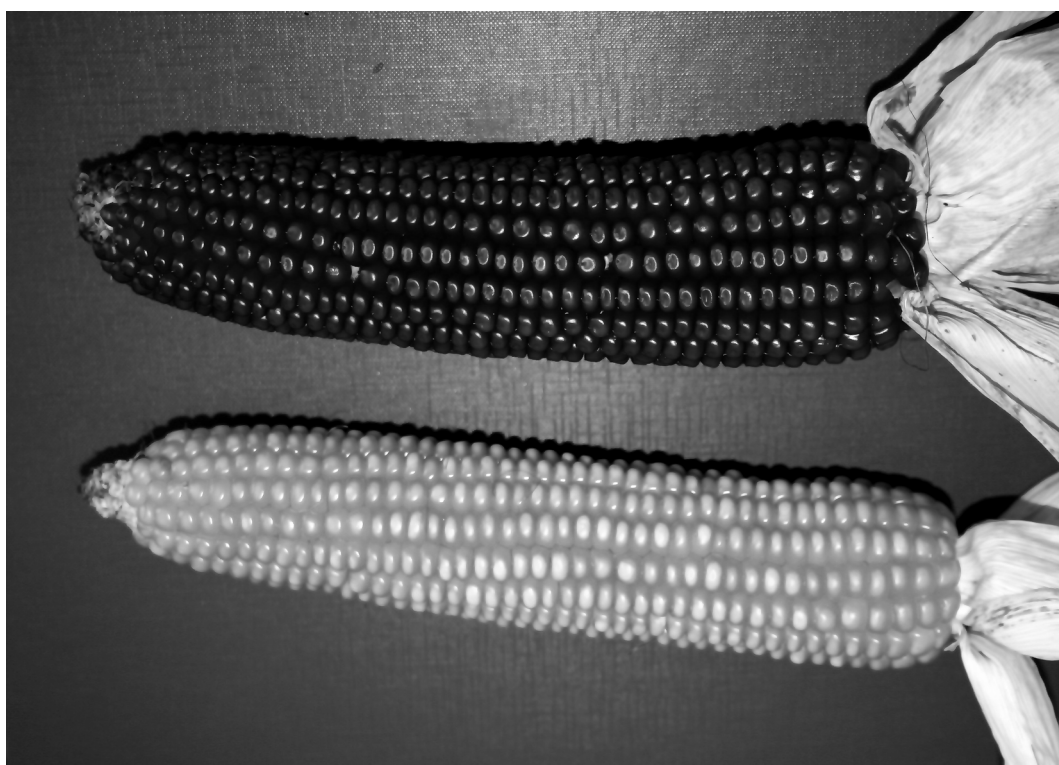




Odmiany mieszańcowe F1 kukurydzy *Zea mays*

Fot. Piotr Ochodzki

BIULETYN
INSTYTUTU HODOWLI
I AKLIMATYZACJI ROŚLIN
Nr 244/2007



Odmiany mieszańcowe F₁ kukurydzy *Zea mays* L. Fot. Piotr Ochodzki

RADZIKÓW 2007
INSTYTUT HODOWLI I AKLIMATYZACJI ROŚLIN — RADZIKÓW
05-870 BŁONIE pod WARSZAWĄ

INSTYTUT HODOWLI I AKLIMATYZACJI ROŚLIN
Dyrektor: Prof. dr hab. Edward Arseniuk

Komitet Redakcyjny:

Editorial Committee:

HENRYK J. CZEMBOR (Przewodniczący — Editor-in Chief),
DANUTA BOROS, WIESŁAW MĄDRY, WOJCIECH NOWACKI,
STANISŁAWA ROZTROPOWICZ-SZKUBEL, BARBARA ZAGDAŃSKA,
GABRIELA WODZYŃSKA-ŁAPIŃSKA (Sekretarz Redakcji — Editorial Secretary)

CZASOPISMO UKAZUJE SIĘ OD 1951 ROKU

Redaktor techniczny i skład komputerowy
GABRIELA WODZYŃSKA-ŁAPIŃSKA

Druk: PWR Sp. z o.o

MATERIAŁY Z KONFERENCJI

NAUKA DLA HODOWLI ROŚLIN UPRAWNYCH

ZAKOPANE, 29. 01 — 02. 02. 2007

POD PATRONATEM PROF. DR. HAB. EDWARDA ARSENIUKA
DYREKTORA INSTYTUTU HODOWLI I AKLIMATYZACJI ROŚLIN

ORGANIZATOR

INSTYTUT HODOWLI I AKLIMATYZACJI ROŚLIN
ZAKŁAD OCENY JAKOŚCI I METOD HODOWLI ZBÓŻ, KRAKÓW

KOMITET NAUKOWY KONFERENCJI

PROF. DR. HAB. ANDRZEJ ANIOŁ
PROF. DR. HAB. EWA ZIMNOCH-GUZOWSKA
PROF. DR. HAB. IWONA BARTKOWIAK-BRODA
PROF. DR. HAB. SŁAWOMIR PROŃCZUK

KOMITET ORGANIZACYJNY

PROF. DR. HAB. EDWARD ARSENIUK — PRZEWODNICZĄCY
DR JACEK WAGA
DR ANNA STRZEMBICKA
DR TADEUSZ ŚMIAŁOWSKI
MGR TADEUSZ ZAWISKI
ZBIGNIEW GRYMEK

OFICJALNY SPONSOR SYMPOZJUM

SYNGETA, CROP PROTECTION SP.Z O.O.

WARSZAWA UL. POWĄZKOWSKA 44C

SPONSORZY SYMPOZJUM

PRECOPTIC, CO. WOJCIECHOWSCY
CERESU WENA, WITKOWSCY
INTERMAG SP. ZOO.
NESTLE WATERS, POLSKA S.A.
EXPOL SP.ZOO.
BAHLSHEN, SNACKS S.A.
LAJKONIK, SNACKS S.A.
A.G.A. ANALYTICAL
TYSKIE BROWARY KSIĄŻECZE

WARSZAWA UL. ARKUSZOWA 60
TORUŃ UL. BIAŁA 19
OSIEK 174 A K/OLKUSZA
KRAKÓW UL. VETULANIEGO 1 A
NOWY SĄCZ UL. WĘGIERSKA 94
SKAWINA UL. PIŁSUDSKIEGO 1
SKAWINA UL. PIŁSUDSKIEGO 1
WARSZAWA UL. NOWOURSYNOWSKA 121 D
TYCHY UL. MIKOŁOWSKA 5







A.G.A. Analytical

syngenta®

PRECOPTIC Co.



Przedsiębiorstwo **INTERMAG Sp. z o.o.** założone w 1988 roku jest firmą polską, której podstawową działalnością jest produkcja z zakresu chemii nieorganicznej dla potrzeb rolnictwa i ogrodnictwa.

Wieloletnie doświadczenie, elastyczność, ścisła współpraca z ośrodkami naukowymi i ciągle udoskonalanie procesów technologicznych, umożliwiło nam stworzenie oferty, obejmującej około stu różnych

nawozów mineralnych oraz inne produkty dla profesjonalnych gospodarstw rolnych, ogrodniczych oraz upraw amatorskich.

Podstawowe serie naszych produktów to:

- wieloskładnikowe nawozy dolistne (płynne i krystaliczne) dla profesjonalnych upraw: rolniczych, sadowniczych, warzywniczych, roślin ozdobnych i przemysłowych
- CHELATY: Cu, Fe, Mn, Zn
- jednoskładnikowe nawozy dolistne dla upraw rolniczych i ogrodniczych
- nawozy do fertygacji i innych technik nawożenia z nawadnianiem
- nawozy „U” (utrudniające rozwój patogenów)
- granulowane nawozy dogłębne o spowolnionym uwalnianiu składników pokarmowych
- nawozy donasienne
- nawozy magnezowe
- wieloskładnikowe nawozy płynne i granulowane dla roślin pokojowych, balkonowych i ogrodowych
- produkty chemiczne — do stosowania w produkcji rolniczej i ogrodniczej

**WSZYSTKIE NASZE PRODUKTY SPEŁNIAJĄ KRYTERIA JAKOŚCI I EKOLOGII
OBOWIĄZUJĄCE W UNII EUROPEJSKIEJ**

Nawozy „U” utrudniające rozwój patogenów (serie nawozów alkalicznych i octanowych oraz niektóre mikroelementowe), ze względu na właściwości ochronne są szczególnie polecane do stosowania w integrowanej produkcji roślinnej.

Każdy produkt przechodzi staranny proces testowania oraz etap wdrożeń. Całość zagadnień dotyczących jakości produkowanych wyrobów regulują wdrożone: systemy zarządzania jakością ISO 9001:2001 oraz zarządzania środowiskiem ISO 14001:2005.

Wszystkie produkty oraz zagadnienia związane z ich stosowaniem, a także programy nawożenia różnych gatunków roślin uprawnych są szczegółowo przedstawione na kolejnych stronach.

Dodatkowych informacji udzielamy telefonicznie lub przesyłamy odrębne, szczegółowe opracowania.

SATYSFAKCJA I ZADOWOLENIE KLIENTÓW

to najważniejszy cel w naszej firmie, którego realizacji podporządkowane są wszystkie działania rozwojowe, produkcyjne oraz indywidualna praca każdego z członków załogi.

ZAPRASZAMY DO WSPÓŁPRACY

INTERMAG Sp. z o.o.

Osiek 174a, 32-300 Olkusz, Poland

tel.: + 48 32 64 55 900; fax.: + 48 32 64 27 044

email: intermag@intermag.pl; www.intermag.pl



INTERMAG is a Polish company founded in 1988. The company specializes in inorganic chemistry with an application in agriculture and horticulture.

Our long experience, flexibility, close cooperation with research and development centers as well as continuous improvement of technology have resulted in creation of wide range of fertilizers.

Our main fertilizer lines:

- Multicomponent foliar fertilizers (liquid and crystalline) for specialized agricultural and horticultural crops, orchards, ornamental and industry plants
- Chelates: Cu, Fe, Mn, Zn
- Single-component foliar fertilizers for agricultural and horticultural plants
- Fertilizers for fertigation and other fertilization techniques with irrigation
- Fertilizers with pathogen resistance properties
- Slow-Release granular fertilizers for soil application
- Seed fertilizer
- Multicomponent liquid and granular fertilizers for indoor, balcony and garden plants
- Chemical products – for application in agriculture and horticulture

ALL OUR PRODUCTS COMPLY WITH QUALITY AND ECOLOGICAL REQUIREMENTS OF EUROPEAN UNION

Fertilizers with pathogen resistance properties (alkaline and acetate fertilizer lines and some microelement fertilizers) because of their protective properties are especially recommended for application in integrated plant production.

Each product is subject to accurate testing and implementation processes. All issues concerning product quality are regulated by Quality Management System ISO 9001:2001 and Environmental Management System ISO 14001:2005.

It will be a pleasure for us to present you detailed information on our products and fertilizing programs designed for various plant species. Please contact us and we will give you all the information required.

SATISFACTION OF CLIENTS

Is the most important purpose of our company. All development and production activities as well as our individual work is dedicated to fulfill this aim.

WE INVITE YOU FOR COOPERATION.

INTERMAG Sp. z o.o.

Head Office and Production, Trade Office in Warsaw

Osiek 174a, 32-300 Olkusz ul. Jaworowa 42/3, 02-798 Warsaw, Poland

tel.: +48 32 64 55 900; tel. +48 606 657 316; +48 22 545 34 51

fax.: +48 32 64 27 044; fax +48 22 545 34 51

email: intermag@intermag.pl; email: joanna.kardasz@intermag.pl

www.intermag.pl

APARATURA KONTROLNO POMIAROWA



**WYŁĄCZNY PRZEDSTAWICIEL W POLSCE
FIRMY DICKEY JOHN CORPORATIN USA**

Oferta aparatury do kontroli jakości dla przemysłu rolno-spożywczego w zakresie ziaren zbóż, przetworów zbożowych i nasion oleistych

INSTALAB 600 — analizator podczerwieni NIR

- W jednej analizie szybkie — poniżej 1 minuty — oznaczanie kilku wyróżników jakościowych, jednocześnie możliwość badania jakości ziarna i mąki w jednym urządzeniu
- Oznaczanie w ziarnie pszenicy: zawartości białka, ilości glutenu, wskaźnika sedymentacyjnego Zeleny'ego
- Oznaczanie w mące pszennej: wilgotności, zawartości białka, ilości glutenu, zawartości popiołu
- Oznaczanie w ziarnie wszystkich zbóż: zawartości białka
- Urządzenie przyjazne dla środowiska: praca bez stosowania odczynników chemicznych
- Może pracować bezpośrednio na hali produkcyjnej

GAC 2100 — urządzenie do oznaczania wilgotności, gęstości i temperatury ziarna zbóż — pierwsza klasa dokładności, dostępne typy:

GAC 2001 BI możliwość stosowania 64 kalibracji

GAC 2001 GI możliwość stosowania 16 kalibracji **GAC 2001**

Agri możliwość stosowania 8 kalibracji

MULTI GRAIN — przenośny przyrząd do oznaczania wilgotności ziarna zbóż

TA.XT PLUS — analizator tekstury i cech reologicznych produktów rolnospożywczych

W RAMACH OFERTY CEREUS WENA ZAPEWNIĄ:

- Kompleksowe usługi w zakresie doradztwa inżynieryjno-technicznego
- Instalację urządzeń u klienta
- Szkolenie w zakresie obsługi oferowanych urządzeń
- Serwis gwarancyjny i pogwarancyjny

Cereus Wena Adam i Grażyna Witkowsky, ul. Biała 19, 87-100 Toruń Tel./Fax. 0 56 652 06 05, www.cereus.com.pl, e-mail: cereus@cereus.com.pl



Firma CEREUS WENA
ul. Biała 19, 87-100 Toruń, Polska,
tel./fax (056) 652 06 05, 654 87 83
e-mail: cereus@ikki.com.pl

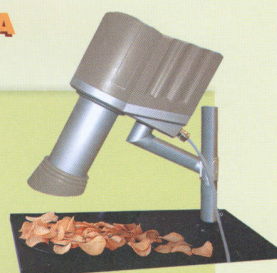


APARATURA POMIAROWA



SMS
ANALIZATOR TEKSTURY

INSTALAB 600
ANALIZATOR
PODCZERWIENI - NIR



IRPC
NIR - ANALIZATOR
PODCZERWIENI
"ON LINE"

