*Nr zadania*

*30*

# SPRAWOZDANIE MERYTORYCZNE

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

**A. INFORMACJE OGÓLNE**

|  |
| --- |
| Tytuł zadania **Mapowanie sprzężeniowe i asocjacyjne owsa zwyczajnego** |
| Numer zadania *(w załączniku nr 8 do rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 29 lipca 2015 r. w sprawie stawek dotacji przedmiotowych dla różnych podmiotów wykonujących zadania na rzecz rolnictwa (Dz. U. z 14 sierpnia 2015 r. poz. 1170))* **30** |
| Planowany okres realizacji zadania **12 miesięcy** |
| Planowane nakłady w zł **200 000** |
|

**B. DANE WNIOSKODAWCY**

|  |
| --- |
| Imię i nazwisko osoby reprezentującej jednostkę badawczą, tytuł lub stopień naukowy, stanowisko, nazwa i adres jednostki badawczej, telefon, fax)**Zbigniew Grądzki, Prof. dr hab., Prorektor ds. Nauki, Wdrożeń i Współpracy Międzynarodowej****Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie** **ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin****Telefon: 81-445-60-66; Fax: 81-533-35-49, e-mail: biuro.rektora@up.lublin.pl** |

**C. INFORMACJA O WYKONAWCACH**

1. Zespół badawczy

|  |
| --- |
| kierownik zadania |
| imię i nazwisko | stopień i tytuł naukowy | miejsce zatrudnienia |
| **Edyta Paczos-Grzęda** | **dr** | **Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie****Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin** |
| wykonawcy zadania |
| imię i nazwisko | stopień i tytuł naukowy | miejsce zatrudnienia |
| **Piotr Bednarek** | **dr hab., prof. IHAR** | **IHAR Radzików****Zakład Biochemii i Fizjologii Roślin** |
| **Aneta Koroluk**  | **mgr inż.**  | **Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie** **Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin** |

2. Kierownik zadania *(imię, nazwisko, tytuł lub stopień naukowy, adres do korespondencji, telefon bezpośredni i do sekretariatu jednostki organizacyjnej zatrudniającej kierownika zadania, e-mail kierownika; telefon do oraz dane osoby, z którą można się kontaktować w razie nieobecności kierownika zadania)*

**Edyta Paczos-Grzęda, dr**

**Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie**

**Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin**

**ul. Akademicka 15**

**20-934 Lublin**

**tel. bezp. (81) 445-68-66, kom. 504098872, sekretariat (81) 445-68-84**

**edyta.paczos@up.lublin.pl**

*osoba, z którą można się kontaktować w razie nieobecności kierownika zadania*

**Aneta Koroluk, mgr inż.**

**Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie**

**Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin**

**ul. Akademicka 15**

**20-934 Lublin**

**tel. (81) 445-68-84, kom. 509089757**

**aneta.koroluk@up.lublin.pl**

D. OPIS ZADANIA

* + 1. Cele zadania

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Lp.** | **Cel** | **Czy cel został zrealizowany** (tak/nie /częściowo1) |
| 1 | Precyzyjne fenotypowanie i genotypowanie za pomocą markerów DNA wczesnych pokoleń mieszańców. Wyprowadzanie kolejnych populacji mapujących. | TAK |
| 2 | Kontynuowanie rozmnożeń materiałów przeznaczonych do uzyskania zaawansowanych międzyodmianowych i międzygatunkowych rekombinacyjnych linii wsobnych. | TAK |
| 3 | Fenotypowanie linii i odmian przeznaczonych do mapowania asocjacyjnego. | TAK |
| 4 | Opracowanie mapy genetycznej bazującej na populacji mapującej RIL E52 wyprowadzonej w oparciu o krzyżowanie biparentalne *A. sterilis*\_66 × *A. sativa* ‘Sam’. | TAK |
| 5 | Konwersja markera RAPD - G12 sprzężonego z obecnością genu *Dw6* na marker SCAR.  | TAK |
| 6 | Konwersja sekwencji DArT*seq* i *silico*DArT sprzężonych z obecnością genu *Dw*7 na markery specyficzne. | TAK |

2. Harmonogram realizacji zadania

*Harmonogram realizacji zadania należy sporządzić w tabeli, dla każdego z planowanych tematów badawczych z uwzględnieniem ilości planowanych testów/prób/linii na których prowadzone będą badania. Proszę podać koszty realizacji poszczególnych tematów badawczych.*

*Proszę wyróżnić etapy (tematy badawcze), określić czas ich trwania w miesiącach od rozpoczęcia projektu i przewidywane koszty. Terminy realizacji tematów badawczych mogą się zazębiać. Suma kosztów tematów badawczych musi być równa całkowitemu kosztowi zadania.*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Lp. | Nazwa tematu badawczego  | Termin rozpoczęcia – zakończenia realizacji tematu badawczego w miesiącach od rozpoczęcia realizacji zadania | Przewidywane koszty realizacji tematubadawczego |
| 1 | Kontynuacja rozmnożeń populacji mapujących oraz fenotypowanie wczesnych pokoleń mieszańców. (połączone tematy 1 i 2 opisu wieloletniego) | 3-9 | 20000 |
| 2 | Analiza podstawowych walorów rolniczych roślini badanie parametrów plonu linii i odmian uczestniczących w analizach asocjacyjnych. (temat 5 opisu wieloletniego). | 3-9 | 32000 |
| 6 | Genotypowanie populacji RIL z wykorzystaniem systemu sekwencyjnego DArTseq. (połączone tematy 3 i 6 opisu wieloletniego) | 3-12 | 110000 |
| 4 | Konstrukcja mapy genetycznej.(temat 7 opisu wieloletniego) | 9-12 | 10500 |
| 5 | Identyfikacja markerów cech.(temat 8 opisu wieloletniego) | 1-12 | 27500 |
| Razem | **200000** |

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

**3. 1. Kontynuacja rozmnożeń populacji mapujących oraz fenotypowanie wczesnych pokoleń mieszańców**

Cel tematu badawczego 1

* Wyprowadzenie międzyodmianowych populacji mapujących (z genami karłowatości *Dw*4, *Dw*6 i *Dw*7) oraz międzygatunkowych z *A. sterilis* (203, 204).
* Fenotypowanie 14 kombinacji mieszańcowych F1 uzyskanych w roku poprzednim.
* Fenotypowanie dwóch populacji mapujących pokolenia F2 segregujących pod względem wysokości E794 i E324.
* Fenotypowanie międzygatunkowej populacji mapującej F2 *A. sativa* × *A. sterilis* (172) – (E822).
* Identyfikacja homozygot wśród linii F3 reprezentujących populacje: E508, E572.
* Kontynuacja rozmnożeń w kierunku RIL populacji E32, E52, E56 i E101.

