81_D	Rhiannon	Niemcy	
82	82_D	Sallust		
83	83_D	10026 CN		
84	84_D	Gosza	Białoruś	20 P
85	85_D	Detvan	Słowacja	84 S
86	86_D	CHD 2060/03	Neklan * Cwał	
87	87_D	Aragon		1 P
88	88_D	Expander		7 S
89	89_D	Jaycce	USA	
90	90_D	Nelson		29 P
91	91_D	Neklan		28 P
92	92_D	Swan Mut		
93	93_D	CHD 1377/05	Magda * STH 7106	
94	94_D	CHD 3047/03	Deresz * Tropicale	
95	95_D	CHD 3076/03	Creole * Noirine	
96	96_D	CHD 3843/02	(Finley * Deresz) * Tropicale	

Tab. 1. Odmiany i rody owsa przeznaczone do analiz DArT.(cd.)

Lp.	Oznaczenie prób	Ród/Odmiana	Pochodzenie	Numer alternatywny
97	97_D	CHD 2393/04	LP 2748 * Bajka	
98	98_D	LP 2748		
99	99_D	Noirine		
100	100_D	Tropicale		
101	101_D	Finley	Nowa Zelandia	
102	102_D	Zorro		
103	103_D	Belino II	Francja	
104	104_D	MG 0208.07		
105	105_D	MGH 61649		
106	106_D	MGH 6374		
107	107_D	Leo		
108	108_D	Monarch	Potato x Gopher; Austria	
109	109_D	CHD 2004/01	Lutz * Szakal	
110	110_D	Hill	Kanada	
111	13_P	K13	Edelprinz	
112	16_P	K16	Flamingstip	
113	17_P	K17	Flipper	
114	18_P	K18	Gere	
115	22_P	K22	Hurdal	
116	30_P	K30	Nes	
117	34_P	K34	Ringsaker	
118	35_P	K35	Siwek	
119	39_P	K39	Stork	
120	42_P	K42	Curly	
121	43_P	K43	formy ozime 1L	
122	44_P	K44	2L	
123	45_P	K45	3L	
124	46_P	K46	4L	
125	47_P	K47	5L	
126	48_P	K48	6L	
127	49_P	K49	7L	
128	50_P	K50	8L	

Tab. 1. Odmiany i rody owsa przeznaczone do analiz DArT.(cd.)

Lp.	Oznaczenie prób	Ród/Odmiana	Pochodzenie	Numer alternatywny
129	51_P	K51	9L	
130	53_P	K53	11L	
131	54_P	K54	12L	
132	55_P	K55	13L	
133	56_P	K56	14L	
134	59_P	K59	STH 9-32	
135	61_P	K61	STH 93-43	
136	62_P	K62	STH 0.8382	
137	63_P	K63	STH 0.8672	
138	64_P	K64	STH 0.9010	
139	65_P	K65	STH 0.9017	
140	66_P	K66	STH 0.9030	
141	67_P	K67	STH 0.9033	
142	68_P	K68	STH 0.9061	
143	82_P	K82	STH 0.9403	
144	87_P	9	STH 5242 x ds. 245/04	
145	88_P	26	(Farys x A.bizantinum) x Bohun	
146	89_P	195	Kasztan x Breton	
147	90_P	291	(Cwał x P1378811) x LDAP 1	
148	91_P	361	LDAP 2 x Bohun	
149	92_P	465	POB 11244/02 x POB 1467/01	
150	93_P	521	STH 657 x CHD 1277/02	
151	95_P	603	CHD 1329/03 x POB 1467/01	
152	96_P	642	CHD 1329/03 x POB 11072/01	
153	97_P	676	(Góral x A.bizantinum) x CHD 1382/02	
154	100_P	790	LDAP 8 x Bohun	
155	101_P	810	Flamingsprofi x Furman	
156	104_P	867	STH 502 x STH 467	
157	105_P	908	CHD 1329/03 x (Góral x A.bizantinum)	
158	106_P	963	STH 592 x Furman	
159	107_P	1036	Flamingsprofi x POB 11262	
160	108_P	1093	LDAP 9 x CHD 1262/04	

Tab. 1. Odmiany irody owsa przeznaczone do analiz DArT.(cd.)