GAC 2000
KOMPUTEROWY
WILGOTNOŚCIOMIERZ



oraz inne
urządzenia



MULTI - GRAIN
WILGOTNOŚCIOMIERZ



DARIUSZ R. MAŃKOWSKI**TADEUSZ OLEKSIK**

Pracownia Ekonomiki Nasiennictwa i Hodowli Roślin

Zakład Nasiennictwa i Nasionoznawstwa

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Radzikowie

Czynniki determinujące stosowanie kwalifikowanego materiału siewnego w gospodarstwach rolnych

Factors determining application of certified seed material in farms

Użycie przez rolnika kwalifikowanego materiału siewnego może być uzależnione od wielu czynników; ekonomicznych (cena materiału siewnego, dochodowość i opłacalność produkcji), technologicznych (stosowanej technologii i poziomu kultury uprawy), społecznych (wykształcenie, wiedza, doświadczenie), itp. Dodatkowo czynniki te mogą być ze sobą skorelowane. Trudno jest więc znaleźć jednoznaczną odpowiedź od czego zależy użycie kwalifikowanego materiału siewnego przez rolnika. W badaniach podjęto próbę identyfikacji czynników technologicznych wpływających na wykorzystanie kwalifikowanego materiału siewnego w uprawie głównych ziemiopłodów. Analizy wykonano w oparciu o dane pochodzące z badań ankietowych przeprowadzonych wśród rolników prowadzących rachunkowość rolniczą na potrzeby Instytutu Ekonomiki Rolnictwa i Gospodarki Żywnościowej. Badania prowadzono w latach 1992–2003. Łącznie, w tym okresie, obejmowały one 38 500 pól uprawnych. Uwzględniono dane dotyczące powierzchni całego gospodarstwa, powierzchni gruntów ornych w gospodarstwie, powierzchni uprawy gatunku, odległości gospodarstwa od punktu zaopatrzenia w materiał siewny, kwasowości gleby, jakości stanowiska, dawek nawożenia mineralnego, nawożenia organicznego, ilości wysiewu, terminu siewu oraz liczby zabiegów ochrony chemicznej. Do identyfikacji czynników determinujących wykorzystanie kwalifikowanego materiału siewnego wykorzystano analizę regresji logistycznej (PROC LOGISTIC) wykonaną w Systemie SAS® w wersji 9.1. Opracowano odrębne modele dla każdego z głównych ziemiopłodów (pszenicy ozimej, pszenicy jarej, jęczmienia jarego, pszenżyta ozimego oraz ziemniaków). Dobór zmiennych do modeli wykonano z wykorzystaniem kryteriów informacyjnych AIC (Akaike Information Criterion) oraz SBC (Schwarz Bayesian Criterion). Na podstawie przeprowadzonej analizy regresji logistycznej oceniono wpływ każdego z badanych czynników na wykorzystanie kwalifikowanego materiału siewnego w gospodarstwie.

Słowa kluczowe: badania ankietowe, regresja logistyczna, materiał siewny, jęczmień, pszenica, pszenżyto, ziemniaki

The farmers' decisions on the use of certified seed are influenced by numerous factors, e.g. economical (price of sowing material, farm profit), technological (soil and crop management systems), social (education, knowledge, experience) etc. The mentioned factors are usually correlated

(autocorrelation), which disturbs to give a simple answer to what the use of certified seed depends on. An attempt has been done at identification of some technological factors, which are significant for the main crops growers. The analysis based on survey research of the years 1992–2003, which was conducted on 38 500 fields of those farmers, who kept accountancy to meet the needs of Agriculture and Food Economy Institute. The data included: whole farm area, arable area, area under a specified crop, distance of a farm to a place of seed supply, soil acidity, soil quality, organic manuring, NPK fertilization, use of pesticides, rate and time of sowing. The data were subjected to the analysis of logistic regression (PROC LOGISTIC of the SAS® version 9.1) in order to determine the factors relevant for the use of certified seed material. The separate models were suggested for each of the studied crops (winter and spring wheat, spring barley, winter triticale, potato). Selection of variables for each of the models was performed using the AIC (Akaike Information Criterion) and SBC (Schwarz Bayesian Criterion). The use of certified seed was most closely related to the input factors, in particular to the mineral fertilization level and the number of fungicide treatments. The link was stated also with the production scale and total area of a farm.

Key words: barley, logistic regression, potatoes, seed material, survey research, triticale, wheat

WSTĘP

Materiał siewny uważany jest za ogniwo transmisji postępu odmianowego do produkcji polowej (Krzymuski, 1991, 1993, 1998; Oleksiak, 1998, 2000). Często jedną z barier w powszechnym wykorzystaniu kwalifikowanego materiału siewnego jest jego cena. Dzieje się tak, mimo że na podstawie wcześniejszych analiz (Oleksiak, 1998) podobnie jak i badań Instytutu Ekonomiki Rolnictwa i Gospodarki Żywnościowej, można stwierdzić, że koszt materiału siewnego zbóż stanowiący około 10–12% bezpośrednich kosztów produkcji jest względnie stałą i niewielką pozycją w relacji do kosztów nawozów czy paliwa (Oleksiak, 1998, Skarżyńska i in., 1996). Kwalifikowany materiał siewny łatwo jednak zastąpić własnym ziarnem. Między innymi, dlatego rolnicy często wykorzystują do siewu materiał własny o zdecydowanie gorszej jakości, lecz tańszy, bądź też kupują materiał niekwalifikowany.

Dla firm nasiennych duże znaczenie ma więc utrzymanie zadowalającego udziału w krajowym rynku nasion. Im ten udział będzie wyższy, tym wyższe będą dochody firm. Konkurencja dla krajowych firm nasiennych ze strony firm zagranicznych jest jednak bardzo groźna. W roku 2003 udział największych zagranicznych firm nasiennych w krajowym rynku materiału siewnego roślin zbożowych wynosił około 4%, w roku 2004 — około 11%, a w roku 2005 już około 13% (Oleksiak, 2004, 2006). Kluczowym narzędziem mającym na celu pomoc w utrzymaniu pozycji krajowych firm nasiennych na rynku staje się marketing. Jest to jednak działalność kosztowna. Potrzeba przemyślanych strategii i ukierunkowanych akcji promocyjnych. Niestety, brak jest kompleksowego rozpoznania rynku potencjalnych odbiorców, a kierowanie akcji marketingowych do całego rynku, może okazać się, przy skromnym budżecie firm krajowych, niemożliwe do wykonania. Istnieje więc potrzeba rozpoznania rynku i odnalezienia takich cech gospodarstw rolniczych, poza ceną materiału siewnego, które mogłyby wskazywać na to czy dany rolnik byłby zainteresowany kupnem kwalifikowanego materiału siewnego, czy też nie. Badania mające na celu rozpoznanie sytuacji rynkowej najczęściej prowadzi się za

pomocą szeroko zakrojonych badań ankietowych, prowadzonych wśród uczestników rynku.

W badaniach ankietowych często pozyskuje się dane o rozkładzie dwumianowym, najczęściej binarnym (0, 1), oznaczające wystąpienie, bądź niewystąpienie jakiegoś faktu w danym zjawisku. Jeżeli chcemy ustalić jak, pod wpływem zmiennych przyczynowych kształtuje się zmienna zależna o charakterze ciągłym, stosujemy zwykle analizę liniowej regresji wielokrotnej. Jednak tej metody nie możemy stosować w przypadku, gdy zmienna zależna posiada rozkład binarny. Wówczas możemy stosować regresję logistyczną. Metoda ta jest efektywnie stosowana w psychologii, medycynie oraz ekonomii, natomiast nie jest zbyt rozpowszechniona w badaniach rolniczych.

MATERIAŁ I METODY

Materiał do analiz stanowiły wyniki badań ankietowych gospodarstw indywidualnych z lat 1992–2003. Do analiz wykorzystano dane dotyczące 38 500 pól uprawnych, na których uprawiano główne ziemniopłody: pszenicę ozimą, pszenicę jary, jęczmień jary, pszenżyto ozime i ziemniaki. Tabela 1 zawiera zestawienie wykorzystanych w analizach zmiennych z badań ankietowych. Są to zmienne mówiące o gospodarstwie i polu uprawnym (powierzchnia pola uprawnego, powierzchnia gospodarstwa, powierzchnia gruntów ornych w gospodarstwie, odległość gospodarstwa od punktu zaopatrzenia w materiał siewny, odczyn gleby oraz jakość stanowiska / gleby), mówiące o nakładach na produkcję (liczba zabiegów pestycydami — fungicydami, herbicydami i insektycydami, nawożenie organiczne, nawożenie mineralne NPK) oraz zmienne dotyczące materiału siewnego (jakość materiału siewnego, ilość wysiewu, termin siewu).

Do opisu wpływu grupy cech (tzw. zmiennych przyczynowych) na zachowanie się jednej cechy (tzw. zmiennej zależnej) najczęściej stosuje się analizę funkcji regresji wielokrotnej. Metoda ta jednak wymaga spełnienia założenia, iż zmienna zależna ma rozkład ciągły i zbliżony do rozkładu normalnego. Wówczas funkcja regresji przyjmuje postać:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 \cdot X_1 + \beta_2 \cdot X_2 + \dots \quad (1)$$

gdzie:

Y — zmienna zależna;

$X_1, X_2, \dots$ — zmienne przyczynowe;

β_0 — stała regresji;

β_1, β_2 — częściowe współczynniki regresji.

Dla innych rozkładów zmiennej zależnej można zastosować różne modele zależnie od tego rozkładu.

W przypadku rozkładu binarnego, zmienna Y może przyjmować tylko dwie wartości 0 lub 1. Zmienną zależną jest rodzaj (jakość) materiału siewnego. Zmienna ta przyjmuje wartości: 1 — gdy stosowany był materiał kwalifikowany oraz 0 — gdy na pole wysiano materiał niekwalifikowany własny bądź z wymiany lub zakupu. Funkcja zmiennej binarnej przyjmuje postać (Agresti, 2002):

$$Y = \frac{e^{\beta_0 + \beta \cdot X}}{1 + e^{\beta_0 + \beta \cdot X}} \quad (2)$$

gdzie:

Y — zmienna zależna;

X — zmienna przyczynowa;

β_0 — stała regresji,

β — wektor parametrów.

Przekształcając funkcję regresji logistycznej (wzór 1), możemy wyznaczyć wartości szans (ang. odds) jako:

$$\frac{Y}{1-Y} = e^{\beta_0 + \beta \cdot X} \quad (3)$$

a następnie jako:

$$\ln\left(\frac{Y}{1-Y}\right) = \beta_0 + \beta \cdot X \quad (4)$$

Ten zapis nosi nazwę logitu:

$$\text{logit}[Y] = \ln\left(\frac{Y}{1-Y}\right) = \beta_0 + \beta \cdot X \quad (5)$$

Logit jest naturalnym parametrem rozkładu dwumianowego. Jeżeli wartość zmiennej Y musi wynosić 0 lub 1, to logit może przyjmować dowolną wartość ze zbioru liczb rzeczywistych.

W przypadku regresji logistycznej wielokrotnej funkcja przyjmuje postać (Der i Everitt, 2002):

$$\text{logit}[Y] = \ln\left(\frac{Y}{1-Y}\right) = \beta_0 + \beta_1 \cdot X_1 + \beta_2 \cdot X_2 + \dots \quad (6)$$

gdzie:

Y — zmienna zależna;

$X_1, X_2, \dots$ — zmienne przyczynowe;

β_0 — stała regresji;

$\beta_1, \beta_2, \dots$ — cząstkowe współczynniki regresji.

Logit prawdopodobieństwa jest logarytmem naturalnym szansy (ang. odd) zajścia danego zdarzenia (Der i Everitt, 2002). Dla $\beta' = [\beta_0, \beta_1, \beta_2, \dots, \beta_k]$ oraz wektora parametrów dla i -tych wartości jako $\mathbf{X}'_i = [1, X_{i1}, X_{i2}, \dots, X_{ik}]$, przewidywane prawdopodobieństwo w postaci funkcji liniowej można zapisać wzorem:

$$Y(\beta' \mathbf{X}_i) = \frac{e^{(\beta' \mathbf{X}_i)}}{1 + e^{(\beta' \mathbf{X}_i)}} \quad (7)$$

Tabela 1

Zmienne wykorzystane w analizie regresji logistycznej
Variables used in the logistic regression analysis

Nazwa zmiennej Variable name	Opis Description	Ocena Evaluation
AREA	Powierzchnia pola, na którym uprawia się dany gatunek Area of field, on which the species was cultivated	ha
DISTANCE	Odległość gospodarstwa od punktu zaopatrzenia w materiał siewny Distance from farm to seed store	km
F_AREA	Powierzchnia gospodarstwa Farm area	ha
FUNGI	Liczba zabiegów fungicydami Number of fungicides operations	krotność zabiegów w okresie wegetacji number of operations in vegetation period
HERB	Liczba zabiegów herbicydami Number of herbicides operations	krotność zabiegów w okresie wegetacji number of operations in vegetation period
INSECT	Liczba zabiegów insektycydami Number of pesticides operations	krotność zabiegów w okresie wegetacji number of operations in vegetation period
K	Dawka nawożenia potasem w czystym składniku K fertilization dose, pure element	kg·ha ⁻¹
MANURE	Nawożenie obornikiem Organic manure	liczba lat wstecz od momentu ostatniego nawożenia obornikiem (0 — w danym roku; 1 — w roku poprzedzającym, itd.) number of years after the last organic manuring (0 — the same year, 1 — one year after, etc.)
N	Dawka nawożenia azotem w czystym składniku N fertilization dose, pure element	kg·ha ⁻¹
NPK	Łączna dawka nawożenia azotem, fosforem i potasem w czystym składniku N+P+K fertilization dose, pure element	kg·ha ⁻¹
P	Dawka nawożenia fosforem w czystym składniku P fertilization dose, pure element	kg·ha ⁻¹
PEST	Łączna liczba zabiegów chemicznej ochrony roślin Summarized number of chemical control operations	krotność zabiegów w okresie wegetacji number of operations in vegetation period
SEED_NO	Ilość wysiewu Sowing rate	kg·ha ⁻¹
SEED_QUALITY	Użyty materiał siewny Quality of seed material	0 — materiał niekwalifikowany, 1 — materiał kwalifikowany; 0 — non-qualified seed material, 1 — qualified seed material
SOIL_AC	Kwasowość gleby Soil pH	skala (1 — gleba bardzo kwaśna, 2 — gleba kwaśna, 3 — gleba lekko kwaśna, 4 — gleba obojętna, 5 — gleba zasadowa) scale (1 — very low pH, 2 — low pH, 3 — moderately low pH, 4 — neutral pH)
SOIL_P	Jakość gleby wyrażona w punktach waloryzacji rolniczej przestrzeni produkcyjnej (Witek, 1981) Soil quality in grades of agricultural production area evaluation	punkty (0 – 100) points (0 – 100)
SOWING_D	Termin siewu w dniach Sowing date in days	liczba dni od 1 stycznia number of days after 1 January
U_AREA	Powierzchnia gruntów ornych w gospodarstwie Farm arable area	ha

Podczas gdy logit może przyjmować dowolne wartości rzeczywiste, prawdopodobieństwo może przyjmować tylko wartości z zakresu $0 \leq Y(\beta'X_i) \leq 1$. W modelu regresji logistycznej parametr β_1 powiązany ze zmienną przyczynową X_i w postaci e^{β_1} jest szansą (ang. odd) na to, że $Y = 1$, gdy X_i wzrośnie o jeden (Der i Everitt, 2002).