**Materiały i metody**

Wszystkie formy przeznaczone do krzyżowań i rozmnożeń oraz mieszańce F1 wysiano na poletkach Gospodarstwa Doświadczalnego UP w Lublinie, w Czesławicach koło Nałęczowa. Siew wykonano na przełomie marca i kwietnia. Długość rzędów wyniosła 1m, zaś rozstawa 20 cm. W początkowym okresie wegetacji przeprowadzono oprysk pielęgnacyjny Chwastoxem Trio, natomiast później chwasty usuwano ręcznie. W fazie strzelania w źdźbło przeprowadzono oprysk preparatem Karate-ZEON w celu zwalczenia mszyc, skrzypionki i wciornastków.

W celu wyprowadzenie populacji mapujących: 1) międzyodmianowych z genami karłowatości *Dw*4, *Dw*6 i *Dw*7 oraz 2) międzygatunkowych z *A. sterilis* przeprowadzono następujące krzyżowania:

1. STH 9787 (*Dw*6) × North Caroline (*Dw*7)

STH 9787 (Dw6) × Trelle Dwarf (*Dw*4) – 3 kombinacje

North Caroline (*Dw*7)× Trelle Dwarf (*Dw*4)

1. odmiana *A. sativa* (cv. Bingo lub cv. Kasztan) × *A. sterilis* (203, 204) – 2 kombinacje

*A. sterilis* (2 genotypy:66 i 172) × *A. fatua* (2 genotypy) – 4 kombinacje

Kastrowanie roślin rozpoczęło się na początku fazy kwitnienia. W wiesze kastrowanych było kilkanaście szczytowych kłosków, fragmenty wiech zaizolowano izolatorami z tomofanu do czasu zapylenia. Po 3-4 dniach od usunięcia pylników na dojrzałe znamiona naniesiono pyłek z pylników zebranych wcześniej z roślin ojcowskich. Po dwóch dniach zapylanie zostało powtórzone. Izolatory pozostały na roślinach aż do zbioru, który miał miejsce po osiągnięciu dojrzałości woskowej. Na podstawie liczby wykastrowanych i zapylonych kwiatków oraz liczby zawiązanych ziarniaków określono efektywność krzyżowania.

Ocena fenotypowa została przeprowadzona dla 14 kombinacji mieszańcowych F1 uzyskanych w roku poprzednim. Kombinacje te reprezentowały: 1) mieszańce z genami karłowatości *Dw4* lub *Dw*7 (4 kombinacje) oraz 2) mieszańce międzygatunkowe *A. sativa* × *A. sterilis* oraz *A. sativa* × *A. fatua* (10 kombinacji). Wysiewano po 2 ziarniaki z każdej kombinacji, ewentualnie 1 jeśli w roku poprzednim nie uzyskano wystarczającej ilości nasion. Wszystkie rośliny F1 poddano ocenie fenotypowej. Fenotypowanie roślin F1 polegało na ocenie podstawowych walorów rolniczych roślin w warunkach laboratoryjnych. Ocenione zostały: wysokość, liczba pędów produkcyjnych i niedogonów, długość wiechy, liczba kłosków, liczba i masa ziarniaków z wiechy oraz masa ziarniaków z rośliny. W przypadku mieszańców międzygatunkowych nie zostały ocenione: liczba i masa ziarniaków z wiechy oraz masa ziarniaków z rośliny.

W fazie krzewienia z każdej rośliny F1 oraz każdej rośliny rodzicielskiej wykorzystanej w krzyżowaniach pobrano i zamrożono w temp. -70°C fragmenty liści w celu zabezpieczenia tkanki do izolacji DNA w kolejnych latach badań.

**Wyniki**

W celu wyprowadzenie międzyodmianowych populacji mapujących z genami karłowatości Dw4, Dw6 i Dw7 przeprowadzono krzyżowania linii lub odmian z tymi genami (Tab.1). Z linii z genami Dw6 i Dw7 wykastrowano w sumie 506 kwiatków w 62 wiechach, z czego 159 kwiatków w 17 wiechach zapylono pyłkiem odmiany North Carolina 24 posiadającej gen Dw7, zaś 347 kwiatki w 45 wiechach pyłkiem odmiany Trelle Dwarf. Odmianę Trelle Dwarf wykorzystano jako zapylacz z uwagi na to, że jest to odmiana bardzo późna. Jest to forma ozima owsa, która w warunkach chłodnej polskiej wiosny może być siana razem z odmianami jarymi. Ozimy typ wzrostu powoduje jednak, że odmiana ta kwitnie później w porównaniu z odmianami jarymi i z tego względu wykorzystywana jest jako dawca pyłku.

Efektywność krzyżowania uzyskana dla tej grupy odmian i linii była bardzo niska i wyniosła średnio 1,98%, przy czym była ponad czterokrotnie wyższa jeżeli zapylaczem była odmiana Trelle Dwarf z genem Dw4 (2,50 i 2,80), aniżeli odmiana North Carolina z genem Dw7 (0,63). W sumie, zgodnie z założeniami zadania, uzyskano 10 ziarniaków mieszańcowych dla trzech kombinacji. Od jednego dla kombinacji Dw6 x Dw7, poprzez 3 ziarniaki dla Dw7 x Dw4 i 6 dla Dw6 x Dw4.

Tab. 1. Efektywność krzyżowań odmian lub linii z genami karłowatości.