Lp.	Oznaczenie prób	Ród/Odmiana	Pochodzenie	Numer alternatywny
161	110_P	1158	LDAP 11 x ( Borys x A.sterylis )	
162	111_P	1197	CHD 1263/04 x LDAP 1	
163	113_P	1230	CHD 1329/03 x LDAP 1	
164	114_P	1280	LDAP 6 x ( Góral x A.bizantinum )	
165	115_P	1316	POB 11244/02 x STH 5242	
166	118_P	1371	Kasztan x CHD 1601/04	
167	119_P	1396	( Góral x A.bizantinum ) x CHD 1382/02	
168	120_P	1421	LDAP 9 x CHD 1382/03	
169	122_P	1515	Krezus x ( Góral x A.bizantinum )	
170	123_P	1519	ds. 245/04 x STH 467	
171	124_P	1532	ds. 245/04 x STH 467	
172	1_S	Bingo	{Gramena x (( Dukat x ( Flamingsnowa x Swan mut.)) x{ Bandicot x (( Kondradin x( Flamingsnowa x Swan mut.))	5 P
173	2_S	Krezus	Góral x (( Flamingsnowa x Swan mut. ) x Dukat )	26 P
174	3_S	Bajka	KR 8543x [(Random x KR 316) x Perona]	
175	4_S	Sławko	Mustang x Swan mut.	
176	5_S	Chwat	Dukat x (Flamingsnowa x Swan mut.)	
177	6_S	Szakał	(Flamingsnowa x Swan mut.) x Dukat	
178	11_S	Milenium	Milenium	
179	14_S	Matilda	Matilda	18 S
180	15_S	SER 03079	SER 03079	
181	16_S	SER 20284	SER 20284	
182	17_S	Kasztan	Dawid x CHD 1685/84lub83	
183	19_S	STH 9010	STH 6804 x STH 15808	
184	20_S	STH 8-99	STH 1545 STH 15717	58 P
185	21_S	STH 9110	STH 5630 x Krezus	
186	22_S	STH 10-49	STH 5630 x Krezus	
187	23_S	Rp 8558	STH 5630 x CHD 1841/01	72 P
188	24_S	0.1192	Deresz x STH 15649	
189	25_S	0.1274	STH 6002 x STH 15717	
190	26_S	0.1879	Krezus x STH 3855	
191	27_S	Rp 8608	STH 740 x Sławko	73 P
192	28_S	0.2560	STH 745 x Bingo	

Tab. 1. Odmiany i rody owsa przeznaczone do analiz DArT.(cd.)

Lp.	Oznaczenie prób	Ród/Odmiana	Pochodzenie	Numer alternatywny
193	29_S	0.2891	Sławko x Chwat	
194	30_S	0.3068	Chwat x Szakal	
195	31_S	0.3109	Chwat x Sławko	
196	32_S	0.3161	Chwat x Bingo	
197	33_S	0.4044	Kasztan x Matilda	
198	34_S	0.4045	Kasztan x Matilda	
199	35_S	Rp 9002	Sławko x Chwat	
200	36_S	Rp 9008	Sławko x Matilda	
201	37_S	Rp 9010	Sławko x Matilda	
202	38_S	STH 99439	Sławko x Matilda	
203	39_S	0.2942	Sławko x Matilda	
204	40_S	DH3/20/8/1	Fl.stern x Chwat	
205	41_S	Rp 8329	Fl.stern x STH 676	69 P
206	42_S	Rp 8374	STH 657 x STH 656	70 P
207	43_S	Rp 8401	STH 98 x STH 15808	71 P
208	44_S	Rp 8658	Bajka x STH 676	74 P
209	45_S	Rp 8671	STH 5428 x Bingo	75 P
210	46_S	Rp 9251	Haker x Bajka	81 P
211	47_S	Rp 9157	Matilda x Krezus	79 P
212	48_S	STH 96602	Matilda x Bingo	
213	49_S	Rp 9328	Matilda x Bingo	
214	50_S	Rp 9330	Matilda x Bingo	
215	51_S	0.3915	STH 531 x Matilda	
216	52_S	Rp 8824	Chwat x STH 13827	
217	53_S	Rp 0.9041	Chwat x Sławko	
218	54_S	Rp 0.9051	Chwat x Krezus	
219	55_S	Rp 9315	STH 6015 x Fin 8 ( 65160)	
220	56_S	Rp 9322	Krezus x Haker	
221	57_S	Rp 9323	Krezus x Bingo	
222	58_S	Rp 9089	Krezus x Bingo	76 P
223	59_S	Rp 9090	Krezus x Bingo	77 P
224	60_S	Rp 9092	Krezus x Bingo	78 P