Do oszacowania parametrów modelu zapisanego wzorem 6 wykorzystuje się metodę maksymalnej wiarygodności (ang. maximum likelihood). Funkcja wiarygodności dla regresji logistycznej ma postać:

$$l(\beta, Y) = \sum_i Y_i \cdot \ln[Y(\beta'X_i)] + (1 - Y_i) \cdot \ln[1 - Y(\beta'X_i)] \quad (8)$$

gdzie $Y' = [Y_1, Y_2, \dots, Y_n]$ jest obserwowanymi n wartościami dychotomicznej (binarnej) zmiennej zależnej. Funkcja wiarygodności dla regresji logistycznej jest maksymalizowana numerycznie z użyciem algorytmu iteracyjnego (Der i Everitt, 2002).

Budowa optymalnego modelu regresyjnego polega na wyborze jak najmniejszej liczby zmiennych przyczynowych przy zachowaniu jak najwyższej zdolności opisującej modelu. W statystyce matematycznej istnieje szereg różnych miar pozwalających na jak najlepszy, pod różnym względem, dobór zmiennych do modelu regresyjnego. Niestety większość z nich opracowana jest z myślą o analizie funkcji regresji wielokrotnej. W przypadku analizy regresji logistycznej możemy zastosować tak zwane kryteria informacyjne: *AIC* oraz *SBC* (Rawlings i in., 2001).

Kryterium informacyjne Akaike (1969) (*AIC* — ang. Akaike Information Criterion) wyznacza się jako:

$$AIC(p') = n \cdot \ln(SSE_p) + 2 \cdot p' - n \cdot \ln(n) \quad (9)$$

gdzie:

$AIC(p')$ — wartość *AIC* dla modelu z p' zmiennymi przyczynowymi w modelu, wliczając stałą;

n — liczba obserwacji;

SSE_p — suma kwadratów odchyłeń błędu dla modelu zawierającego wszystkie dostępne zmienne przyczynowe i stałą;

p' — liczba zmiennych w modelu wliczając stałą.

Wartość *AIC* wyznacza się dla modeli z kombinacją wszystkich zmiennych w modelu (zaczynając od modelu tylko ze stałą do modelu, w skład którego wchodzi wszystkie zmienne przyczynowe i stała), następnie za model optymalny uznaje się ten dla którego wyznaczona wartość *AIC* jest najmniejsza.

Kryterium informacyjne *SBC* (ang. Schwarz Bayesian Criterion), opracowane przez Schwarza (1978) oblicza się jako:

$$SBC(p') = n \cdot \ln(SSE_p) + [\ln(n)] \cdot p' - n \cdot \ln(n) \quad (10)$$

gdzie:

$SBC(p')$ — wartość *SBC* dla modelu z p' zmiennymi przyczynowymi w modelu, wliczając stałą;

n — liczba obserwacji;

SSE_p — suma kwadratów odchyłeń błędu dla modelu zawierającego wszystkie dostępne zmienne przyczynowe i stałą;

p' — liczba zmiennych w modelu wliczając stałą.

SBC podobnie jak AIC jest wyznaczane dla modeli wszystkich kombinacji zmiennych przyczynowych. Model, który ma najniższą wartość SBC jest uznawany za model optymalny.

Obliczenia wykonano z wykorzystaniem Systemu SAS® w wersji 9.1 (Allison, 1999; Stokes i Davis, 2000; Der i Everitt, 2002; SAS Institute Inc., 2004 a, 2004 b, 2004 c; Cody i Sumith, 2005).

Procedura LOGISTIC w Systemie SAS®

Do obliczeń wykorzystano procedurę LOGISTIC, która jest składową modułu SAS®STAT (SAS Institute Inc., 2004 c). Jej składnia w najprostszej formie jest następująca:

```
PROC LOGISTIC <OPCJE>;
  MODEL zmienna_zalezna = zmienne_przyczynowe /<OPCJE>;
RUN;
```

Ponieważ procedura ta wykonuje obliczenia dla jednego z góry określonego modelu i nie pozwala na wybór najlepszego modelu pod względem kryteriów *SBC* i *AIC* wartości tych kryteriów wyznaczono w oddzielnych podprogramach zwanych 'data-stepami'. Poniżej znajduje się przykładowy kod programu, dla pszenicy ozimej, w wyniku którego dla wszystkich możliwych modeli zostaną wyznaczone wartości kryteriów *SBC* i *AIC*:

```
ods listing close;
ods output bestsubsets = modele;
proc logistic data = pszenica_ozima desc;
  model seed_quality = f_area u_area area manure n p k
    seed_no herb fungi insect soil_p npk sowing_d
    est distance soil_ac / selection = score;
run;
ods output close;
ods listing;
data _null_;
  set pszenica_ozima nobs = il;
  call symput ( 'obs', put(il, best12.-L));
  stop;
run;
data modele;
  set modele;
  sbc = -scorechisq + log(&obs) * (numberofvariables + 1);
  aic = -scorechisq + 2 * (numberofvariables + 1);
run;
```

Następnie na podstawie wyznaczonych wartości wybrano modele o najmniejszych wartościach *SBC* i *AIC*. Dla tych modeli wykonano szczegółową analizę regresji logistycznej. Poniżej znajduje się przykładowy kod programu wykonującego taką analizę, dla pszenicy ozimej, dla modelu ze stałą oraz modelu bez stałej regresji:

```
proc logistic data = pszenica_ozima desc;
  model seed_quality = k herb fungi;
run;
proc logistic data = pszenica_ozima desc;
  model seed_quality = k herb fungi / noint;
run;
```

W przeprowadzonych analizach wzięto pod uwagę dwa uzyskane modele dla każdego z analizowanych gatunków roślin. Jeden model uzyskano przy zastosowaniu kryterium *AIC*, drugi z kolei przy zastosowaniu kryterium *SBC*. Dla każdego z kryteriów wyznaczono parametry funkcji regresji logistycznej z uwzględnieniem stałej regresji w modelu oraz bez stałej w modelu. Biorąc pod uwagę statystyki wyznaczone dla stałej regresji wybrano bądź wariant ze stałą, bądź bez stałej w modelu.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Pszenica ozima

Przy zastosowaniu kryterium *SBC* najlepszy model zawierał stałą i trzy zmienne (*SBC* = -219,698). W modelu znalazły się zmienne: nawożenie potasem, liczba zabiegów ochrony chemicznej herbicydami oraz fungicydami.

Tabela 2

Pszenica ozima — wyniki analizy ocen maksymalnej wiarygodności oraz ocen ilorazu szans
Winter wheat — results of analysis of maximum likelihood estimates and odds ratio estimates

Parametr Parameter	Ocena Estimate	Chi-kwadrat Walda Wald chi-square	Ocena ilorazu szans Odds ratio estimation	Ocena Estimate	Chi-kwadrat Walda Wald chi-square	Ocena ilorazu szans Odds ratio estimation
model ze stałą — model with intercept			model bez stałej — model without intercept			
Model z trzema zmiennymi Model with three variables						
Stała - Intercept	-2,1527	107,4145**	—	—	—	—
K	0,0123	35,8046**	1,012	0,00304	2,9634	1,007
HERB	0,6395	19,6132**	1,896	-0,6099	55,7650**	0,638
FUNGI	0,9768	107,8146**	2,656	0,9854	110,2795**	3,220
Model z pięcioma zmiennymi Model with five variables						
Stała - Intercept	-2,1235	100,1427**	—	—	—	—
F_AREA	-0,0763	7,1778**	0,926	-0,1246	17,8778**	0,883
U_AREA	0,0846	8,1171**	1,088	0,1319	18,5513**	1,141
K	0,0118	31,9883**	1,012	0,00308	2,9061	1,003
HERB	0,5904	16,6142**	1,805	-0,5966	49,5325**	0,551
FUNGI	0,9202	90,4265**	2,510	0,9327	92,0901**	2,541

** Istotne przy $\alpha = 0,01$; ** Significant at $\alpha = 0.01$

A najlepszy model przy zastosowaniu kryterium *AIC* (-246,307) był zbudowany ze stałej i pięciu zmiennych: powierzchnia gospodarstwa, powierzchnia gruntów ornych, nawożenie potasem, liczba zabiegów ochrony chemicznej herbicydami oraz fungicydami. Wyniki analizy regresji logistycznej pozwoliły na odrzucenie hipotezy globalnej o zerowych wartościach wszystkich współczynników β (chi-kwadrat ilorazu wiarygodności dla modelu z trzema zmiennymi i stałą wynosił 168,28**, a dla modelu z pięcioma zmiennymi i stałą wynosił 295,6426**). Szczegółowe oceny wartości parametrów modelu regresji logistycznej przedstawiono w tabeli 2.

Pszenica jara

Model zbudowany w oparciu o kryterium *SBC* (-61,0341) zawierał cztery zmienne (stała była nieistotna statystycznie), były to: powierzchnia gruntów ornych, liczba zabiegów fungicydami, jakość gleby w punktach, termin siewu. Przy zastosowaniu kryterium *AIC* (-93,8335) zbudowano model zawierający osiem zmiennych (stała również była nieistotna statystycznie): powierzchnia gospodarstwa, powierzchnia gruntów ornych, nawożenie fosforem, ilość wysiewu, liczba zabiegów fungicydami i insektycydami, jakość gleby w punktach oraz termin siewu.

Tabela 3

Pszenica jara — wyniki analizy ocen maksymalnej wiarygodności oraz ocen ilorazu szans **Spring wheat — results of analysis of maximum likelihood estimates and odds ratio estimates**

Parametr Parameter	Ocena Estimate	Chi-kwadrat Walda Wald chi-square	Ocena ilorazu szans Odds ratio estimation	Ocena Estimate	Chi-kwadrat Walda Wald chi-square	Ocena ilorazu szans Odds ratio estimation
	model zawierający stałą model with intercept			model nie zawierający stałej model without intercept		
	Model z czterema zmiennymi Model with four variables					
Stała - Intercept	0,1006	0,0155	—	—	—	—
U_AREA	0,00728	6,2009*	1,007	0,00730	6,2441*	1,013
FUNGI	0,7806	30,9420**	2,183	0,7838	32,2773**	2,870
SOIL_P	0,0234	25,7154**	1,024	0,0237	32,8200**	1,032
SOWING_D	-0,0258	12,6799**	0,974	-0,0250	75,9902**	0,981
Model z ośmioma zmiennymi Model with eight variables						
Stała - Intercept	1,2208	1,5311	—	—	—	—
F_AREA	-0,1181	5,1271*	0,889	-0,1150	4,8558*	0,891
U_AREA	0,1258	5,5450*	1,134	0,1230	5,2941*	1,131
P	0,00858	7,3671**	1,009	0,00902	8,2614**	1,009
SEED_NO	-0,00469	6,0531*	0,995	-0,00344	4,5435*	0,997
FUNGI	0,6560	17,6186**	1,927	0,6641	18,1176**	1,943
INSECT	0,4321	1,9937	1,541	0,4009	1,7482	1,493
SOIL_P	0,0220	21,2746**	1,022	0,0241	29,2125**	1,024
SOWING_D	-0,0255	11,7598**	0,975	-0,0181	17,3332**	0,982

* Istotne przy $\alpha = 0,05$; * Significant at $\alpha = 0.05$

** Istotne przy $\alpha = 0,01$; ** Significant at $\alpha = 0.01$

Wyniki analizy regresji logistycznej pozwoliły na odrzucenie hipotezy globalnej o zerowych wartościach wszystkich współczynników β (chi-kwadrat ilorazu wiarygodności

dla modelu z czterema zmiennymi bez stałej wynosił 156,6871**, a dla modelu z ośmioma zmiennymi bez stałej wynosił 174,6902**). Szczegółowe oceny wartości parametrów modelu regresji logistycznej przedstawiono w tabeli 3.

Jęczmień jary

Najlepszy model zbudowany w oparciu o kryterium *SBC* (-44,1257) zawierał pięć zmiennych bez stałej. Do modelu weszły: powierzchnia gruntów ornych, nawożenie potasem, ilość wysiewu, liczba zabiegów fungicydami oraz jakość gleby. Przy zastosowaniu kryterium *AIC* (-79,6014) do modelu weszło dziewięć zmiennych bez stałej, były to: powierzchnia gospodarstwa, powierzchnia gruntów ornych, liczba lat od nawożenia obornikiem, nawożenie azotem i potasem, ilość wysiewu, liczba zabiegów fungicydami, jakość gleby oraz termin siewu. Wyniki analizy regresji logistycznej pozwoliły na odrzucenie hipotezy globalnej o zerowych wartościach wszystkich współczynników β (chi-kwadrat ilorazu wiarygodności dla modelu z pięcioma zmiennymi bez stałej wynosił 180,8222**, a dla modelu z dziewięcioma zmiennymi bez stałej wynosił 196,25**). Szczegółowe oceny wartości parametrów modelu regresji logistycznej przedstawiono w tabeli 4.