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Forma mateczna** | **Forma ojcowska** | **Liczba wykastrowanych i zapylonych wiech** | **Liczba wykastrowanych ziarniaków** | **Liczba zawiązanych ziarniaków** | **Efektywność krzyżowania** |
| *Dw*6 | *Dw*7 | 17 | 159 | 1 | 0,63 |
| *Dw*6 | *Dw*4 | 28 | 240 | 6 | 2,50 |
| *Dw*7 | *Dw*4 | 17 | 107 | 3 | 2,80 |
| **Suma** | **62** | **506** | **10** |  |
| **Średnia** | **20,6** | **168,6** | **3,3** | **1,98** |

W celu wyprowadzenie międzygatunkowych populacji mapujących *A. sativa* x *A. sterilis* przeprowadzono krzyżowanie odmian *A. sativa* (cv. Bingo lub cv. Kasztan) z trzema, a nie jak wcześniej zakładano dwoma genotypami *A. sterilis* (Tab. 2). Formy *A. sterilis* wybrane do krzyżowań są późne i z uwagi na obserwacje bardzo niskiej efektywności krzyżowania wśród mieszańców międzyodmianowych postanowiono poszerzyć grupę krzyżowanych form o jeszcze jeden genotyp. W sumie wykastrowano 528 kwiatków w 54 wiechach. Tylko w przypadku jednej kombinacji Bingo x *A.* *sterilis* 202, a nie jak zakładano dwóch kombinacji, udało się uzyskać 1 ziarniak. Efektywność krzyżowania była bardzo niska i wyniosła zaledwie 0,88% dla tej kombinacji, a po uwzględnieniu wszystkich kombinacji jej wartość spadła do 0,19%.

Tab. 2. Efektywność krzyżowań *A. sativa* x *A. sterilis.*

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Forma mateczna** | **Forma ojcowska** | **Liczba** **wykastrowanych** **i zapylonych wiech** | **Liczba wykastrowanych kwiatków** | **Liczba zawiązanych ziarniaków** | **Efektywność krzyżowania** |
| Bingo | 202 | 11 | 113 | 1 | 0,88 |
| Bingo | 203 | 13 | 121 | 0 | 0 |
| Bingo | 204 | 18 | 178 | 0 | 0 |
| Kasztan | 202 | 5 | 46 | 0 | 0 |
| Kasztan | 203 | 5 | 52 | 0 | 0 |
| Kasztan | 204 | 2 | 18 | 0 | 0 |
| **Suma** | **54** | **528** | **1** |  |
| **Średnia** | **9** | **88** | **19,8** | **0,19** |

W krzyżowaniach międzygatunkowych genotypy *A. fatua* i *A. sterilis* wykorzystano zarówno jako formy ojcowskie, jak i mateczne. Do krzyżowań wybrano dwa genotypy *A. sterilis* 66 i 172 oraz 3 genotypy *A. fatua*: 518, 523 i 525 (Tab. 3). Wykorzystując *A. sterilis* jako formę mateczną wykastrowano 299 kwiatków w 24 wiechach i zapylono pyłkiem dwóch genotypów *A. fatua*. W każdej z trzech kombinacji zawiązało się od 1 do 3 ziarniaków, a efektywność wyniosła od 0,88 do 2,91%, średnio 2,08%. Wyższą efektywność obserwowano w przypadku, gdy zapylaczem był *A. fatua* 525 aniżeli *A. fatua* 518. Gdy formą mateczną były genotypy *A. fatua*, a zapylaczem *A. sterilis*, efektywność krzyżowania wyniosła średnio 8,26% wahając się od 2,7% gdy zapylaczem był *A. sterilis* 172 do 14,52% gdy dawcą pyłku był *A. sterilis* 66. Po wykastrowaniu 276 kwiatków w 28 wiechach uzyskano 18 ziarniaków, od 4 w kombinacji *A. fatua* 518 x *A. sterilis* 172 do 9 *A. fatua* 523 x *A. sterilis* 66. Efektywność krzyżowania w przypadku wykorzystania jako formy ojcowskiej *A. fatua* była czterokrotnie wyższa, aniżeli w przypadku *A. sterilis*. Uzyskano w sumie 5 kombinacji mieszańcowych, zamiast planowanych czterech.

Tab. 3. Efektywność krzyżowań *A. fatua* x *A. sterilis* i *A.sterilis* x *A. fatua.*

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Forma mateczna** | **Forma ojcowska** | **Liczba wykastrowanych** **i zapylonych wiech** | **Liczba wykastrowanych kwiatków** | **Liczba zawiązanych ziarniaków** | **Efektywność krzyżowania** |
| *A. sterilis* 66 | *A. fatua* 525 | 7 | 82 | 2 | 2,44 |
| *A. sterilis* 172 | *A. fatua* 518 | 8 | 114 | 1 | 0,88 |
| *A. sterilis* 172 | *A. fatua* 525 | 9 | 103 | 3 | 2,91 |
| **Suma** | **24** | **299** | **6** |  |
| **Średnia** | **8** | **99,6** | **3** | **2,08** |
| *A. fatua* 523 | *A. sterilis* 66 | 7 | 62 | 9 | 14,52 |
| *A. fatua* 525 | *A. sterilis* 66 | 7 | 66 | 5 | 7,58 |
| *A. fatua* 518 | *A. sterilis* 172 | 14 | 148 | 4 | 2,70 |
| **Suma** | **28** | **276** | **18** |  |
| **Średnia** | **9,3** | **92** | **6** | **8,26** |

Przeprowadzono również fenotypowanie 13 kombinacji mieszańcowych F1 uzyskanych w roku poprzednim. Reprezentowały one: 1) mieszańce z genami karłowatości Dw4 lub Dw7 (3 kombinacje) oraz 2) mieszańce międzygatunkowe *A. sativa* × *A. sterilis* i *A. sativa* × *A. fatua* (10 kombinacji). W przypadku kombinacji Bingo x Trelle Dwarf w roku poprzednim uzyskano tylko jeden ziarniak, który nie wykiełkował oceniono więc tylko rośliny uzyskane dla pozostałych trzech kombinacji.

.

Tab. 4. Wyniki fenotypowania mieszańców F1 z genami karłowatości *Dw*4 i *Dw*7.