Tab. 1. Odmiany irody owsa przeznaczone do analiz DArT.(cd.)

Lp.	Oznaczenie prób	Ród/Odmiana	Pochodzenie	Numer alternatywny
225	61_S	DZ 8124 b	Rasputin x Krezus	
226	62_S	STH 10-46	STH 4541 x STH 593	
227	63_S	Rp 8841	STH 4541 x STH 594	
228	64_S	Rp 9231	STH 451 x Bajka	80 P
229	65_S	Rp 8842	STH 9310	
230	66_S	Rp 8849 (OWT)		
231	67_S	STH 71	Szakal x STH 13817	
232	68_S	Rp 0.8815	Szakal x STH 13818	
233	69_S	Rp 0.8855	STH 4545 x STH 593	
234	70_S	Rp 9284	STH 4545 x STH 594	
235	71_S	Rp 0.8819	Chwat x STH 13817	
236	72_S	Rp 0.8824	Chwat x STH 13818	
237	73_S	Rp 0.8172	STH 15649 x STH 16030	
238	74_S	Rp 0.8174	STH 15649 x STH 16031	
239	75_S	STH 7522 (sz)	Kwant x AVE 1322	
240	76_S	STH 8074	Kwant x AVE 1323	
241	77_S	STH 7527	(Sławko x PI 3797) x STH 725	
242	78_S	STH 8017	German x AVE 2804	
243	79_S	STH 7309	(Kasztan x PI 56503) x Kasztan	
244	80_S	Polar	Ago x Ramiro	27 P
245	81_S	Akt	Adam x Adamo	
246	82_S	Maczo	STH 7520 x STH 7376	
247	85_S	STH 9310	STH 8082 x STH 6102	
248	86_S	STH 9410	STH 5300 x Belmont	
249	87_S	STH 8307	STH 8070 x STH 6102	
250	88_S	STH 6291	STH 54412 x STH 54855	
251	89_S	STH 6301	STH 54412 x STH 54856	
252	90_S	STH 9582	STH 54412 x STH 54857	
253	91_S	STH 9583	STH 13759 x STH 13843	
254	92_S	STH 98899	STH 13759 x STH 13844	
255	93_S	STH 9488	STH 6993 x STH 6853	
256	94_S	STH 9489	STH 6993 x STH 6854	

Tab. 1. Odmiany i rody owsa przeznaczone do analiz DArT.(cd.)