Tabela 4

Jęczmień jary — wyniki analizy ocen maksymalnej wiarygodności oraz ocen ilorazu szans Spring barley — results of analysis of maximum likelihood estimates and odds ratio estimates

Parametr Parameter	Ocena Estimate	Chi-kwadrat Walda Wald chi-square	Ocena ilorazu szans Odds ratio estimation	Ocena Estimate	Chi-kwadrat Walda Wald chi-square	Ocena ilorazu szans Odds ratio estimation
	model zawierający stałą model with intercept			model nie zawierający stałej model without intercept		
	Model z pięcioma zmiennymi Model with five variables					
Stała - Intercept	-0,3871	0,4681	—	—	—	—
U_AREA	0,00795	9,0105**	1,008	0,00764	8,5719**	1,008
K	0,00864	10,8640**	1,009	0,00813	10,5272**	1,008
SEED_NO	-0,00898	13,1191**	0,991	-0,0105	70,3356**	0,990
FUNGI	0,5112	11,3825**	1,667	0,5051	11,1550**	1,657
SOIL_P	0,0136	11,0316**	1,014	0,0124	11,1325**	1,013
Model z dziewięcioma zmiennymi Model with nine variables						
Stała - Intercept	1,2681	1,4642	—	—	—	—
F_AREA	-0,0757	4,4750*	0,927	-0,0725	4,1324*	0,930
U_AREA	0,0878	5,5763*	1,092	0,0844	5,1977*	1,088
MANURE	-0,1126	4,6144*	0,893	-0,0999	3,8029	0,905
N	0,00482	3,3451	1,005	0,00548	4,5253*	1,005
K	0,00768	7,8869**	1,008	0,00814	8,9864**	1,008
SEED_NO	-0,00889	11,9812**	0,991	-0,00770	10,6603**	0,992
FUNGI	0,4765	8,8110**	1,610	0,4829	9,0928**	1,621
SOIL_P	0,0131	9,2025**	1,013	0,0148	13,0886**	1,015
SOWING_D	-0,0159	3,5875	0,984	-0,00754	2,5088	0,992

* Istotne przy $\alpha = 0,05$; * Significant at $\alpha = 0.05$

** Istotne przy $\alpha = 0,01$; ** Significant at $\alpha = 0.01$

Pszennyto ozime

Model zbudowany w oparciu o kryterium SBC (-11,6255) zawierał stałą dwie zmienne nawożenie potasem oraz liczba zabiegów fungicydami. Przy zastosowaniu kryterium AIC (-26,4126) zbudowano model zawierający stałą i pięć zmiennych: nawożenie potasem, liczba zabiegów fungicydami i insektycydami, jakość gleby oraz odległość od punktu zaopatrzenia w kwalifikowany materiał siewny. Wyniki analizy regresji logistycznej pozwoliły na odrzucenie hipotezy globalnej o zerowych wartościach wszystkich współczynników β (chi-kwadrat ilorazu wiarygodności dla modelu z dwoma zmiennymi i stałą wynosił 31,8016**, a dla modelu z pięcioma zmiennymi i stałą wynosił 40,1755**). Szczegółowe oceny wartości parametrów modelu regresji logistycznej przedstawiono w tabeli 5.

Tabela 5

Pszennyto ozime — wyniki analizy ocen maksymalnej wiarygodności oraz ocen ilorazu szans
Winter triticales — results of analysis of maximum likelihood estimates and odds ratio estimates

Parametr Parameter	Ocena Estimate	Chi-kwadrat Walda Wald chi-square	Ocena ilorazu szans Odds ratio estimation	Ocena Estimate	Chi-kwadrat Walda Wald chi-square	Ocena ilorazu szans Odds ratio estimation
	model zawierający stałą model with intercept			model nie zawierający stałej model without intercept		
	Model z dwoma zmiennymi Model with two variables					
Stała - Intercept	-1,2100	55,6453**	—	—	—	—
K	0,0127	15,8980**	1,013	-0,00499	5,6659*	0,995
FUNGI	0,5567	8,1123**	1,745	0,3140	2,7853	1,369
Model z pięcioma zmiennymi Model with five variables						
Stała - Intercept	-1,9382	23,1851**	—	—	—	—
K	0,0124	14,9232**	1,012	0,00789	6,8839**	1,008
FUNGI	0,6817	9,9885**	1,977	0,6917	10,4701**	1,997
INSECT	-0,8491	3,1804	0,428	-0,9541	4,1269*	0,385
SOIL_P	0,00995	2,5729	1,010	-0,0155	20,0811**	0,985
DISTANCE	0,0192	2,7143	1,019	-0,00937	0,8658	0,991

* Istotne przy $\alpha = 0,05$; * Significant at $\alpha = 0.05$

** Istotne przy $\alpha = 0,01$; ** Significant at $\alpha = 0.01$

Ziemniaki

Najlepszy model regresji logistycznej pod względem kryterium SBC (-215,560) zawierał siedem zmiennych, były to: powierzchnia gruntów ornych, nawożenie azotem, ilość wysiewu, liczba zabiegów herbicydami i fungicydami, jakość gleby oraz termin sadzenia.

Natomiast najlepszy pod względem kryterium AIC (-263,023) zawierał dziewięć zmiennych, były to: powierzchnia gruntów ornych, powierzchnia pola, nawożenie azotem, ilość wysiewu, liczba zabiegów herbicydami i fungicydami, jakość gleby, termin sadzenia oraz odczyn gleby. Wyniki analizy regresji logistycznej pozwoliły na odrzucenie hipotezy globalnej o zerowych wartościach wszystkich współczynników β (chi-kwadrat ilorazu wiarygodności dla modelu bez stałej wynosił 951,6936**, a dla modelu bez stałej wynosił

957,7404**). Szczegółowe oceny wartości parametrów modelu regresji logistycznej przedstawiono w tabeli 6.

Tabela 6

Ziemniaki — wyniki analizy ocen maksymalnej wiarygodności oraz ocen ilorazu szans
Potatoes — results of analysis of maximum likelihood estimates and odds ratio estimates

Parametr Parameter	Ocena Estimate	Chi-kwadrat Walda Wald chi-square	Ocena ilorazu szans Odds ratio estimation	Ocena Estimate	Chi-kwadrat Walda Wald chi-square	Ocena ilorazu szans Odds ratio estimation
	model zawierający stałą model with intercept			model nie zawierający stałej model without intercept		
Model z siedmioma zmiennymi Model with seven variables						
Stała - Intercept	-0,8892	1,1934	—	—	—	—
U_AREA	0,00681	9,6216**	1,007	0,00649	8,8776**	1,007
N	-0,00508	15,7445**	0,995	-0,00527	17,2159**	0,955
SEED_NO	0,000713	15,0683**	1,001	0,000611	14,9680**	1,001
HERB	0,4552	14,1072**	1,576	0,4478	13,6768**	1,565
FUNGI	0,4842	64,3103**	1,623	0,4858	64,7110**	1,625
SOIL_P	0,0161	33,7310**	1,016	0,0154	32,5640**	1,016
SOWING_D	-0,0311	29,0755**	0,969	-0,0362	120,0120**	0,964
Model z dziewięcioma zmiennymi Model with nine variables						
Stała - Intercept	-1,5598	3,3206	—	—	—	—
U_AREA	0,00563	5,9934*	1,006	0,00521	5,1864*	1,010
AREA	0,0914	4,1834*	1,096	0,0874	4,0465*	1,230
N	-0,00547	17,5467**	0,995	-0,00574	19,5629**	0,997
SEED_NO	0,000759	16,8233**	1,001	0,000585	13,6819**	1,001
HERB	0,4235	12,0304**	1,527	0,4173	11,6518**	1,929
FUNGI	0,4729	60,1492**	1,605	0,4782	61,6234**	1,818
SOIL_P	0,0156	31,6332**	1,016	0,0146	28,8050**	1,020
SOWING_D	-0,0303	27,6568**	0,970	-0,0386	119,1347**	0,969
SOIL_AC	0,1530	5,8272*	1,165	0,1176	4,8111*	1,266

* Istotne przy $\alpha = 0,05$; * Significant at $\alpha = 0.05$

** Istotne przy $\alpha = 0,01$; ** Significant at $\alpha = 0.01$

DYSKUSJA

Najsilniejszy związek ze stosowaniem kwalifikowanego materiału siewnego pszenicy ozimej stwierdzono dla takich czynników jak: nawożenie potasem, ilość zabiegów ochrony chemicznej herbicydami i fungicydami, w dalszej kolejności zidentyfikowano wpływ wielkości gospodarstwa oraz powierzchni gruntów ornych w gospodarstwie. Wszystkie te cechy, za wyjątkiem powierzchni gospodarstwa, mają dodatni wpływ na szansę użycia przez rolnika kwalifikowanego materiału siewnego, czyli im te cechy przyjmują wyższe wartości, tym bardziej wzrasta szansa na to, że rolnik zakupi kwalifikowany materiał siewny. Prawdopodobieństwo zastosowania materiału kwalifikowanego zwiększa się wraz ze wzrostem liczby zabiegów fungicydami, herbicydami, wraz ze wzrostem poziomu nawożenia potasem i zwiększaniem powierzchni gruntów ornych w gospodarstwie. Kierując akcją promocyjną kwalifikowanego materiału siewnego odmian pszenicy ozimej

firmy nasienne powinny więc kierować do rolników, którzy w prowadzonej przez siebie produkcji polowej wykorzystują fungicydy, herbicydy oraz znaczne dawki nawożenia potasem jak również do gospodarstw o większej skali produkcji. Ujemna korelacja między stosowaniem kwalifikowanego materiału siewnego a powierzchnią gospodarstwa wynikała z dużego udziału trwałych użytków zielonych w powierzchni tych gospodarstw.

W przypadku uprawy pszenicy jarej istotny związek ze stosowaniem kwalifikowanego materiału siewnego stwierdzono dla powierzchni gruntów ornych w gospodarstwie, liczby zabiegów fungicydami, jakości stanowiska oraz terminu siewu, wpływ miały również powierzchnia gospodarstwa, nawożenie fosforem, ilość wysiewu oraz ilość zabiegów insektycydami, przy czym ta ostatnia cecha nie wykazała istotnej wartości testu χ^2 — Walda. Dodatni wpływ na szansę wykorzystania kwalifikowanego materiału siewnego miały wszystkie wymienione cechy za wyjątkiem terminu siewu (im termin późniejszy, tym mniejsza szansa), ilości wysiewu i powierzchni gospodarstwa. Najsilniejszy wpływ miały: ilość zabiegów fungicydami oraz ilość zabiegów insektycydami. Kierując akcją promocyjną do rolników uprawiających pszenicę jarą firmy nasienne powinny zwrócić uwagę na rolników stosujących intensywne technologie, przy czym ważne jest by materiał siewny nie był wprowadzony na rynek zbyt późno, gdyż rolnicy stosujący siew w późniejszym terminie rzadziej sięgają po materiał kwalifikowany.

Najsilniejszy związek ze stosowaniem kwalifikowanego materiału siewnego w uprawie jęczmienia jarego wykazywały: liczba zabiegów fungicydami, jakość gleby, powierzchnia gruntów ornych, nawożenie potasem oraz nawożenie azotem. Nawożenie azotem i termin siewu nie wykazały jednak istotnej statystyki testowej. Wpływ ujemny wykazały: ilość wysiewu, powierzchnia gospodarstwa, nawożenie organiczne obornikiem, termin siewu. Pozostałe cechy istotnie wpływając na użycie kwalifikowanego materiału siewnego wykazywały wpływ dodatni. Przygotowując reklamy i promocje skierowane do producentów jęczmienia jarego, firmy nasienne powinny więc zwrócić szczególną uwagę na rolników, którzy stosują intensywne nawożenie potasem i ochronę chemiczną przed chorobami grzybowymi, mają gospodarstwa o dużym udziale gruntów ornych i dobrej jakości gleby.

W przypadku rolników uprawiających pszenżyto ozime, fakt użycia materiału kwalifikowanego istotnie wiązał się z nawożeniem potasem oraz liczbą zabiegów ochrony chemicznej przed chorobami grzybowym, znacznie mniejsze znaczenie, bo nie stwierdzono dla nich istotnych wartości statystyki testowej testu χ^2 — Walda, miały takie czynniki jak jakość gleby, odległość od gospodarstw do punktu zaopatrzenia w materiał siewny oraz ilość zabiegów ochrony chemicznej insektycydami. Przygotowując akcję promocyjną, firmy nasienne powinny więc kierować ją do rolników stosujących wysokie nawożenie, szczególnie potasem, oraz stosujących pełną ochronę chemiczną przed chorobami grzybowymi.

W przypadku ziemniaka największy wpływ na to czy rolnik decydował się na zakup kwalifikowanych sadzeńców miały: powierzchnia gruntów ornych (wpływ dodatni), nawożenie azotem (wpływ ujemny), ilość wysiewu (dodatni), liczba zabiegów herbicydami (dodatni), liczba zabiegów fungicydami (dodatni), jakość gleby (dodatni), termin sadzenia (ujemny); w dalszym rzędzie wpływ miały: powierzchnia pola (dodatni) oraz odczyn gleby

(dodatni). Najsilniejszy wpływ wykazały: liczba zabiegów fungycydami oraz liczba zabiegów herbicydami. Świadczy to tym, iż rolnicy stosujący najwyższy poziom agrotechniki zdecydowanie częściej sięgają po materiał kwalifikowany.

Przedstawione analizy obejmują jedynie pewną część spośród krajowych gospodarstw rolnych. Są to gospodarstwa wielkości 20–30 ha, zajmujące się głównie produkcją towarową. Tak więc wyników przeprowadzonych analiz nie można przełożyć na wszystkie gospodarstwa rolne. Założeniem niniejszej pracy była prezentacja metody umożliwiającej firmom nasiennym sprecyzowanie i ukierunkowanie kampanii marketingowych na określonych odbiorców. Opracowanie to jest tylko próbą prezentacji tego typu analizy. Aby otrzymać wyniki lepiej przekładające się na ogół gospodarstw rolnych należałoby przeprowadzić badania ankietowe na szerszą skalę, z lepszym, bardziej przekrojowym doбором próby.

Na podstawie przedstawionych wyników można zaobserwować wyraźne prawidłowości, które powinny znaleźć odzwierciedlenie w przypadku ogółu gospodarstw rolniczych. Wyraźnie widać, że kwestia wykorzystania kwalifikowanego materiału siewnego najsilniej wiąże się z poziomem agrotechniki stosowanej w gospodarstwach. Co ciekawe na fakt zakupu kwalifikowanego materiału siewnego nie miała istotnego wpływu odległość od gospodarstwa do punktu zaopatrzenia w ten materiał. Uzyskane wyniki pozwalają na takie przygotowanie reklam i promocji, aby dotarły one do odbiorców, którzy zakupią kwalifikowany materiał siewny. Reklamy odmian i firm nasiennych można dla przykładu dołączać do środków ochrony roślin, w szczególności do fungicydów lub do nawozów.

WNIOSKI

1. Analizę zależności pomiędzy zmiennymi przyczynowymi a zmienną zależną o rozkładzie binarnym (zerojedynkowym, dychotomicznym) można przeprowadzić za pomocą analizy regresji logistycznej. Wybór właściwego modelu można znacznie ułatwić poprzez zastosowanie kryterium *AIC* lub *SBC*.
2. W analizowanych gatunkach roślin uprawnych fakt wykorzystywania przez rolników kwalifikowanego materiału siewnego najsilniej związany był z nakładowymi czynnikami produkcji, a przede wszystkim z nawożeniem mineralnym i liczbą zabiegów z wykorzystaniem fungicydów. Stwierdzono również związek ze skalą produkcji, im większa powierzchnia gruntów ornych w gospodarstwie, tym większe prawdopodobieństwo zastosowania kwalifikowanego materiału siewnego.
3. Zaproponowana metoda statystyczna może być pomocna w przygotowywaniu przez firmy nasienne, kampanii marketingowych nowych odmian i materiału siewnego.