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Nr kombinacji** | **Forma** **mateczna** | **Forma** **ojcowska** | **Nr rośliny** | **Wysokość** | **Liczba pędów** **produkcyjnych** | **Liczba niedogonów** | **Długość wiechy** | **Liczba kłosków** | **Liczba ziarniaków** | **Masa ziarniaków z wiechy** | **Masa ziarniaków z rośliny** | **Płodność kłoska** | **MTZ [g]** |
| 872 | Kasztan | Trelle Dwarf | 1 | 82 | 5 | 2 | 14 | 30 | 53 | 1,88 | 4,75 | 1,77 | 35,47 |
|  | **Średnia** | **87,7** | **6,5** | **2** | **14** | **33,7** | **62,2** | **2,11** | **10,28** | **1,84** | **34,01** |
| 876 | Bingo | North Carolina | 2 | 75 | 4 | 3 | 15 | 19 | 37 | 1,33 | 6,23 | 1,95 | 35,95 |
|  | **Średnia** | **74,7** | **4,7** | **2,5** | **14** | **33,7** | **75,5** | **2,56** | **10,41** | **2,21** | **34,13** |
| 877 | Kasztan | North Carolina | 1 | 73 | 2 | 1 | 15 | 50 | 95 | 3,36 | 6,68 | 1,90 | 35,37 |
|  | **Średnia** | **68,7** | **3** | **1,7** | **13,7** | **37,7** | **74,2** | **2,62** | **7,41** | **1,95** | **35,08** |

Mieszańce F1, w których formą rodzicielską była odmiana Trelle Dwarf były średnio wyższe od mieszańców z odmianą North Carolina o 14 do 19 cm, były też silniej rozkrzewione (Tab. 4). Nie różniły się pod względem długości wiechy, a liczba kłosków była średnio większa tylko w kombinacjach Kasztan x North Carolina, przy czym dla mieszańców z tą formą u różnych roślin miała ona bardzo zróżnicowane wartości (19-47, 21-51). W przypadku mieszańców z Trelle Dwarf liczba kłosków w wiesze wynosiła od 30 do 38, średnio 33,75. Pomimo zróżnicowanej liczby kłosków, liczba ziarniaków w wiesze była średnio podobna, niemniej jednak pomiędzy roślinami występowały duże różnice sięgające od 37 do 105 ziarniaków z wiechy w kombinacji Bingo x North Carolina oraz od 36 do 104 w kombinacji Kasztan x North Carolina. Niewielka zmiennością charakteryzowały się poszczególne rośliny w kombinacji Kasztan x Trelle Dwarf, u których liczba ziarniaków wynosiła od 53 do 74. Średnia masa ziarniaków z wiechy mieszańców z genem Dw7 była wyższa aniżeli mieszańców z genem Dw4. Jednak najmniejszą liczbą ziarniaków z całej rośliny charakteryzowała się kombinacja Kasztan x North Carolina, dla której jednocześnie określono najwyższą wartość MTZ. Największą płodność kłoska oszacowano dla mieszańców Bingo x North Carolina.

Tab. 5. Wyniki fenotypowania mieszańców międzygatunkowych F1.

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Nr kombinacji** | **Forma** **mateczna** | **Forma** **ojcowska** | **Nr rośliny** | **Wysokość** | **Liczba pędów** **produkcyjnych** | **Liczba niedogonów** | **Długość wiechy** | **Liczba kłosków** | **Liczba ziarniaków** | **Masa ziarniaków z wiechy** | **Masa ziarniaków z rośliny** | **Płodność kłoska** | **MTZ [g]** |
| 881 | Bingo | *A. fatua* 503 1 | 1 | 122 | 6 | 4 | 24 | 42 | 83 | 3,03 | 13,61 | 1,98 | 36,51 |
|  | **Średnia** | **128,2** | **5** | **4,1** | **23,5** | **45,4** | **97,2** | **3,58** | **10,85** | **2,14** | **37,81** |
| 892 | Kasztan | *A. sterilis* As2 1 | 1 | 133 | 3 | 7 | 23 | 26 | 64 | 2,44 | 4,39 | 2,46 | 38,13 |
|  | **Średnia** | **129,1** | **4** | **5,7** | **20,2** | **25,1** | **68,8** | **2,41** | **6,77** | **2,74** | **35,18** |

Mieszańce F1 *A. sativa* *x A. fatua* oraz *A. sativa* x *A. sterilis* charakteryzowały się zbliżoną wysokością, liczbą pędów produkcyjnych i niedogonów (Tab. 5). Pozostałe parametry różniły się znacznie u obu grup mieszańców. U mieszańców z *A. fatua* stwierdzono dłuższą wiechę, niemal dwukrotnie wyższą średnią liczbę kłosków, o 1/3 wiekszą liczbę i masę ziarniaków z wiechy oraz masę ziarniaków z rośliny. Wartość MTZ była również wyższa u mieszańców z *A. fatua*. Mieszańce F1 *A. sativa* x *A. sterilis* charakteryzowały się znacznie większą płodnością kłoska typową dla *A. sterilis*.

Mierniki dla tematu badawczego 1

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Lp. | miernik | wartość miernika podana w opisie zadania | wartość miernika zrealizowana |
| 1 | Liczba wyprowadzanych kombinacji mieszańcowych | 9 | 8 |
| 2 | Liczba fenotypowanych kombinacji F1 | 14 | 14 |
| 3 | Liczba fenotypowanych populacji F2 | 2 | 2 |
| 4 | Liczba fenotypowanych populacji F3 | 2 | 2 |
| 5 | Liczba populacji prowadzonych w kierunku RIL | 4 | 4 |

**3. 2. Analiza podstawowych walorów rolniczych roślin i badanie parametrów plonu linii i odmian uczestniczących w analizach asocjacyjnych.**

Cel tematu badawczego 2

* Celem tematu jest określenie podstawowych walorów rolniczych oraz parametrów plonu odmian i linii uczestniczących w analizach asocjacyjnych.

**Materiały i metody**

Doświadczenie zostało założone dla 500 obiektów, które stanowią reprezentatywną próbę polskich odmian i linii hodowlanych owsa oraz materiałów zagranicznych będących źródłem pożądanej zmienności. Ziarniaki wysiano siewnikiem na 3-rządkowe poletka o długości rzędów 1m i rozstawie 25cm. Siew wykonano pod koniec marca. Na każde poletko wysiano 150 ziarniaków. W początkowym okresie wegetacji przeprowadzono oprysk pielęgnacyjny środkiem chwastobójczym, natomiast w fazie strzelania w źdźbło preparatem owadobójczym.

W trakcie wegetacji ocenione zostały: wczesność, stopień porażenia przez choroby w warunkach naturalnej infekcji polowej, wysokość roślin, zaś po zbiorze plon z poletka i MTZ.