Lp.	Oznaczenie prób	Ród/Odmiana	Pochodzenie	Numer alternatywny
257	95_S	STH 9545	CHD 2567 x STH 54855	
258	96_S	Rp 9546	CHD 2567 x STH 54855	
259	97_S	STH 7505	Bandiccot x STH 296	
260	98_S	STH 9578	STH 7256 x STH 16316	
261	99_S	STH 6252	Bandiccot x STH 7376/96	
262	100_S	Rp 9423	STH 13843 x STH 13817	83 P
263	101_S	Rp 9434	Akt x STH 13827	84 P
264	102_S	Rp 9436	Akt x STH 13828	85 P
265	103_S	Rp 9443	STH 13827 x STH 13843	86 P
266	104_S	Rp 9477	Bulion x STH 7821-3	
267	113_S	113	Linia z Niemiec 113	
268	115_S	115	Linia z Niemiec 115	
269	119_S	119	Linia z Niemiec 119	
270	123_S	09.123	Linia z Niemiec 123	
271	124_S	10.123	Linia z Niemiec 124	
272	134_S	134	Linia z Niemiec 134	
273	135_S	135	Linia z Niemiec 135	
274	8827	STH 8827		
275	9210	STH 9210		
276	901	Boryna	[Rodney ABDH x (Astor x Flamingsweiss)] x Dula	
277	902	Borys	(Dato x Po.39) x Pinto	
278	904	Dukat	Fagot x KR 2335/74 L.	
279	905	Farys	(Biały Mazur x Astor) x Cebeco 7511	
280	907	Góral	Borek x Brutus	
281	908	Karol	STH 171 x Brutus	
282	909	Komes	MGH 61649 x Jaycce	
283	910	Kwant	Alfred x Dula	
284	911	Santor	Borek x Brutus	
285	913	Skrzat	Komes x Maris Tabard	
286	914	Jawor	MGH 0894.4 x (Mana x Leanda)	
287	917	Grajcar	Komes x KR 81-1122	
288	918	Borowiak	Góral x Santor	



Tab. 1. Odmiiany i rody owsa przeznaczone do analiz DArT.(cd.)

Lp.	Oznaczenie prób	Ród/Odmiana	Pochodzenie	Numer alternatywny
289	919	Cekin	POB-W-2010/93 x Zlatak	
290	920	Hetman	Jawor x Semundo 212.1	
291	922	Sam	(Flamingsnova x Swan mut)x {[Alfred x (Garland x C2)] x Swan mut.}	
292	923	Deresz	Maro/ MGH 978.2	
293	926	Sprinter	(Flamingsnova x Swan mut. ) x Dukat	
294	928	Cacko	Adam x Adamo	
295	929	Stoper	( Flemingsnova x Swan mut) x Dukat	
296	930	Arab	Borys x Jawor	
297	931	Bachmat	Dula x Komes	
298	932	Bohun	LP 8675 x STH 110/86	
299	933	Cwal	Borys x Jawor	
300	934	Rajtar	Ramiro x Jawor	
301	935	Budrys	Adamo x CHD 792	
302	936	Breton	Szagal x Expander	
303	937	Celer	Góral x KR-KOR	
304	938	Furman	Kwant x Jawor	
305	939	Gniady	Noirine x Tropicale	
306	940	Koneser	Szagal x ( Jawor x Dukat)	
307	943	Antoniński żółty	<i>S-Lochows selekcja z Petkuskiego (Zółtego Lochowa)</i>	
308	945	Bartek Udycki	<i>Antoninski Zolty/Znajda</i>	
309	960	Proporczyk	Wyselekcjonowany z odmiany FINDLING	
310	962	Przeboj II	Wyselekcjonowana z odmiany Flamingstreue	
311	969	Sobieszyński	sel. from RYCHLIK LUBELSKI	
312	970	Teodozja	sel. from Scottish oat	
313	971	Udycz biały	KANAREK MIKULICKI x ZWYCI?ZCA	
314	972	Udycz żółty	ZOLTY PFLUGA x ZOLTY LOCHOWA	
315	991	Antoniński Biały	z Sobieszyńskiego	
316	993	Jagiełło	sel. from RYCHLIK MIKULICKI	
317	995	Kanarek Mikulicki	sel. from JAGIELLO	
318	1001	Niemierczański Najwcześniejszy		
319	1021	Berdysz	(Dukat x SV87598) x Bajka	
320	1022	Zuch	Vusch x Szagal	

Tab. 1. Odmiany irody owsa przeznaczone do analiz DArT.(cd.)