LITERATURA

- Agresti A. 2002. Categorical data analysis. 2nd Edition. New Jersey, USA, John Wiley & Sons Inc.
 Akaike H. 1969. Fitting autoregressive models for prediction. *Annals of the Institute of Statistical Mathematics*, 21: 243 — 247.

- Allison P. D. 1999. Logistic Regression Using the SAS System — Theory and Application. New York, USA, SAS Publishing, SAS Institute Inc., John Wiley & Sons Inc.
- Cody R. P., Smith J. K. 2005. Applied Statistics and the SAS Programming Language. 5th Edition. Upper Saddle River, NJ, USA, Pearson Education Inc.
- Der G., Everitt B. S. 2002. A handbook of statistical analyses using SAS. 2nd Edition. USA, CRC Press LLC.
- Krzymuski J. 1991. Postęp odmianowy w produkcji zbóż w Polsce. Cz. III. Introdukcja z hodowli do produkcji. Biul. IHAR 177: 17 — 24.
- Krzymuski J. 1993. Ekonomiczne aspekty nasiennictwa. Biul. IHAR 188: 187 — 193.
- Krzymuski J. 1998. Postęp biologiczny w rolnictwie. W: Woś A. (red.). Encyklopedia agrobiznesu. Warszawa, Fundacja Innowacja — Wyższa Szkoła Społeczno-Ekonomiczna.
- Oleksiak T. 1998. Wpływ kwalifikowanego materiału siewnego na plonowanie zbóż. Biul. IHAR 208: 3 — 9.
- Oleksiak T. 2000. Pszenżyto w produkcji — wykorzystanie efektów hodowli. Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej w Szczecinie, 206 Agriculturae 82: 199 — 204.
- Oleksiak T. 2004 Rynek nasion. Rynek Środków Produkcji i Usług dla Rolnictwa, Nr 25: 36 — 42.
- Oleksiak T. 2006 Rynek nasion. Rynek Środków Produkcji i Usług dla Rolnictwa, Nr 30: 30 — 36.
- Rawlings J. O., Pantula S. G., Dickey D. A. 2001. Applied regression analysis — a research tool. 2nd Edition. New York, USA, Springer-Verlag Inc.
- SAS Institute Inc. 2004 a. BASE SAS 9.1.3 Procedures guide. Cary, NC, USA, SAS Publishing, SAS Institute Inc.
- SAS Institute Inc. 2004 b. SAS 9.1 Companion for Windows. Cary, NC, USA, SAS Publishing, SAS Institute Inc.
- SAS Institute Inc. 2004 c. SAS/STAT 9.1 User's Guide. Cary, NC, USA, SAS Publishing, SAS Institute Inc.
- Schwarz G. 1978. Estimating the dimension of a model. Annals of Statistics, 6: 461 — 464.
- Skarżyńska A., Sadowska J., Reinstein J. 1996. Koszty jednostkowe i dochodowość produkcji rolniczej w gospodarstwach indywidualnych w 1995 roku. Zagadnienia Ekonomiki Rolnej 4/5: 80 — 123.
- Stokes M. E., Davis C. S. 2000. Categorical Data Analysis Using the SAS System. 2nd Edition. New York, USA, SAS Publishing, SAS Institute Inc., John Wiley & Sons Inc.
- Witek T. (red.) 1981. Waloryzacja rolniczej przestrzeni produkcyjnej Polski według gmin. Puławy, IUNG.

TADEUSZ OLEKSIK**DARIUSZ R. MAŃKOWSKI**

Pracownia Ekonomiki Nasiennictwa i Hodowli Roślin

Zakład Nasiennictwa i Nasionoznawstwa, IHAR — Radzików

Wpływ terminu siewu na plonowanie pszenicy ozimej na podstawie wyników badań ankietowych

The effect of sowing date on winter wheat basing on survey research results

Termin siewu jest jednym z ważniejszych czynników agrotechnicznych decydujących o plonowaniu pszenicy ozimej. Zagadnienie to analizowano wielokrotnie w warunkach doświadczeń ścisłych, czego wynikiem są zalecenia dotyczące terminów siewu uwzględniające różnice regionalne. Określono wpływ terminu siewu pszenicy ozimej na uzyskiwane plony z uwzględnieniem różnic siedliskowych oraz różnic w poziomie agrotechniki. Materiał do analizy stanowiły wyniki badań ankietowych gospodarstw rolniczych z lat 1992–2003. Dane te obejmowały łącznie 6 241 pól uprawnych, na których uprawiano pszenicę ozimą. Dane podzielono na trzy grupy zgodnie z terminem siewu: pola, na których pszenicę ozimą wysiano przed terminem optymalnym, pola, na których wysiano pszenicę w terminie optymalnym oraz na pola, na których siew nastąpił po terminie optymalnym. Przeprowadzono analizę wariancji oraz analizę regresji liniowej w celu opisanie różnic i trendów w plonowaniu w zależności od zastosowanych terminów siewu. Analizy statystyczne wykonano dla wszystkich pól, dla pól z podziałem na trzy grupy według jakości stanowiska, dla pól z podziałem na trzy grupy według nawożenia mineralnego NPK oraz dla wszystkich pól po wyznaczeniu plonów teoretycznych, nieobciążonych innymi, mierzalnymi efektami plonotwórczymi niż termin siewu. Wyznaczono różnice pomiędzy terminami siewu oraz opisano trendy reakcji plonu na przyspieszenie bądź opóźnienie siewu.

Słowa kluczowe: pszenica ozima, termin siewu, plonowanie, nawożenie NPK, jakość siedliska

One of the most important factors deciding on winter wheat yielding is sowing date. The literature recommendations concerning optimal sowing time for particular regions are a result of precise field experiments. The present study based on statistical analysis of results of survey research conducted in the years 1992–2003 on 6 241 farms representing variable soil quality and differentiated level of agricultural technology. The data were partitioned into three groups according to the sowing date: before optimal or optimal or after optimal; next they were subjected to analysis of variance and linear regression analysis. The analyses were made separately for all fields, for fields partitioned into three groups of soil quality, for fields with three different levels of NPK fertilization and, finally, for all fields again after calculation of yields unbiased by any measurable effects other than sowing date. The highest yields were obtained at sowing dates earlier than those recommended as the optimal ones. The delayed sowing caused significant decreases of yield. Very high NPK fertilization level compensated the yield

losses due to the late sowing. In poor habitats yielding of winter wheat was distinctly lower and the sowing delay caused no significant negative effect on yield.

Key words: winter wheat, sowing date, yielding, NPK fertilization, habitat quality

WSTĘP

Termin siewu jest jednym z ważniejszych czynników agrotechnicznych decydujących o plonowaniu pszenicy ozimej. W przeciwieństwie do innych elementów agrotechniki zachowanie optymalnego terminu siewu nie wymaga, przynajmniej teoretycznie, dodatkowych nakładów. Opóźnienie siewu powoduje słabsze rozkrzewienie i słabszy rozwój systemu korzeniowego, skrócenie źdźbeł a tym samym pogorszenie architektury łanu i mniejsze plony. Zagadnienie to analizowano wielokrotnie w warunkach doświadczeń ścisłych, czego wynikiem są zalecenia dotyczące terminów siewu uwzględniające regionalne zróżnicowanie klimatyczne. Nie prowadzono natomiast badań oceniających wpływ terminu siewu z wykorzystaniem danych pochodzących bezpośrednio z produkcji.

Celem pracy jest określenie wpływu terminu siewu pszenicy ozimej na uzyskiwane plony w warunkach produkcyjnych. Jednocześnie jest to próba weryfikacji istniejących i od lat niezmiennych zaleceń dotyczących optymalnych terminów siewu.

MATERIAŁ I METODY

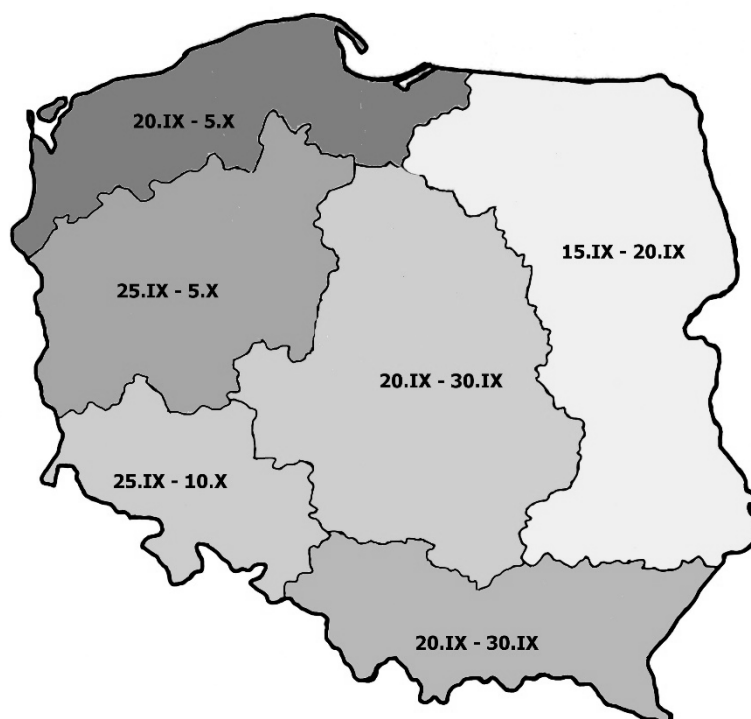
W pracy wykorzystano dane z badań ankietowych gospodarstw rolniczych uprawiających pszenicę ozimą w latach 1992–2003. Łącznie dane obejmowały 6241 pól uprawnych, na których uprawiano ten gatunek.

Analizowane pola uprawne podzielono na podstawie zaleceń agrotechnicznych (rys. 1) uprawy pszenicy ozimej (Podolska i Kaczyński, 1995) na pola, na których wysiewano pszenicę przed optymalnym terminem siewu (grupa T₋₁); na pola, na których wysiewano pszenicę w terminie optymalnym (grupa T₀) oraz na pola, na których siew wystąpił po terminie optymalnym (grupa T₁).

Dalsze analizy przeprowadzano oddzielnie dla:

- wszystkich pól łącznie;
- pól podzielonych na trzy grupy według jakości siedliska;
- pól podzielonych na trzy grupy według nawożenia mineralnego NPK;
- wszystkich pól łącznie, po przeliczeniu rzeczywistych plonów na plony teoretyczne nie obciążone różnicami wynikającymi z różnego poziomu agrotechniki ankietowanych gospodarstw indywidualnych.

Podział na grupy według jakości siedliska przeprowadzono na podstawie oceny jakości gleby wyrażonej w punktach waloryzacji rolniczej przestrzeni produkcyjnej (Witek, 1981). Siedliska podzielono na trzy grupy: od 0 do 45 punktów — siedliska słabe (S₁); od 46 do 73 punktów — siedliska średnie (S₂) oraz od 74 do 100 punktów — siedliska dobre (S₃).



Rys. 1. Optymalne terminy siewy pszenicy ozimej (Podolska i Kaczyński, 1995)
 Fig. 1. Winter wheat optimal sowing dates (Podolska and Kaczyński, 1995)

Ze względu na wielkość nawożenia mineralnego NPK pola uprawne podzielono trzy grupy: od 0 do 105 kg czystego składnika na hektar; od 106 do 211 kg czystego składnika na hektar oraz ponad 212 kg czystego składnika na hektar. Granice wyznaczono jako odchylenia o $\frac{1}{3}$ wartości średniej od średniego nawożenia mineralnego NPK w ankietowanych gospodarstwach indywidualnych.

Przeliczenie plonów rzeczywistych na plony teoretyczne, nieobciążone wpływem różnych poziomów agrotechniki w ankietowanych gospodarstwach, przeprowadzono zgodnie z metodyką zaproponowaną przez Oleksiaka i wsp. (2004). Za pomocą funkcji regresji wielokrotnej szacowano oddziaływanie czynników plonotwórczych na plonowanie, a następnie wyliczono plony teoretyczne przy średnich poziomach głównych czynników plonotwórczych. Wyniki analizy regresji wielokrotnej dla czynników plonotwórczych przedstawiono w tabeli 1. Współczynnik determinacji poprawiony względem stopni swobody wyniósł 30,25%, co oznacza, że jedynie taka część zmienności plonów jest tłumaczona przez analizowane czynniki plonotwórcze. Tak mała wartość współczynnika R^2 spowodowana jest specyfiką danych ankietowych. Do obliczeń wykorzystano ponad sześć tysięcy dwieście obserwacji pochodzących z różnych pól uprawnych. Informacje były zbierane za pomocą ankiety. Tak więc te dane obarczone są znaczącym błędem. Przy

analizie tego typu danych, uzyskany wynik jest jednak zadowalający, w przypadku innych tego typu analiz uzyskiwano wyniki porównywalne (Oleksiak i in., 2004; Laudański i in., 2007).

Tabela 1

Wyniki analizy regresji wielokrotnej głównych plonów względem czynników plonotwórczych
Multiple regression analysis results for yield versus main yielding factors

Analiza wariancji — Analysis of variance					
Źródło Source	DF	suma kwadratów sum of squares	średnia kwadratów mean square	wartość F F value	Pr > F
Model — Model	12	273121	22760	227,61	<,0001
Błąd — Error	6257	625680	99,99675		
Razem — Total	6269	898800			
Oceny parametrów — Parameters estimation					
zmienna variable	DF	ocena parametru parameter estimation	błąd standardowy standard error	wartość t t value	Pr > t
Stała regresji — Intercept	1	26,32099	1,93206	13,62	<,0001
Przedplon — Forecrop	1	0,10585	0,02668	3,97	<,0001
Nawożenie organiczne — Organic manure	1	-0,23428	0,07940	-2,95	0,0032
Nawożenie mineralne N — Mineral fertilization N	1	0,06553	0,00390	16,78	<,0001
Nawożenie mineralne P — Mineral fertilization P	1	0,00955	0,00714	1,34	0,1807
Nawożenie mineralne K — Mineral fertilization K	1	0,02635	0,00618	4,26	<,0001
Materiał siewny — Seeds	1	-1,11921	0,09689	-11,55	<,0001
Herbicydy — Herbicides	1	1,55111	0,27096	5,72	<,0001
Fungicydy — Fungicides	1	3,24492	0,21416	15,15	<,0001
Insektycydy — Insecticides	1	1,16549	0,54934	2,12	0,0339
Jakość siedliska — Habitat quality	1	0,13748	0,00760	18,08	<,0001
Termin zbioru — Time of harvest	1	-0,02113	0,00744	-2,84	0,0045
Odczyn gleby — Soil acidity	1	1,28025	0,15425	8,30	<,0001
R ²		0,3039	poprawiony R ² adjusted R ²		0,3025

DF — Liczba stopni swobody; Degrees of freedom

Do wyznaczenia plonów teoretycznych, nieobciążonych poziomem agrotechniki wykorzystano wszystkie zmienne włącznie z nawożeniem mineralnym fosforem, pomimo iż w analizie regresji wielokrotnej współczynnik regresji dla tej cechy nie wykazał istotnej statystycznie wartości statystyki testowej t ($t_{\text{emp}} = 1,34$).