**Wyniki**

W doświadczeniu założonym po raz kolejny dla 500 obiektów stanowiących reprezentatywną próbę polskich materiałów hodowlanych i odmian owsa oraz odmian zagranicznych wszystkie analizowane cechy, takie jak: wczesność, stopień porażenia przez mączniaka prawdziwego oraz rdze koronową w warunkach naturalnej infekcji polowej, wysokość, plon z poletka, ciężar hektolitra, procentowa zawartość łuski i MTZ charakteryzowały się dużą zmiennością (Tab. 11). Doświadczenie w tym roku doświadczeń założono w dwóch powtórzeniach.

Tab. 11. Analiza statystyczna wyników fenotypowania 500 odmian i linii przeznaczonych do mapowania asocjacyjnego.

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **L.p.** | **Cecha**  | **Minimum** | **Maximum** | **Średnia** | **Odchylenie standardowe** |
| 1 | Wysokość [cm] | 42,50 | 130,00 | 94,09 | 11,40 |
| 2 | Gęstość ziarna [hl/kg] | 42,25 | 58,70 | 52,84 | 2,35 |
| 3 | % łuski | 21,60 | 32,68 | 26,15 | 1,75 |
| 4 | MTZ [g] | 23,94 | 57,07 | 36,82 | 4,07 |
| 5 | Odporność na mączniaka [1-9] | 3,00 | 9,00 | 7,76 | 1,14 |
| 6 | Odporność na rdzę koronową [1-9] | 7,00 | 9,00 | 8,98 | 0,15 |
| 7 | Wczesność [Liczba dni od 1 stycznia] | 147,00 | 165,00 | 155,61 | 2,86 |
| 8 | Plon z 1 m2 [kg/m2] | 0,05 | 0,64 | 0,43 | 0,11 |

Badania podstawowych cech rolniczych i parametrów plonu 500 odmian i linii przeznaczonych do mapowania asocjacyjnego prowadzone były po raz trzeci. Podobnie jak w latach poprzednich materiały charakteryzowały się stosunkowo dużym zróżnicowaniem (Tab. 11). Średnia wysokość badanej grupy odmian i linii wyniosła ok. 94 cm, przy czym najniższy obiekt miał tylko 42,5 cm, zaś najwyższy 130 cm. Wysokie odchylenie standardowe wskazuje na duże zróżnicowanie tej cechy wśród badanych materiałów, co również zaobserwować można na histogramie (Rys. 3). W badanej grupie dominowały obiekty o wysokości od 95 do 105 cm.

Gęstość ziarna w stanie zsypnym wyniosła średnio 52,84 hl/kg, wahając się od 42,25 do 58,7 hl/kg. Na podstawie histogramu można stwierdzić, że największy udział mają formy o ciężarze hektolitra od 52 do 54 hl/kg. Pomiary zawartości łuski w ziarnie wykazały, że u przeważającej ilości odmian udział łuski nie przekracza 27%, wynosząc średnio 26,15% i wahając od 21,6 do 32,7%. Średni MTZ oszacowany dla 500 linii i odmian wyniósł 36,8 g u form najlepszych stanowiąc aż 57,07g. Niemniej jednak u większości badanych obiektów MTZ nie przekroczył wartości średniej.

Plon z poletka wyniósł od 0,05 do 0,64 kg/m2, średnio 0,43 kg/m2 i dla większości badanych obiektów przekroczył wartość średnią. Rozpatrując odporność na choroby, stwierdzono wysoką odporność zarówno na mączniaka, jak i rdzę koronową, zawierającą się w przedziale 8-9. Prawdopodobnie jest to wynikiem sprzyjających warunków pogodowych, bądź występującego lokalnie patotypu o niskiej zjadliwości.

Mierniki dla tematu badawczego 2

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Lp. | miernik | wartość miernika podana w opisie zadania | wartość miernika zrealizowana |
| 1 | Liczba obiektów w doświadczeniu poddanych fenotypowaniu | 500 | 500 |

**3.3. Genotypowanie populacji RIL z wykorzystaniem systemu sekwencyjnego DArTseq**

Cel tematu badawczego 3

* Analiza polimorfizmu DArTseq 150 linii RIL reprezentujących populację mapującą E52 (*A. sterilis* × *A. sativa*) oraz 120 linii RIL E56 (*A. fatua* × *A. sativa*)

**Materiały i metody**

Genotypowaniu metodą DArTseq poddano 150 linii RIL reprezentujących populację mapującą E52 (*A. sterilis* × *A. sativa*) oraz 120 linii RIL E56 (*A. fatua* × *A. sativa*).

Izolacja DNA została przeprowadzona z wykorzystaniem komercyjnych zestawów (Qiagen). W celu określenia stężenia i czystości wyizolowanego DNA przeprowadzono pomiary spektrofotometryczne przy użyciu spektrofotometru NanoDrop2000. Każdą z próbek doprowadzono do stężenia 100 ng/µl. Przygotowane w ten sposób roztwory DNA przechowywano w temperaturze -25°C. Dla ustalenia jakości wyizolowanego DNA przeprowadzono rozdział elektroforetyczny w 1% żelu agarozowym z 0,01% bromku etydyny w buforze TBE. W celu identyfikacji polimorfizmu DArTseq genomowe DNA badanych form, w ilości 1500 ng z każdego genotypu, wysłano do analiz, które zostały zrealizowane w Diversity Arrays Technology, University of Canberra w Australii wg opatentowanej metodyki.

**Wyniki**

W celu analizy polimorfizmu DArTseq 150 linii RIL reprezentujących populację mapującą E52 (*A. sterilis* × *A. sativa*) oraz 120 linii RIL E56 (*A. fatua* × *A. sativa*) przeprowadzono izolację DNA.

1500 ng genomowego DNA reprezentującego 270 genotypów wysłano na 96 dołkowych płytkach Eppendorff w celu identyfikacji polimorfizmu DArTseq. W efekcie analiz sekwencyjnych uzyskano 47745 polimorficznych markerów kodominujących typu SNP oraz 95145 dominujących markerów silicoDArT. Dane uzyskane dla populacji E52 wykorzystano do konstrukcji mapy genetycznej w ramach tematu badawczego 3.4.