Lp.	Oznaczenie prób	Ród/Odmiana	Pochodzenie	Numer alternatywny
321	1024	Bandicot	Dw-6 Terra / West // CI 4492 /3/ OX77	
322	1025	Arden	Deresz x Szakal	
323	1026	Haker		
324	1030 N	Palestine Dwarf	Dw-7	
325	B1	d 19-1 = 5Q5.04.2	(W9 x A.m.B6) x swobodne zapylenie	
326	B2	d 20-1= 5T8.a	(W9 x A.m.B6) x swobodne zapylenie	
327	B3	d 21-1 = W11	95-43Cn4 = (((Solvax(Ky78-443xImage))xFringante)x87-42Cn1/2/2	
328	B5	d55-1 = 5P8.5	(W9 x A.m.B6) x W11	
329	B6	d 407-1 = Ax346.0	(Av. longiglumis Cw57 x Pendek) x 4H8(8x)	
330	B7	d502-1 = Ax302.01	W5 x S8H8	
331	B8	d545 -1 = Wintok	Hairy Culberson x Winter Fulghum	
332	B9	8432-01 = W9	LPHW992212 = (Mirabel x Pendragon)	
333	Kanota	Kanota	z pop. mapuj. Kanota x Ogle, ozimy	
334	NC 24	North Carolina 2469-3	Dw-7	
335	NK 2/2	STH 85869b		
336	NW 2/4	STH 9787		
337	NW 6/2	STH 54411		
338	Ogle 1040	Ogle 1040	z pop.mapuj. Tam x Ogle	
339	Ogle C	Ogle C	z pop.mapuj. Kanota x Ogle	
340	P 116	Penline 116	Dw-7	
341	P 6571	Penline 6571	Dw-6	
342	Tr Dw	Trelle Dwarf	Dw-4	

Oznaczenie rodu/odmiany na potrzeby analizy DArT	Oznaczenie rodu/odmiany dostarczone przez hodowcę	Nazwa rodu/odmiany	Odpowiednik w analizie DArT
7 S	7 S	Expander	88 D
8 S	8 S	Canyon	59 D
9 S	9 S	Contender	62 D
10 S	10 S	Belinda	48 D
12 S	12 S	Scorpion	47 D
13 S	13 S	Kasztan	!!!
18 S	18 S	Matilda	14 S
83 S	83 S	Jakub	76 D
84 S	84 S	Detvan	85 D
1 P	K1	Aragon	87 D
2 P	K2	Arden	1025
3 P	K3	Atego	39 D
4 P	K4	Auron	72 D
5 P	K5	Bingo	1 S
6 P	K6	Breton	936
7 P	K7	Buggy	58 D
8 P	K8	Caracas	66 D
9 P	K9	Carron	61 D
10 P	K10	Celer	937
11 P	K11	Contander	62 D, 9 S
12 P	K12	Canyon	59 D
14 P	K14	Flamingsgold	63 D
15 P	K15	Flamingskurz	41 D
19 P	K19	Gniady	939
20 P	K20	Gosza	84 D
21 P	K21	Haker	1026
23 P	K23	Husky	60 D
24 P	K24	Kanton	44 D
25 P	K25	Kasztan	!!!
26 P	K26	Krezus	2 S
27 P	K27	Maczo	82 S
28 P	K28	Neklan	91 D
29 P	K29	Nelson	90 D
31 P	K31	Nordstern	45 D
32 P	K32	Radius	68 D
33 P	K33	Rajtar	934
36 P	K36	Scorpion	47 D, 12 S
37 P	K37	Sprinter	926
38 P	K38	Stoper	929
40 P	K40	Typhon	50 D
41 P	K41	Nagus	29 D
52 P	K52	10L	
57 P	K57	15L	
58 P	K58	STH 8-99	20 S
60 P	K60	STH 9-63	
69 P	K69	STH 0.8329	41 S
70 P	K70	STH 0.8374	42 S
71 P	K71	STH 0.8401	43 S
72 P	K72	STH 0.8558	23 S
73 P	K73	STH 0.8608	27 S
74 P	K74	STH 0.8658	44 S
75 P	K75	STH 0.8671	45 S
76 P	K76	STH 0.9089	58 S
77 P	K77	STH 0.9090	59 S
78 P	K78	STH 0.9092	60 S
79 P	K79	STH 0.9157	47 P
80 P	K80	STH 0.9231	64 S
81 P	K81	STH 0.9251	46 S
83 P	K83	STH 0.9423	100 S
84 P	K84	STH 0.9434	101 S
85 P	K85	STH 0.9436	102 S
86 P	K86	STH 0.9443	103 S