Przeprowadzono testy F analizy wariancji wraz z procedurami porównań wielokrotnych Tukeya-Kramera, dla danych nieortogonalnych, dla klas terminów siewu względem uzyskiwanych plonów oraz wyznaczono funkcje regresji liniowej (tab. 2) w celu opisanie trendów liniowych zmian plonowania zależnie od terminu siewu. Z racji dużej liczby obserwacji i dużych rozrzutów obserwowanej cechy, przy ustalonych klasach terminów siewu, uzyskane w analizie regresji liniowej współczynniki determinacji były bardzo niskie (1,33%–3,36%). Wyniki tej analizy należy traktować więc jedynie jako próbę stwierdzenia występowania oraz wyznaczenia trendu zmian średnich plonów pszenicy ozimej wraz ze zmianą terminu siewu. Uzyskane współczynniki regresji możemy interpretować jako wskaźniki intensywności zmian średnich plonów przy przyspieszeniu i opóźnieniu terminu siewu.

Tabela 2

Wyniki analizy regresji liniowej plonów względem terminu siewu
Results of analysis of linear regression of yields on sowing terms

Zmienna Variable	Ocena parametru Parameter estimation	Wartość t t value	R ² modelu Models R ²	Poprawiony R ² modelu Models adjusted R ²	Wartość F modelu Models F-value
Analiza łączna — Combined analysis					
Stała — Intercept	44,63143	97,62**	0,0190	0,0188	120,82**
Współczynnik — Coefficient	-2,18273	-10,99**			
Siedliska słabe S ₁ — Poor habitats S ₁					
Stała — Intercept	40,21975	37,47**	0,0167	0,0157	17,66**
Współczynnik — Coefficient	-2,00356	-4,20**			
Siedliska średnie S ₂ — Medium habitats S ₂					
Stała — Intercept	44,20129	70,91**	0,0176	0,0173	59,26**
Współczynnik — Coefficient	-2,09066	-7,70**			
Siedliska dobre S ₃ — Good habitats S ₃					
Stała — Intercept	48,65956	59,79**	0,0336	0,0330	65,72**
Współczynnik — Coefficient	-2,81694	-8,11**			
Nawożenie — Fertilization NPK ≤ 105 kg					
Stała — Intercept	38,78764	52,74**	0,0210	0,0204	39,55**
Współczynnik — Coefficient	-1,96494	-6,29**			
Nawożenie — Fertilization NPK = 106–211 kg					
Stała — Intercept	43,09441	67,64**	0,0133	0,0129	36,46**
Współczynnik — Coefficient	-1,67660	-6,04**			
Nawożenie — Fertilization NPK ≥ 211 kg					
Stała — Intercept	51,22456	58,99**	0,0187	0,0181	31,87**
Współczynnik — Coefficient	-2,17184	-5,65**			
Analiza łączna dla plonów teoretycznych — Combined analysis for theoretical yields					
Stała — Intercept	43,18384	112,69**	0,0134	0,0133	84,87**
Współczynnik — Coefficient	-1,53338	-9,26**			

** — Istotne przy $\alpha=0,01$ ** — Significant at $\alpha=0.01$

Przetwarzanie danych oraz analizy statystyczne przeprowadzono w Systemie SAS® w wersji 9.1 (Westfall i in., 1999; Freund i Littell, 2000; Rawlings i in., 2001; Müller i Fetterman, 2003; SAS Intitute Inc., 2004 a, 2004 b, 2004 c; Cody i Smith, 2005).

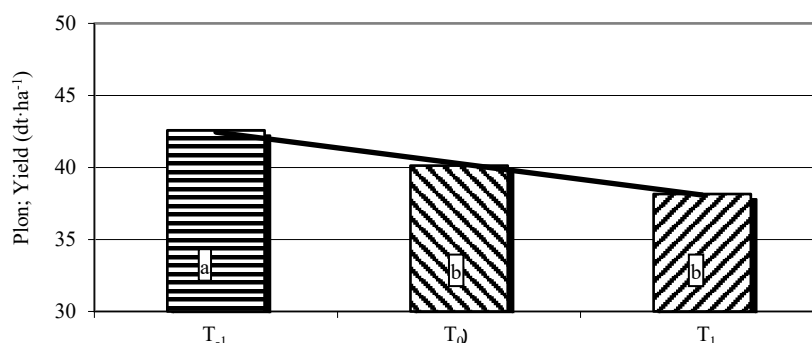
WYNIKI

Analiza łączna

W wyniku analizy wariancji przeprowadzonej dla terminów siewu stwierdzono istotne różnice pomiędzy klasami terminów siewu (statystyka $F = 60,70^{**}$). Przeprowadzona analiza funkcji regresji liniowej wykazała istotną zależność pomiędzy terminem siewu a uzyskanym plonem (tab. 2). Na rysunku 2 przedstawiono średnie plony dla klas terminu siewu, wyznaczoną funkcję regresji liniowej oraz wynik procedury porównań wielokrotnych Tukeya-Kramera.

Plony pszenicy ozimej wysianej w terminie optymalnym, zalecanym dla danego rejonu geograficznego były, średnio o $1,98 \text{ dt} \cdot \text{ha}^{-1}$ wyższe niż plony dla pszenicy wysianej

w terminie opóźnionym. Natomiast wysiew w terminie wcześniejszym od optymalnego spowodował wzrost plonów średnio o $2,45 \text{ dt} \cdot \text{ha}^{-1}$ (rys. 2).



Rys. 2. Średnie plony dla terminów siewu, funkcja regresji liniowej i wyznaczone grupy jednorodne.

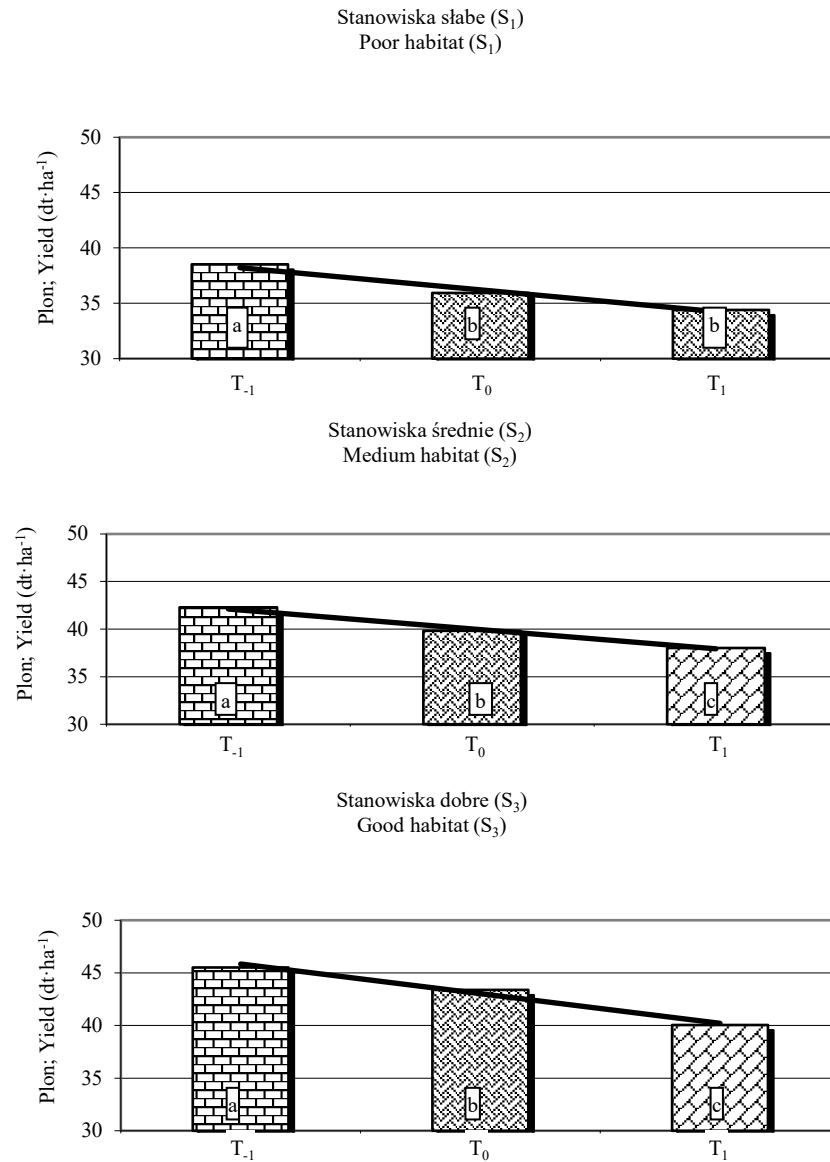
T_{-1} — termin siewu wcześniejszy niż optymalny; T_0 — optymalny termin siewu; T_1 — opóźniony termin siewu. Literami (a, b, c) oznaczono grupy jednorodne, średnie plony z jednakowymi literami nie różnią się w sposób istotny przy $\alpha = 0,05$.

Fig. 2. Mean values of yield for sowing dates, linear regression function and homogeneous groups. T_{-1} — sowing before the optimal date; T_0 — the optimal date of sowing; T_1 — sowing after the optimal date. Homogeneous groups were marked as characters (a, b, c), mean yields with the same character are not significantly different at $\alpha = 0.05$

Analiza dla grup wydzielonych ze względu na jakość siedliska

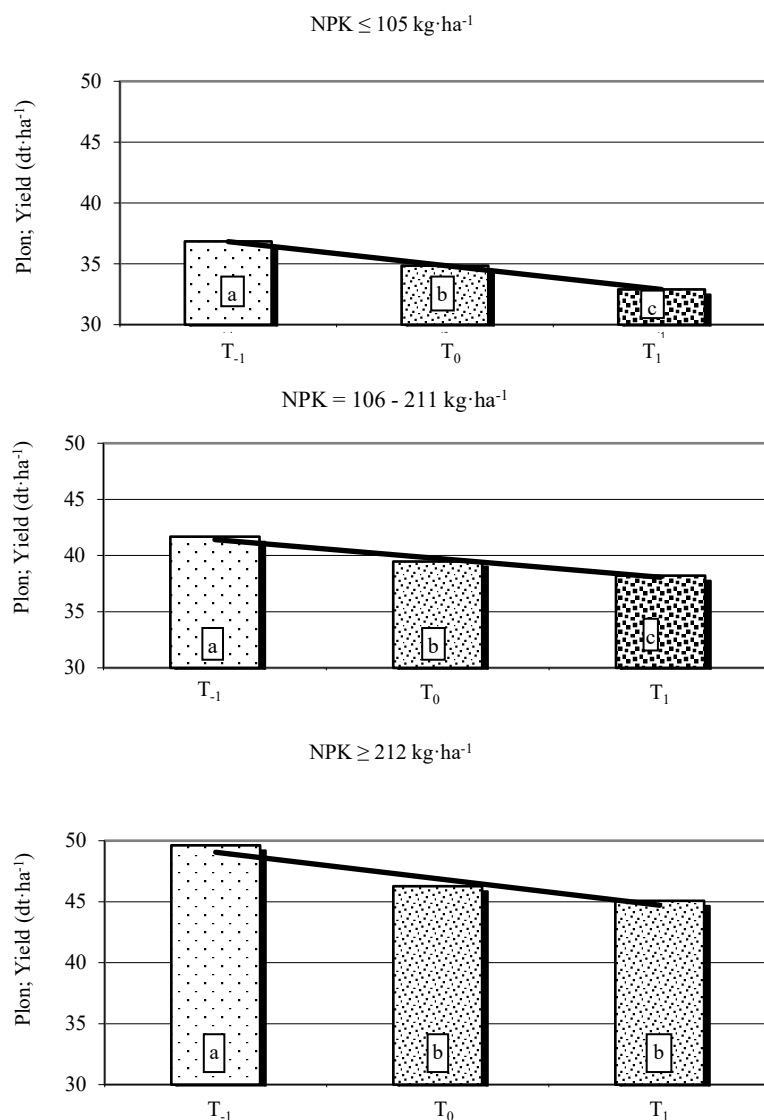
Po przeprowadzeniu analizy wariancji stwierdzono istotne różnice pomiędzy średnimi plonami dla terminów siewu (odpowiednio dla S_1 statystyka $F = 9,11^{**}$, dla S_2 — $29,94^{**}$, dla S_3 — $33,45^{**}$). Przeprowadzono analizę funkcji regresji liniowej (tab. 2). Na rysunku 3 przedstawiono średnie plony dla klas terminów siewu, wyznaczone funkcje regresji liniowej oraz grupy jednorodne wyznaczone za pomocą procedury Tukeya-Kramera.

Nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy terminem optymalnym a terminem opóźnionym w przypadku słabych siedlisk (S_1). Opóźnienie terminu siewu względem terminu optymalnego spowodowało spadek plonów pszenicy ozimej średnio o $1,79 \text{ dt} \cdot \text{ha}^{-1}$ w przypadku siedlisk średnich (S_2) oraz $3,33 \text{ dt} \cdot \text{ha}^{-1}$ w przypadku siedlisk dobrych (S_3). Natomiast siew przyspieszony spowodował wzrost średnich plonów odpowiednio o $2,6 \text{ dt} \cdot \text{ha}^{-1}$ dla S_1 , $2,47 \text{ dt} \cdot \text{ha}^{-1}$ dla S_2 oraz $2,13 \text{ dt} \cdot \text{ha}^{-1}$ dla S_3 (rys. 3).