Mierniki dla tematu badawczego 3

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Lp. | miernik | wartość miernika podana w opisie zadania | wartość miernika zrealizowana |
| 1 | Liczba linii RIL genotypowanych metodą DArTseq | 270 | 270 |

**3. 4. Konstrukcja mapy genetycznej.**

**Cel tematu badawczego 4**

Cel tematu badawczego 4

* Celem tematu jest konstrukcja mapy genetycznej w oparciu o populację mapującą E52 (*A. sterilis*\_66 × *A. sativa* ‘Sam’)

**Materiały i metody**

Matryca binarna uzyskana w ramach usługi DArTseq w temacie badawczym 3.3 została przefiltrowana w celu usunięcia redundancji. Mapowanie genetyczne wykonano w programie MultiPoint. Analizę zrealizowano w kilku programach jednocześnie celem weryfikacji uporządkowania markerów genetycznych. W przypadku zaburzeń segregacji podjęto próby określenia asocjacji markerów molekularnych za pomocą mapowania asocjacyjnego.

**Wyniki**

Mapowanie genetyczne przeprowadzone dla populacji F7 E52 umożliwiło identyfikację dwudziestu jeden grup sprzężeń odpowiadających poszczególnym chromosomom owsa (Rys. 6). Na mapie zlokalizowano 1233 markery. Najdłuższy chromosom (12D) obejmował 137,1 cM, natomiast najkrótszy (10D-F-2) 21,3 cM. Średnia długość chromosomu wyniosła 96,3 cM. Najmniejszy chromosom składał się z 23 markerów (8A), natomiast największy (3C) z 92 markerów, średnio na chromosomie występowało 58,7 markerów (Tab. 13). Łącznie mapa miała długość 2022,7 cM, przy czym średnio markery występowały co 1,8 cM. Największą lukę pomiędzy markerami obserwowano w przypadku chromosomu 17A-7C (30,6 cM), a średnio największa, nie wypełniona markerami luka na chromosomie obejmowała 10,7 cM.

Przypisanie poszczególnych grup sprzężeń do konkretnych chromosomów owsa możliwe było dzięki porównaniu z mapą konsensusową owsa (Rys. 5).

Rys. 6. Mapa uzyskana na podstawie polimorfizmu DArTseq dla populacji F7 E 52 z grupami sprzężeń przypisanymi do chromosomów owsa.



Mierniki dla tematu badawczego 4

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Lp. | miernik | wartość miernika podana w opisie zadania | wartość miernika zrealizowana |
| 1 | Liczba konstruowanych map genetycznych. | 1 | 1 |

**3. 5. Identyfikacja markerów cech.**

**Cel tematu badawczego 5**

* Próba konwersji markera RAPD G12 dla genu *Dw*6 w marker typu SCAR.
* Poszukiwanie markerów RAPD sprzężonych z genem *Dw*7
* Konwersja kolejnych sekwencji DArT*seq* i *silico*DArT sprzężonych z obecnością genu *Dw*7 na markery specyficzne.

**Materiały i metody**

Różnicujące produkty RAPD po rozdziale w 1,5% żelu agarozowym z dodatkiem 0,01% bromku etydyny, w buforze 1 × TBE wycięto skalpelem. Izolację produktów PCR z żelu agarozowego przeprowadzono z wykorzystaniem zestawu do izolacji Gel Extraction Kit (Sigma). Wyizolowane DNA poddano klonowaniu z wykorzystaniem zestawu TOPO TA Cloning Kit for Sequencing lub równoważnego (Life Technologies). W efekcie kolonowania uzyskano kolonie bakteryjne. Kolonie o barwie białej zawierają zrekombinowany plazmid, z wbudowanym produktem PCR. W celu izolacji plazmidu przeniesiono bakterie z 3 kolonii do probówki zawierającej 10 µl sterylnej wody dejonizowanej i inkubowano na termobloku 10 minut w temperaturze 98ºC. Tak otrzymana matryca do PCR została wykorzystana do amplifikacji fragmentu plazmidowego DNA, który zawierał wklonowany fragment przeznaczony do sekwencjonowania. Celem oceny ilości i wielkości uzyskanego produktu przeprowadzono rozdział elektroforetyczny połowy mieszaniny reakcyjnej, zaś pozostałą część mieszaniny wysłano do sekwencjonowania – usługa komercyjna.

 Wyniki sekwencjonowania poddano analizie bioinformatycznej przy użyciu oprogramowania MEGA 6.0. Kolejnym etapem było odszukanie sekwencji homologicznych do sekwencji uzyskanych fragmentów DNA w bazie danych GenBank NCBI (z wykorzystaniem narzędzia BLAST (Basic Local Alignment Search Tool).

Do uzyskanych sekwencji zaprojektowano startery z wykorzystaniem oprogramowania Primer3. Wykorzystując jako matrycę DNA formy karłowej zawierającej *Dw*6 (np. STH 9210) oraz formy wysokiej (np. odmiana ‘Bingo’) przeprowadzono reakcje PCR w odpowiednio zoptymalizowanych warunkach. Jeśli rozdział elektroforetyczny potwierdził obecność pożądanych produktów uzyskany marker zwalidowano na populacjach mapujących z genem Dw6. W celu walidacji opracowanych markerów SCAR przeprowadzono reakcję amplifikacji.

Analizy PCR-RAPD przeprowadzono dla wytypowanych, homozygotycznych pod względem genu *Dw*7, roślin F2 populacji ‘Bingo’ x North Carolina. Próby zbiorcze roślin o przeciwstawnych fenotypach i genotypach przygotowano zgodnie z metodą BSA (Bulk Segregant Analysis) (Michelmore i in. 1991). W tym celu DNA homozygotycznych roślin F2, połączono ze sobą w jednakowych objętościach. Próbę zbiorczą tworzyło DNA 10 osobników F2 o określonym genotypie.

Amplifikację losowych fragmentów DNA przeprowadzono przy zastosowaniu 500 arbitralnych starterów RAPD dla 2 matryc DNA. Reakcję PCR prowadzono w 20 µl mieszaniny reakcyjnej zawierającej: wodę dejonizowaną, bufor, MgCl2 (2mM), dNTP (200mM), starter (10pMol), polimerazę *Taq* (1U) i DNA (40ng). Amplifikację przeprowadzono na termocyklerze T Professional Basic (Biometra). Zastosowano profil termiczny: wstępna denaturacja - 95°C - 3 min, denaturacja - 94°C - 45 s; annealing - 36°C- 45 s; wydłużanie - 72°C - 45 s; końcowe wydłużanie – 72°C - 7 min. W celu identyfikacji polimorfizmów występujących pomiędzy osobnikami niskimi i wysokimi przeprowadzono rozdział elektroforetyczny w 2% żelu agarozowym z 0,01% EtBr w buforze TBE (89 mM Tris-boran, 2,5 mM EDTA) przez 3 h przy napięciu 120V. Żele dokumentowano w systemie PolyDoc. W celu weryfikacji czy potencjalne markery są sprzężone z genem *Dw*7 przeprowadzono reakcje RAPD dla wytypowanych starterów z DNA pojedynczych homozygotycznych roślin F2 zgodnie z metodyką podaną powyżej.