Tab. 2. Powtarzające się rody/odmiany usunięte z analizy.

Tab. 3. Kombinacje mieszańcowe uzyskane w roku 2011.

Ojciec ♂	Matka ♀	Bingo	Celer	CHD 2502	CHD 3757/02	CHD 3804/02	DC 06011-8	DC 1193/04	DC 1776/04	DC 1832/05	DC 1852/05	DC 2112/05	DC 2648/04	Finley	Kasztan	Milenium	North Carolina	Palestine Dwarf	Penline 116	Penline 6571	Pennlo	Rajtar	STH 8827	STH 9210	STH 9787	Trelle Dwarf	Wendela	Suma końcowa
291 11														1									10	1	4			16
291 5		5																										5
<b>Bingo</b>			4	3	5	2	1	14	3	2					1	5	3	2	2	14	3	2	2	6		1	<b>73</b>	
Breton		7					4	11		5													10	7	3			47
Celer		1	3	10		7	10	8	1	3			5									8	1	3	9	1	<b>70</b>	
CHD 2502																							5					5
CHD 3804/02						1	8																3	6				18
DC 1193/04		5	8				3	2	1	9	1												4	4	26			<b>63</b>
DC 1776/04		5		2		1				2	4											13		1	8			36
DC 1832/05		4	2		1		6	1					10										4	11				39
DC 1852/05						6																			5			11
DC 2112/05		1	2							5	1	4										3	10	2				28
DC 2648/04			7	1	1	3	8	4	2		1												6	2				35
Finley																							5					5
Kasztan																							7	4				11
Penline 6571 1																							4					4
Pennlo		4																					5	1				10
Rajtar			5	3		9						2											5	10				34
Sam																	3	2			3							8
STH 8827			5													1										1		7
STH 9210		1						6																				7
STH 9787							2	2	7	1	1	1	2					5										21
Wendela															2								2					4
Suma końcowa	26	36	11	1	28	19	23	37	<b>47</b>	10	21	21	3	7	2	2	8	10	2	2	17	27	<b>83</b>	21	<b>92</b>	1	2	557

Tab.4. Kombinacje mieszańcowe uzyskane w roku 2011 z udziałem materiałów własnych.

Matka ♀	Ojciec ♂	STH 9787 x Milenium	STH 9333 x Milenium	Milenium x STH 9333	(Bajka x A. sterilis CN 25748 (F6) x STH 85869b	Grajcar x Milenium	Kasztan x STH 9333	Sam x Milenium	STH 9787 x STH 96602	STH 15570 mutant	A. sterilis PI 380125	A. insularis	Bingo	Cekin	Hetman	Rajtar	Sam	Santor	Suma końcowa	
(Bajka x A. sterilis CN 25748 (F7)		5					6	2	3											16
(Bajka x A. sterilis CN 25748 (F7) niski													5							5
A. sterilis CN 20328 x Cekin BC5														15						15
A. sterilis CN 20328 x Hetman BC4															1					1
A. sterilis CN 24394 x Sam BC4																		3	9	12
A. sterilis AVE 531 x Santor BC4																			7	7
Bingo					1							1					3			5
Celer													1				8			9
<b>Grajcar</b>						<b>25</b>														<b>25</b>
Kasztan							7				3									10
{{(Grajcar x A. sterilis CN 24394) x (Grajcar x A. fatua AVE 270 x Grajcar[S] x Grajcar}} x Grajcar														2						2
Sam								8												8
STH 8827										1										1
STH 9210			4	6									1							11
STH 9787		6																		6
Suma końcowa		11	4	6	1	<b>25</b>	13	10	3	1	3	1	9	15	1	11	3	16		133

Tab. 5. Wartości dystansu genetycznego pomiędzy odmianami i liniami wytypowanymi jako formy rodzicielskie do krzyżowań w roku 2011.