Rys. 3. Średnie plony dla terminów siewu, funkcja regresji liniowej i wyznaczone grupy jednorodne.
 T_{-1} — termin siewu wcześniejszy niż optymalny; T_0 — optymalny termin siewu; T_1 — opóźniony termin siewu. Literami (a, b, c) oznaczono grupy jednorodne, średnie plony z jednakowymi literami nie różnią się w sposób istotny przy $\alpha = 0,05$

Fig. 3. Mean values of yield for sowing dates, linear regression function and homogeneous groups.
 T_{-1} — sowing before the optimal date; T_0 — the optimal date of sowing; T_1 — sowing after the optimal date. Homogeneous groups were marked as characters (a, b, c), mean yields with the same character are not significantly different at $\alpha = 0.05$



Rys. 4. Średnie plony dla terminów siewu, funkcja regresji liniowej i wyznaczone grupy jednorodne. T_{-1} — termin siewu wcześniejszy niż optymalny; T_0 — optymalny termin siewu; T_1 — opóźniony termin siewu. Literami (a, b, c) oznaczono grupy jednorodne, średnie plony z jednakowymi literami nie różnią się w sposób istotny przy $\alpha = 0,05$

Fig. 4. Mean values of yield for sowing dates, linear regression function and homogeneous groups. T_{-1} — sowing before the optimal date; T_0 — the optimal date of sowing; T_1 — sowing after the optimal date. Homogeneous groups were marked as characters (a, b, c), mean yields with the same character are not significantly different at $\alpha = 0.05$

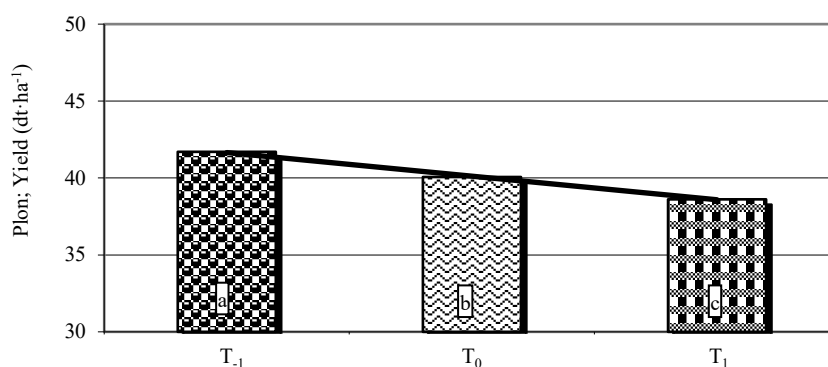
Analiza dla grup wydzielonych ze względu na poziom nawożenia mineralnego NPK

Stwierdzono istotne różnice pomiędzy wartościami średnich plonów dla terminów siewu w każdej z grup poziomów nawożenia mineralnego NPK (statystyka F dla NPK od 0 do 105 kg czystego składnika na hektar = 19,76**; statystyka F dla NPK od 106 do 211 kg czystego składnika na hektar = 18,85**; dla NPK od 212 kg czystego składnika na hektar = 17,62**). Przeprowadzono analizę funkcji regresji liniowej (tab. 2). Na rysunku 4 przedstawiono średnie plony dla klas terminów siewu, wyznaczone funkcje regresji liniowej oraz grupy jednorodne.

Nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy terminem optymalnym a terminem opóźnionym w przypadku stosowania wysokiego nawożenia mineralnego ($\text{NPK} \geq 212 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$). Opóźnienie terminu siewu względem terminu optymalnego spowodowało spadek plonów pszenicy ozimej średnio o $1,95 \text{ dt} \cdot \text{ha}^{-1}$ w przypadku zastosowania niskich dawek nawożenia mineralnego ($\text{NPK} \leq 105 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$) oraz $1,25 \text{ dt} \cdot \text{ha}^{-1}$ w przypadku średniego poziomu nawożenia mineralnego ($\text{NPK} = 106\text{--}211 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$). Natomiast siew przyspieszony spowodował wzrost średnich plonów odpowiednio o $1,98 \text{ dt} \cdot \text{ha}^{-1}$ w przypadku niskiego nawożenia NPK, $2,22 \text{ dt} \cdot \text{ha}^{-1}$ w przypadku średniego nawożenia NPK oraz $3,35 \text{ dt} \cdot \text{ha}^{-1}$ w przypadku wysokich dawek nawożenia NPK (rys. 4).

Analiza łączna dla plonów teoretycznych

Stwierdzono istotne różnice pomiędzy wartościami średnich plonów teoretycznych dla terminów (statystyka F = 42,49**). Przeprowadzono analizę funkcji regresji liniowej (tab. 2). Na rysunku 5 przedstawiono średnie plony dla klas terminów siewu, wyznaczone funkcje regresji liniowej oraz grupy jednorodne.



Rys. 5. Średnie plony teoretyczne dla terminów siewu, funkcja regresji liniowej i wyznaczone grupy jednorodne. T₋₁ — termin siewu wcześniejszy niż optymalny; T₀ — optymalny termin siewu; T₁ — opóźniony termin siewu. Literami (a, b, c) oznaczono grupy jednorodne, średnie plony z jednakowymi literami nie różnią się w sposób istotny przy $\alpha = 0,05$

Fig. 5. Mean values of theoretical yield for sowing dates, linear regression function and homogeneous groups. T₋₁ — sowing before the optimal date; T₀ — the optimal date of sowing; T₁ — sowing after the optimal date. Homogeneous groups were marked as characters (a, b, c), mean yields with the same character are not significantly different at $\alpha = 0.05$

Plony teoretyczne pszenicy ozimej wysianej w terminie optymalnym, zalecanym dla danego rejonu geograficznego były, średnio o 1,45 dt z ha wyższe niż plony dla pszenicy wysianej w terminie opóźnionym. Natomiast wysiew w terminie wcześniejszym od optymalnego spowodował wzrost plonów teoretycznych średnio o 1,64 dt·ha⁻¹ (rys. 5). Wyznaczona funkcja trendu liniowego dla zmian terminu siewu charakteryzowała się współczynnikiem regresji rzędu — 1,53 dt·ha⁻¹.

DUSKUSJA I PODSUMOWANIE

Znaczenie przestrzegania optymalnych terminów i negatywny wpływ opóźnienia siewu badano wielokrotnie. Według Kusia i wsp. (1991) dwutygodniowe opóźnienie siewu pszenicy ozimej powodowało spadek plonu w stosunku do terminu optymalnego średnio o 9%. Wykazywano również zróżnicowanie efektu opóźnienia siewu w zależności od warunków glebowych — spadki plonów na glebach słabszych były prawie dwukrotnie większe (Kuś i Jończyk, 1997). Według Grabińskiego (2005) nie ma wyraźnie określonej daty siewu oziminy, której nie należy przekraczać, bo istnieje szereg przykładów na stosunkowo dobre efekty produkcyjne przy wysiewie zbóż w terminie opóźnionym o 3–4 tygodnie, to jest nawet w końcowych dniach października, a nawet przy siewach jeszcze późniejszych — listopadowych. Jednak ryzyko uzyskania niskich bądź bardzo niskich plonów przy siewach bardzo późnych znacznie wzrasta. W pracach zajmujących się wpływem terminu siewu na plon analizuje się głównie następstwa opóźnienia terminu siewu. Sporadycznie jest natomiast analizowany efekt wcześniejszych siewów. Na ten element zwracał uwagę Noworolnik (1991) badając efekty wcześniejszego siewu jęczmienia ozimego oraz Kuś i Jończyk (1997) badając efekty wcześniejszego siewu pszenicy ozimej. W obu przypadkach, nie stwierdzono istotnego różnicującego plony wpływu wcześniejszych siewów.

Istotnie wyższe plony ziarna pszenicy ozimej Rosa, przy siewie w najwcześniejszym z zalecanych terminów agrotechnicznych, stwierdzono natomiast w 3-letnim doświadczeniu mikropoletkowym przeprowadzonym na Dolnym Śląsku przez Śniadego i Sobkowicza (1999).

Nasze badania dotyczące efektu opóźnienia siewów zasadniczo potwierdziły wcześniejszy stan wiedzy w tym zakresie. Plony uzyskane z pól, na których siew pszenicy ozimej nastąpił w terminie opóźnionym były istotnie niższe niż plony z pól, na których siew nastąpił w terminie zalecanym. Tendencja ta znalazła potwierdzenie również przy porównaniu plonów teoretycznych, nieobciążonych efektem stosowanej agrotechniki. Plony z pól, na których siew nastąpił w terminie opóźnionym stanowiły 95,07% plonów z pól gdzie siew wykonano w terminie optymalnym. W przypadku plonów teoretycznych wartość ta była na poziomie 96,38%.

Przyspieszenie terminu siewu spowodowało istotny wzrost uzyskiwanych plonów pszenicy ozimej. Plony uzyskane z pól gdzie siew nastąpił w terminie przyspieszonym były średnio na poziomie 106,11% plonów uzyskiwanych z pól, na których pszenicę wysiano w terminie optymalnym. Poziom ten dla plonów teoretycznych wynosił natomiast 104,09%.

Modyfikujący wpływ nawożenia mineralnego NPK na efekt opóźnienia terminu siewu pszenicy ozimej był widoczny jedynie w przypadku stosowania przez rolników bardzo wysokich dawek nawożenia. Przy dawkach NPK powyżej 212 kg czystego składnika na hektar nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy uzyskiwanymi plonami w terminie siewu optymalnym i opóźnionym, gdy w przypadku niższych dawek nawożenia te różnice były istotne. Podobne wyniki dla pszenżyta prezentowano w pracy Spychaj–Fabisiak (2005) gdzie istotne różnice spowodowane opóźnieniem terminu siewu stwierdzono jedynie dla najniższych dawek azotu. W naszych badaniach, we wszystkich grupach nawożenia mineralnego widoczna była istotna różnica pomiędzy plonami uzyskanymi z pól, na których pszenicę ozimą wysiano przed terminem optymalnym, a polami, na których wysiew nastąpił w terminie zalecanym. Na polach gdzie przyspieszono termin siewu średnie plony pszenicy stanowiły 106,24% plonów uzyskanych na polach, na których wysiano ten gatunek w terminie optymalnym. Opóźniony termin siewu względem terminu optymalnego powodował średnio spadek plonów do poziomu 95,69% plonów uzyskiwanych przy wysiewie w terminie optymalnym.

Wpływ siedliska na efekt opóźnienia siewu był widoczny w przypadku siedlisk średnich i bardzo dobrych. W przypadku siedlisk słabych, nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy plonami z pól o terminie siewu optymalnym a plonami z pól o opóźnionym terminie siewu. Brak różnic pomiędzy tymi terminami mógł być spowodowany bardzo niskimi plonami pszenicy w niesprzyjających warunkach siedliskowych. Plony uzyskane przy wysiewie w terminie optymalnym były na tyle niskie, że opóźnienie terminu siewu nie spowodowało już ich istotnego pogorszenia. Jednak w przypadku wszystkich grup siedlisk plony pszenicy ozimej uzyskane przy wysiewie przyspieszonym były istotnie wyższe niż plony uzyskane przy wysiewie w terminie zalecanym. Średnie plony z pól, na których pszenicę wysiano przed terminem zalecanym stanowiły 106,04% plonów uzyskanych z pól, na których siew nastąpił w terminie optymalnym. Natomiast plony z pól, na których siew nastąpił w terminie opóźnionym były średnio na poziomie 93,85% plonów z pól, na których pszenicę wysiano w terminie optymalnym.

O ile obniżenie plonów w przypadku opóźnienia terminu siewu jest zjawiskiem znanym, o tyle zaskakującym wynikiem jest bardzo korzystny efekt plonotwórczy siewów w terminach wcześniejszych niż dotychczas przyjmowane jako optymalne. Plony uzyskane w wyniku siewów w terminach wcześniejszych niż przyjęte za optymalne były we wszystkich analizowanych przypadkach istotnie wyższe niż uzyskiwane przy siewach w terminach przyjmowanych za optymalne.

Uzyskane wyniki mogą być sygnałem, że w następstwie zmieniających się warunków klimatycznych Polski, i zmieniającego się doboru stosowanych odmian należy ponownie przeanalizować i określić zalecenia uprawowe dotyczące terminów siewu dla pszenicy ozimej, a być może również i innych zbóż ozimych.

WNIOSKI

1. W warunkach produkcyjnych opóźnienie terminów siewu pszenicy ozimej powodowało istotne spadki plonów.

2. Stosowanie bardzo wysokich dawek nawożenia mineralnego, niwelowało straty plonów spowodowane opóźnieniem terminu siewu.
3. W siedliskach słabszych uzyskiwano wyraźnie niższe plony pszenicy a opóźnienie terminu siewu nie powodowało znaczącego spadku plonów.
4. Najwyższe plony uzyskiwano w wyniku siewu w terminach uważanych za wcześniejsze niż optymalne.

LITERATURA

- Cody R. P., Smith J. K. 2005. Applied Statistics and the SAS Programming Language. Fifth Edition. Upper Saddle River, NJ, USA: Pearson Education Inc.
- Freund R. J., Littell R. C. 2000. SAS System for Regression. Third Edition. New York, USA: SAS Publishing, SAS Institute Inc., John Wiley & Sons Inc.
- Grabiński J. 2005 Zasady agrotechniki. Zboże wysokiej jakości. Agroservis.
- Kuś J., Filipiak K., Jończyk K. 1991 Wpływ siedmiu wybranych czynników agrotechnicznych na plonowanie pszenicy ozimej. Pamiętnik Puławski, Z. 98: 7—22.
- Kuś J., Jończyk K. 1997 Oddziaływanie wybranych elementów agrotechniki na plonowanie pszenicy ozimej. Fragmenta Agronomica 3: 4—16.
- Laudański Z., Mańkowski D. R., Sieczko L. 2007. Próba oceny technologii uprawy pszenicy ozimej na podstawie danych ankietowych gospodarstw indywidualnych Część 1. Metoda wyodrębniania technologii uprawy. Biul. IHAR (w druku).
- Müller K. E., Fetterman B. A. 2003. Regression and ANOVA, an Integrated Approach Using SAS Software. New York, USA: SAS Publishing, SAS Institute Inc., John Wiley & Sons Inc.
- Noworolnik K. 1991 Wpływ terminu siewu i odleżenia się gleby na plonowanie jęczmienia ozimego. Pamiętnik Puławski, Z. 98: 67—76.
- Oleksiak T., Mańkowski D. R., Laudański Z. 2004. Metoda oceny postępu hodowlanego w warunkach produkcyjnych, Colloquium Biometryczne, 34a: 109—121.
- Podolska G., Kaczyński L. 1995. Charakterystyka i wymagania agrotechniczne odmian pszenicy ozimej. Puławy — Radzików — Słupia Wielka, IUNG, IHAR, COBORU.
- Rawlings J. O., Pantula S. G., Dickey D. A. 2001. Applied Regression Analysis — a Research Tool. Second Edition, New York, USA: Springer Verlag Inc.
- SAS Institute Inc. 2004 a. BASE SAS 9.1.3 Procedures guide. Cary, NC, USA, SAS Publishing, SAS Institute Inc.
- SAS Institute Inc. 2004 b. SAS 9.1 Companion for Windows. Cary, NC, USA, SAS Publishing, SAS Institute Inc.
- SAS Institute Inc. 2004 c. SAS/STAT 9.1 User's Guide. Cary, NC, USA, SAS Publishing, SAS Institute Inc.
- Śniady R., Sobkowicz P. 1999. Reakcja pszenicy ozimej na termin i gęstość siewu. Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej we Wrocławiu., Rol. LXXIV, Nr 367, 205—215.
- Spychaj-Fabisiak E., Łozek O., Knapowski T., Balcewicz M. 2005 Ocena oddziaływania terminu siewu i nawożenia azotem na wysokość plonu i zawartość białka ogólnego w ziarnie pszenżyta. Fragmenta Agronomica 185: 551—562.
- Westfall P. H., Tobias R. D., Rom D., Wolfinger R. D., Hochberg Y. 1999. Multiple comparisons and multiple tests using SAS. Cary, NC, USA: SAS Publishing, SAS Institute Inc.
- Witek T. (red.) 1981. Waloryzacja rolniczej przestrzeni produkcyjnej Polski według gmin. Puławy, IUNG.