Spośród roślin populacji 326 i 337, dla których przeprowadzono analizy DArTseq w roku 2014 i 2015, zidentyfikowano homozygoty dominujące (*Dw*7*Dw*7) oraz homozygoty recesywne (*Dw*7*Dw*7). Analiza segregacji markerów DArTseq i silicoDArT została ponownie przeprowadzona pod kątem identyfikacji ok. 10 markerów, których segregacja odpowiadała genotypom poszczególnych roślin. Zidentyfikowane markery DArTseq dla genu *Dw*7 przekonwertowano na markery specyficzne. Na podstawie sekwencji zidentyfikowanych markerów zaprojektowano startery do reakcji typu ASA lub STS. Projektowanie starterów przeprowadzono w programie Primer3 dostępnym na stronie NCBI z zastosowaniem specyficznych parametrów dla krótkich sekwencji.

W skład mieszaniny reakcyjnej o objętości 15 μL w reakcji STS weszły: 1 x bufor do PCR, 200 µM dNTP; 0,4 pMol poszczególnych starterów; 1,3 mM MgCl2; 30 ng genomowego DNA; 0,5 U Hot Start *Taq* DNA Polymerase. Zastosowano następujące profile termiczne: wstępna denaturacja przez 4 min. w 94°C, 35 cykli: denaturacja 94°C - 30 s, przyłączanie starterów (od 45 do 68°C – w zależności od sekwencji startera) - 20 s, wydłużanie starterów 72°C – 30 s, z końcową inkubacją 7 min. w 72°C. Optymalną temperaturę przyłączania każdego startera ustalono po przeprowadzeniu reakcji w gradiencie temperatury. Amplifikację STS prowadzono na termocyklerze Biometra. Produkty reakcji rozdzielano w 3 % żelu agarozowym (Micropore NU, Prona) z 0,01% EtBr w buforze TBE (89 mM Tris-boran, 2,5 mM EDTA). Żele archiwizowano z wykorzystaniem systemu dokumentacji PolyDoc.

**Wyniki**

W oparciu o wyniki badań prowadzonych w latach poprzednich stwierdzono, że amplifikacja fragmentu DNA o wielkości 1200 pz przy udziale startera RAPD G12 sprzężona jest z obecnością genu Dw6. Stwierdzono silne sprzężenie markera z cechą dlatego podjęto próbę konwersji markera RAPD na marker SCAR. W tym celu w pierwszym etapie badań wytypowano po 11 roślin niskich i wysokich z dwóch populacji mapujących z genem karłowatości Dw6 STH 9210 x Celer oraz STH 8797 x Bingo i przeprowadzono reakcję RAPD w obecności startera G12

Polimorfizm form rodzicielskich wymusił analizę populacji 337 pod kątem segregacji fragmentu G12. Obecność produktu stwierdzono u wybranych linii, ale jego segregacja niezależna była od wysokości linii. Pomimo, że produkt pojawił się u form nie posiadających genu *Dw6* podjęto decyzję o jego sekwencjonowaniu. Izolację produktów PCR z żelu agarozowego przeprowadzono z wykorzystaniem zestawu do izolacji. Wyizolowane DNA poddano klonowaniu. W efekcie kolonowania uzyskano kolonie bakteryjne. W celu izolacji plazmidu przeniesiono bakterie z pojedynczych kolonii do probówek zawierających 10 µl sterylnej wody dejonizowanej i inkubowano na termobloku 10 minut w temperaturze 98ºC. Dla każdego fragmentu z każdego genotypu pobrano po 10 kolonii. Tak otrzymana matryca do PCR została wykorzystana do amplifikacji fragmentu plazmidowego DNA, który zawierał wklonowany fragment przeznaczony do sekwencjonowania. Do amplifikacji wykorzystano standardowe startery M13. Celem oceny ilości i wielkości uzyskanych produktów przeprowadzono rozdział elektroforetyczny połowy mieszanin reakcyjnych, zaś pozostałą część mieszanin wysłano do sekwencjonowania.

Wyniki sekwencjonowania poddano analizie bioinformatycznej przy użyciu oprogramowania MEGA 6.0. Kolejnym etapem było odszukanie sekwencji homologicznych do sekwencji uzyskanych fragmentów DNA w bazie danych GenBank NCBI (z wykorzystaniem narzędzia BLAST (Basic Local Alignment Search Tool).

Do uzyskanych sekwencji zaprojektowano startery z wykorzystaniem oprogramowania Primer3.

Wykorzystując jako matrycę DNA formy karłowej zawierającej *Dw*6 (np. STH 9210) oraz formy wysokiej (np. odmiana ‘Bingo’) przeprowadzono reakcje PCR w odpowiednio zoptymalizowanych warunkach. Rozdział elektroforetyczny wykazał, że żadna z zaprojektowanych par starterów nie umożliwia identyfikacji genu *Dw6*.

W celu identyfikacji potencjalnych markerów dla genu karłowatości Dw7 obecnego w linii NC-2469-3 przeprowadzono analizę PCR-RAPD na wytypowanych homozygotycznych pod względem tego genu roślinach F2 populacji E337. Reakcję przeprowadzono na próbach zbiorczych niskich i wysokich roślin populacji F2, które przygotowano zgodnie z metodą BSA (Bulk Segregant Analysis) (Michelmore i in. 1991). Homozygoty dominujące - niskie i homozygoty recesywne - wysokie zidentyfikowano na podstawie obserwacji wysokości roślin pokolenia F3. Próbę zbiorczą utworzyło DNA 10 osobników F2 o określonym genotypie.