Forma	2_DC 1193/04	3_DC 1776/04	4_DC 2648/04	6_DC 1832/05	7_DC 1852/05	8_DC 2112/05	Bingo	Breton	Celer	Rajtar	STH 85869b	STH 8827	STH 9210	STH 9787	49_Wendela	101_Finley	
2_DC 1193/04																	
3_DC 1776/04	12,9																
4_DC 2648/04	11,8	13,2															
6_DC 1832/05	12,7	13,9	13,5														
7_DC 1852/05	12,3	14,2	14,4	13,5													
8_DC 2112/05	16,5	18,2	11,2	16,2	19,0												
Bingo	19,4	11,2	15,6	18,3	19,9	20,1											
Breton	12,9	14,8	15,0	15,1	9,6	17,1	20,6										
Celer	17,4	16,8	15,9	14,3	16,9	17,0	22,5	17,8									
Rajtar	15,7	18,3	14,6	8,7	17,8	17,5	23,4	20,9	15,6								
STH 85869b	22,3	18,7	22,5	23,8	23,1	27,3	21,6	22,1	25,8	25,0							
STH 8827	16,0	19,2	19,3	18,0	13,3	21,5	22,6	10,8	21,3	22,3	26,2						
STH 9210	17,3	12,0	15,1	17,0	18,9	18,8	9,3	20,1	20,6	21,8	22,1	17,3					
STH 9787	23,5	20,7	24,7	26,0	25,3	29,5	23,7	24,7	27,9	27,2	2,5	28,6	24,3				
49_Wendela	11,8	15,8	12,9	14,1	13,1	15,2	20,2	13,4	15,2	16,0	24,5	18,1	18,7	26,6			
101_Finley	32,2	31,2	30,9	32,1	30,7	29,3	30,3	31,1	32,2	31,3	33,0	29,9	28,0	35,7	32,0		

Tab. 6. Liczba loci DArT różnicująca formy rodzicielskie – potencjalnie segregujących u mieszańców.

Forma	2_DC 1193/04	3_DC 1776/04	4_DC 2648/04	6_DC 1832/05	7_DC 1852/05	8_DC 2112/05	Bingo	Breton	Celer	Rajtar	STH 85869b	8827	9210	STH 9787	49_Wendela	101_Finley	
2_DC 1193/04																	
3_DC 1776/04	105																
4_DC 2648/04	96	102															
6_DC 1832/05	103	110	107														
7_DC 1852/05	100	113	114	107													
8_DC 2112/05	133	144	89	128	151												
Bingo	156	87	124	145	158	159											
Breton	109	122	123	124	81	140	167										
Celer	145	138	131	118	139	140	183	146									
Rajtar	134	153	122	79	148	145	193	177	137								
STH 85869b	-	-	-	-	-	-	173	-	-	-							
STH 8827	131	154	155	144	107	172	181	92	174	185	210						
STH 9210	140	95	120	135	150	149	74	163	167	178	177	139					
STH 9787	192	167	198	209	204	237	190	201	227	224	-	229	196				
49_Wendela	97	126	103	112	105	122	161	-	126	-	-	146	149	213			
101_Finley	259	250	247	256	245	234	243	-	260	-	-	238	225	287	-		

**Celem badań jest** określenie zróżnicowania genetycznego w obrębie odmian i linii hodowlanych wykorzystywanych w hodowli twórczej owsa zwyczajnego (*Avena sativa* L.) na poziomie molekularnym przy użyciu metody analizy polimorfizmu DNA – DArT (Diversity Array Technologies). Dotychczas przeprowadzone analizy wskazują na stosunkowo niewielkie zróżnicowanie genetyczne gatunku *Avena sativa* L. dlatego istnieje potrzeba zastosowania systemu markerowego skanującego jak największy obszar genomu. Warunek ten spełnia metoda DArT.