Do testowania wykorzystano 500 starterów RAPD z zestawów Operon Technologies:
A1-A20, B1-B20, C1-C20, D1-D20, E1-E20,
F1-F20, G1-G20, H1-H20, I1-I20, J1-J20,
K1-K20, L1-L20, M1-M20, N1-N20, O1-O20,
P1-P20, Q1-Q20, R1-R20, S1-S20, T1-T20,
U1-U20, V1-V20, W1-W20, Y1-Y20, Z1-Z20.

DNA wyizolowane z pojedynczych homozygotycznych roślin połączono w próby zbiorcze i poddano genotypowaniu przy udziale 500 starterów RAPD nie uzyskując dla większości starterów produktów różnicujących formy niskie od wysokich (Fot. 6), niemniej jednak dla kilku z nich (E17, K18, P9, T14, V2 i X3) zaobserwowano potencjalne produkty charakterystyczne tylko dla prób zbiorczych form niskich lub wysokich.

Kolejnym celem tematu badawczego była identyfikacja markerów DArT*seq* dla genu *Dw*7 i ich konwersja na markery specyficzne. Z uwagi na to, iż dotychczas prowadzona konwersja markerów nie doprowadziła do uzyskania dobrego markera dla genu *Dw*7, kolejne markery DArTseq przekonwertowano na markery specyficzne. Na podstawie sekwencji zidentyfikowanych markerów zaprojektowano startery do reakcji typu ASA lub STS (Tab. 16).

W pierwszym etapie oceny starterów przeprowadzono reakcje dla form rodzicielskich. Jednocześnie testowano różne przedziały temperatur przyłączania starterów, w celu określenia temperatury optymalnej. W efekcie tych reakcji dla każdej pary starterów ustalono optymalną temperaturę przyłączania do matrycy. W przypadku większości sekwencji DArTseq i silicoDArT dla owsa wytypowanych jako sekwencje markerowe dla różnego rodzaju genów analizowanych za pomocą tej technologii nie jest możliwe uzyskanie zgodności sekwencji produktu DArT z sekwencjami w bazie danych NCBI.

Mierniki dla tematu badawczego 5

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Lp. | miernik | wartość miernika podana w opisie zadania | wartość miernika zrealizowana |
| 1 | Liczba testowanych starterów RAPD | 500 | 500 |
| 2 | Liczba sekwencji DArTseq i silicoDArT sprzężonych z obecnością genu *Dw*7 | min. 10 | 11 |

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

|  |  |
| --- | --- |
| Prezentacja wyników na konferencjach |  |
| lp. | konferencja  | prezentacja | liczba prezentacji podana w opisie zadania | liczba prezentacji zrealizowana |
| 1 | Konferencja Naukowa Katedr Jednoimiennych „Nowe osiągnięcia polskich zespołów badawczych w dziedzinie genetyki, hodowli i biotechnologii roślin” Międzyzdroje 8 - 10 czerwiec 2016 - 1 osoba(temat 3.5/2016, str. 27-34) | wystąpienie | 1 | 1 |
| 2 | X International Oat Conference, 11 - 15 lipca 2016, St. Petersburg, Rosja – 1 osoba(temat 3.5/2016, str. 35-39) | poster | 1 | 1 |
| Publikacje w monografiach/czasopismach recenzowanych |  |
| lp. | monografia/czasopismo | publikacja | liczba publikacji podana w opisie zadania | liczba publikacji zrealizowana |
|  | Annales UMCS (po recenzji, w druku); Paczos-Grzęda E., Nowak M. 2016. Analiza elementów plonu mieszańców międzyodmianowych owsa o zredukowanej długości źdźbła.(temat 3.2/2014, str. 16-22) | praca oryginalna | 1 | 1 |

*Jeśli któryś z mierników nie został zrealizowany należy podać przyczyny.*

Załączniki:

1. Edyta Paczos-Grzęda, Sylwia Sowa, Agnieszka Ostrowska, Piotr T. Bednarek. DArTseq markers towards Dw7 dwarfing gene in oats. Abstracts of oral and poster presentation X International Oat Conference, 11 - 15 July 2016, St. Petersburg, Rosja – poster, str. 141.

2. Edyta Paczos-Grzęda, Agnieszka Ostrowska, Sylwia Sowa. Identyfikacja markerów molekularnych dla genu Dw7 warunkującego karłowatośc owsa. „Nowe osiągnięcia polskich zespołów badawczych w dziedzinie genetyki, hodowli i biotechnologii roślin”Konferencja Naukowa Katedr Jednoimiennych Międzyzdroje 8 - 10 czerwiec 2016, str. 58.

5. Adres, pod którym wyniki badań są dostępne na stronie internetowej wnioskodawcy

http://www.up.lublin.pl/badania-gen/

6. Miernik zadania - stopień realizacji.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **lp.** | **miernik** | **wartość miernika podana w opisie zadania** | **wartość miernika zrealizowana** | **stopień realizacji zadania** |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| **temat badawczy 1** |
| 1.1 | Liczba wyprowadzanych kombinacji mieszańcowych | 9 | 8 | 0,89 |
| 1.2 | Liczba fenotypowanych kombinacji F1 | 14 | 14 | 1,00 |
| 1.3 | Liczba fenotypowanych populacji F2 | 2 | 2 | 1,00 |
| 1.4 | Liczba fenotypowanych populacji F3 | 2 | 2 | 1,00 |
| 1.5 | Liczba populacji prowadzonych w kierunku RIL | 4 | 4 | 1,00 |
| **temat badawczy 2** |
| 2.1 | Liczba obiektów w doświadczeniu poddanych fenotypowaniu | 500 | 500 | 1,00 |
| **temat badawczy 3** |
| 3.1 | Liczba linii RIL genotypowanych metodą DArTseq | 270 | 270 | 1,00 |
| **temat badawczy 4** |
| 4.1 | Liczba konstruowanych map genetycznych. | 1 | 1 | 1,00 |
| **temat badawczy 5** |
| 5.1 | Liczba testowanych starterów RAPD | 500 | 500 | 1,00 |
| 5.2 | Liczba sekwencji DArTseq i silicoDArT sprzężonych z obecnością genu *Dw*7 | min. 10 | 11 | 1,10 |
|  |  |  | **ŚREDNIA** | 0,999 |
|  |  |  | **% REALIZACJI ZADANIA** | 99,9% |

Sporządzono:

Lublin, 11.01.2017 r.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Pieczęć jednostki | Osoba reprezentująca jednostkę | Kierownik zadania |
|  |  |  |
| data | podpis i pieczęć | podpis  |