Profilowanie polskich materiałów hodowlanych i wyprowadzanie populacji mapujących dla istotnych cech użytkowych jest niezbędne dla uzyskania szczegółowego opisu molekularnego istniejącej puli genowej owsa. Wyprowadzenie populacji mapujących w oparciu o polskie materiały hodowlane jest konieczne z tego względu, że markery charakteryzuje bardzo często specyficzność względem populacji na bazie której zostały opracowane. Wyprowadzone w ramach niniejszego projektu populacje mapujące umożliwią poszukiwanie markerów dla genów warunkujących pożądane cechy oraz identyfikację linii posiadających jak największą liczbę korzystnych alleli.

**Harmonogram prac w bieżącym roku sprawozdawczym** był realizowany:

- wytypowanie obiektów do analiz molekularnych i krzyżowań (linie i odmiany wskazane przez hodowców)
- określenie pochodzenia (rodowodów) poszczególnych form
- rozmnożenie w izolacji wszystkich obiektów
- indywidualne genotypowanie metodą DArT
- przeprowadzenie krzyżowań międzyodmianowych celem wyprowadzenia populacji mapujących
- rozmnożenie mieszańców uzyskanych na UP w Lublinie oraz dostarczonych przez hodowców.

**W jakim stopniu cel badania został osiągnięty:**

Cel badania wyznaczony na rok bieżący, czyli pierwszy rok realizacji, został osiągnięty w pełni i umożliwia kontynuację projektu w roku kolejnym.

7. **Najważniejsze osiągnięcia.**

1. W efekcie przeprowadzonych badań uzyskane zostały profile genetyczne analizowanych obiektów, które będą mogły stanowić podstawę do ich identyfikacji lub dokumentowania odrębności.
2. Określono relacje podobieństwa pomiędzy poszczególnymi formami. Uzyskane wyniki stają się szczególnie cenne po skonfrontowaniu ich z pochodzeniem badanych form (rodowody oraz miejsce wyhodowania).
3. Dystans genetyczny oszacowany pomiędzy poszczególnymi parami genotypów będzie wartościowym wyznacznikiem przy typowaniu komponentów do krzyżowań mających na celu uzyskanie nowych odmian oraz doborze form rodzicielskich dla różnego rodzaju populacji mapujących.

8. Forma upowszechnienia wyników

Wyniki będą dostępne na specjalnej stronie internetowej <http://genetyka.up.lublin.pl>

9. Wykaz prac opublikowanych w roku sprawozdawczym dot. danego tematu:

brak

10. Wykaz prac złożonych do druku.

brak

11. Przyczyny ewentualnych odstępstw od harmonogramu zapisanego w karcie realizacji tematu.

Temat realizowano zgodnie z harmonogramem.

12. Informacja o wynikach współpracy naukowo-technicznej krajowej i z zagranicą (przy współpracy z zagranicą podać kraj, firmę, temat).

Współpraca w zakresie charakterystyki materiałów przeznaczonych do krzyżowań w celu uzyskania nowych odmian.

DANKO Hodowla Roślin Sp. z o.o., Choryń 27, 64-000 Kościan

Małopolska Hodowla Roślin Małopolska Hodowla Roślin - HBP Spółka z o.o.,  
30-002 Kraków, ul. Zbożowa 4

HR Strzelce Hodowla Roślin Strzelce Sp. z o.o. Grupa IHAR

99-307 Strzelce ul. Główna 20

13. W przypadku udziału w konferencjach, sympozjach, szkoleniach i warsztatach itp, w szczególności zagranicznych:

- a) cel i korzyści oraz stopień wykorzystania do realizacji zadania;
- b) w jaki sposób wyjazd podniósł wartość merytoryczną realizowanego zadania.

Data

Podpis kierownika tematu