ZBIGNIEW LAUDAŃSKI^{1 2}**DARIUSZ R. MAŃKOWSKI**¹**LESZEK SIECZKO**²¹ Pracownia Ekonomiki Nasiennictwa i Hodowli Roślin

Zakład Nasiennictwa i Nasionoznawstwa, IHAR — Radzików

² Katedra Biometrii, Wydział Rolnictwa i Biologii, SGGW — Warszawa

Próba oceny technologii uprawy pszenicy ozimej na podstawie danych ankietowych gospodarstw indywidualnych Część I. Metoda wyodrębniania technologii uprawy

**Attempt to evaluate winter wheat cultivation technology on the basis of survey data
from individual farms**

Part I. Method of selection of cultivation technology

W pracy wykorzystano statystyczne metody analizowania wyników badań ankietowych gospodarstw indywidualnych uprawiających pszenicę ozimą w latach 1992–2003. Każde spośród opisanych w badaniach ankietowych pól charakteryzowało się różnymi warunkami siedliskowymi (jakość gleby, odczyn gleby, przedplon) oraz różnym poziomem czynników agrotechnicznych (nawożenie mineralne, nawożenie organiczne, ochrona chemiczna, ilość wysiewu, termin siewu, materiał siewny). Można więc stwierdzić, że każde z pól przedstawiało odrębną technologię uprawy. Stosując metodę wielowymiarowej analizy czynnikowej podjęto próbę zagregowania tych technologii uprawy w grupy reprezentujące podobne technologie stosowane w praktyce. Następnie podjęto próbę scharakteryzowania oraz oceny wyodrębnionych w ten sposób grup technologii uprawy.

Słowa kluczowe: agrotechnika, analiza czynnikowa, pszenica ozima, siedlisko, technologie uprawy

The survey results for private farms cultivating winter wheat within the years 1992–2003 were analyzed statistically. Each of the fields described in the survey was characterized by different environmental conditions (soil quality, pH of soil, forecrop) and different level of technological factors (fertilization, manure, chemical protection, sowing amount, sowing term and material). This made possible to consider each of the fields as a separated cultivation technology. Using the method of multidimensional factor analysis an attempt was undertaken to separate groups including similar technological methods. Then, the groups were characterized.

Key words: agricultural technology, cultivation technology, factor analysis, habitat, winter wheat

WSTĘP

W produkcji polowej roślin rolniczych nie ma stałych, ścisłych zasad uprawy, są jedynie zalecenia uprawowe. Jednak rolnicy nie zawsze się do tych zaleceń stosują. Stwarza to znaczny problem przy próbach analizy danych pochodzących z gospodarstw indywidualnych. Technologia uprawy roślin wpływa w sposób znaczący na efekty uprawy. Tak, więc często dane pochodzące z kilku gospodarstw indywidualnych są wzajemnie nieporównywalne. W tej sytuacji badacz staje przed problemem wyodrębnieniem grup podobnych technologii uprawy. Taki zabieg umożliwia łatwiejszą identyfikację i eliminację z późniejszych analiz błędu systematycznego wynikającego z różnej kultury uprawy roślin. Podział technologii na grupy o podobnych warunkach uprawy może również mieć zastosowanie w przypadku analizy postępu technicznego i technologicznego w produkcji roślinnej.

Rolnicy indywidualni jedynie w nieznacznym stopniu stosują się dokładnie do zaleceń uprawowych. Najczęściej sami decydują o poziomach czynników uprawowych. Ich decyzje opierają się na różnych przesłankach, od uwarunkowań ekonomicznych, poprzez dostępny park maszynowy, aż po przekonanie, że „tak będzie lepiej”. Tego typu podejście stwarza bardzo duże problemy przy wykorzystaniu w badaniach wyników pochodzących bezpośrednio z gospodarstw indywidualnych, w szczególności z dużej liczby gospodarstw indywidualnych. Badania takie, oparte najczęściej na wynikach ankiet, są obciążone znaczącym błędem wynikającym z różnych, niejednorodnych warunków uprawy.

Tematyka oceny wpływu technologii uprawy na osiągane efekty w produkcji polowej z wykorzystaniem badań wyników badań ankietowych, była w literaturze dość powszechnie poruszana. Podejmowano próby identyfikacji i oceny wpływu czynników plonotwórczych na plony roślin uprawnych (Krzymuski, 1982; Krzymuski i in., 1993; Krzymuski i Laudański, 1995). Badano również wpływ intensywności gospodarowania na produkcję roślinną (Krzymuski i Laudański, 1993). Można również odnaleźć szereg prac dotyczących wpływu gleby na plony roślin uprawnych (Krzymuski i Krasowicz, 1985), wpływu kwalifikowanego materiału siewnego na plony (Oleksiak, 1998), wpływu nawożenia mineralnego czy też terminu siewu na plonowanie zbóż (Spychaj-Fabisiak i in., 2005) oraz wartości przedplonów w uprawie zbóż (Krzymuski, 1998). Ważnym, poruszonym przez badaczy tematem jest również wzajemne współdziałanie czynników plonotwórczych (Laudański, 1981; Krzymuski i Laudański, 1995, 1996).

W niniejsze pracy podjęto próbę identyfikacji różnych technologii uprawy pszenicy ozimej. Wyodrębnione technologie opisują praktykę uprawy pszenicy ozimej w latach 1992–2003 w ankietowanych gospodarstwach indywidualnych. W tej części pracy przedstawiono metodę identyfikacji i wyodrębniania technologii uprawy. W kolejnej części natomiast, zostanie dokonana szczegółowa charakterystyka wyodrębnionych technologii uprawy pszenicy ozimej.

MATERIAŁ I METODY

Materiał do analiz stanowiły wyniki badań ankietowych indywidualnych gospodarstw rolnych, przeprowadzane w latach 1992–2003 przez Pracownię Ekonomiki Nasiennictwa i Hodowli Roślin IHAR w Radzikowie. Do analiz wybrano dane dotyczące 4141 pól uprawnych, na których uprawiano pszenicę ozimą. Pośród badanych w ankietach czynników uprawy część stanowiły cechy ilościowe (plon, dawki nawożenia mineralnego, itp.), inne z kolei były traktowane jako cechy jakościowe (np. rodzaj materiału siewnego, odczyn gleby, rodzaj przedplonu, itp.). Do analiz wybrano tylko te czynniki produkcji, które istotnie wpływały na osiągnięte plony. Dla ujednolicenia danych i sprowadzenia poszczególnych cech do wartości porównywalnych, w pierwszej kolejności przewartościowano warianty cech jakościowych oraz poszczególne lata uprawy (lata uprawy obrazują wpływ warunków klimatycznych) na wartości średnich plonów. Do dalszego etapu analiz wykorzystano następujące cechy:

- Obornik — liczba lat wstecz, kiedy zastosowano na polu nawożenie organiczne obornikiem, (średnia = 2,03; odchylenie standardowe = 1,73; minimum = 0,00; maksimum = 20,00);
- Ilość wysiewu — wyrażona w $\text{kg} \cdot \text{ha}^{-1}$, (śred. = 276,99; odch. std. = 45,75; min = 140,00; max = 420,00);
- NPK — dawka nawożenia mineralnego N, P i K wyrażona w kg czystego składnika na hektar, (śred. = 157,69; odch. std. = 86,79; min = 0,00; max = 570,00);
- Termin siewu — liczba dni, które upłynęły od pierwszego stycznia do dnia siewu, (śred. = 270,60; odch. std. = 11,93; min = 225,00; max = 320,00);
- Pestycydy — łączna liczba zabiegów ochrony chemicznej fungycydami, herbicydami oraz insektycydami, (śred. = 1,70; odch. std. = 1,05; min = 0,00; max = 7,00);
- Przedplon — rodzaj przedplonu uprawianej pszenicy ozimej, przeliczony na średnie plony dla każdego przedplonu, w badaniach ankietowych rozróżniano 19 klas przedplonów, (śred. = 40,45; odch. std. = 3,57; min = 34,08; max = 48,74);
- Materiał siewny — rodzaj i stopień kwalifikacji materiału siewnego wyrażony w skali sześciostopniowej, przeliczony na średnie plony dla każdego ze stopni kwalifikacji, (śred. = 40,45; odch. std. = 3,47; min = 37,31; max = 49,99);
- Odczyn gleby — wyrażony w skali pięciostopniowej, przeliczony na średnie plony dla każdego z poziomów tej cechy, (śred. = 40,45; odch. std. = 2,22; min = 38,00; max = 45,62);
- Odmiana — średnie plony uzyskiwane dla danych odmian, do analiz wybrano dane dotyczące 18 odmian oraz grupy odmian nieznanymi krajowymi i zagranicznymi, (śred. = 40,45; odch. std. = 3,55; min = 34,40; max = 47,41);
- Jakość stanowiska — wyrażona w punktach waloryzacji rolniczej przestrzeni produkcyjnej (Witek, 1981), wyróżniono 8 poziomów tej cechy, przeliczona na średnie plony dla wartości tej cechy, (śred. = 40,45; odch. std. = 2,38; min = 29,80; max = 44,73);
- Lata uprawy — poszczególne lata reprezentowały różne, unikalne i losowe układy warunków klimatycznych istotnie wpływających na osiągnięte plony, wartość lat

wyrażono średnimi plonami uzyskiwanymi w danym roku, w przeprowadzonych analizach wykorzystano dane obejmujące 12 lat, (śred. = 40,45; odch. std. = 2,60; min = 35,18; max = 44,10).

Tak określone wartości cech przeliczono na skalę pięciostopniową według wzoru:

$$\frac{x_i - x_{\min}}{x_{\max} - x_{\min}} \cdot 5,$$

gdzie:

x_i — kolejna, i -ta wartość danej cechy

$x_{\max}$ — maksymalna wartość danej cechy

$x_{\min}$ — minimalna wartość danej cechy.

Prawidłowy dobór cech przyczynowych dla plonowania pszenicy potwierdza wykonana analiza regresji wielokrotnej (tab. 1), z której wynika istotny wpływ każdego z wybranych czynników na plony pszenicy ozimej. W tabeli 2 przedstawiono wartości średnie, odchylenia standardowe oraz współczynniki korelacji liniowej dla wybranych cech.

Tabela 1

Wyniki analizy regresji wielokrotnej plonu względem czynników plonotwórczych z uwzględnieniem wpływu lat
Results of multiple regression analysis of yield vs. yielding factors considering time influence (years)

Model regresji wielokrotnej Multiple regression model					
czynnik factor	ocena współczynników parameter estimation	błąd standardowy standard error	statystyka t t-statistic		
Stała — Intercept	14,07077	1,03328	13,62**		
Obornik — Manure	-0,98173	0,37321	-2,63**		
Ilość wysiewu — Sowing amount	0,67628	0,18977	3,56**		
NPK — N, P, K fertilization	3,16265	0,23880	13,24**		
Termin siewu — Sowing date	-0,93524	0,25034	-3,74**		
Pestycydy — Pesticide	2,73193	0,24418	11,19**		
Przedplon — Forecrop	1,22938	0,13753	8,94**		
Materiał siewny — Seed material	0,93203	0,12434	7,50**		
Odczyn gleby — Soil pH	0,95003	0,10646	8,92**		
Odmiana — Cultivar	0,65482	0,12515	5,23**		
Jakość stanowiska — Soil quality	2,51575	0,20055	12,54**		
Lata — Time (Years)	1,33017	0,10632	12,51**		
Analiza wariancji dla modelu Model's analysis of variance					
Źródło Source	liczba stopni swobody degrees of freedom	suma kwadratów sum od squares	średni kwadrat mean square	statystyka F F-statistic	
Model — Model	11	188598	17145	179,31**	
Błąd — Error	4129	394801	95,617		
Razem — Total	4140	583399			
R modelu Model's R	0,5686	R ² modelu Model's R ²	0,3233	poprawiony R ² modelu model's adjusted R ²	0,3215

** — Istotne przy $\alpha = 0,01$; R — Współczynnik korelacji; R² — Współczynnik determinacji;

** — Significant at $\alpha = 0.01$; R — Correlation coefficient; R² — Coefficient of determination

Tabela 2

Statystyki opisowe i współczynniki korelacji liniowej dla badanych czynników różnicujących technologie uprawy
Describe statistics and linear correlation coefficients for chosen factors differentiating cultivation technology

Czynnik Factor	Statystyki opisowe Describing statistics		Współczynniki korelacji liniowej Linear correlation coefficients									
	średnia mean	odchylenie standardowe standard deviation	obornik manure	ilość wysiewu sowing amount	NPK N P K fertilization	termin siewu sowing date	pestycydy pesticide	przedplon forecrop	materiał siewny seed material	odczyn gleby soil pH	odmiana cultivar	jakość stanowiska soil quality
Obornik Manure	0,506	0,432	1,000									
Ilość wysiewu Sowing amount	2,446	0,817	0,020	1,000								
NPK N, P, K fertilization	1,383	0,761	0,230	0,045	1,000							
Termin siewu Sowing date	2,400	0,628	0,093	0,112	0,143	1,000						
Pestycydy Pesticide	1,211	0,750	0,218	-0,021	0,466	0,131	1,000					
Przedplon Forecrop	2,174	1,217	0,251	0,053	0,307	0,139	0,310	1,000				
Materiał siewny Seed material	1,239	1,369	0,197	0,005	0,302	0,071	0,334	0,210	1,000			
Odczyn gleby Soil pH	1,610	1,452	0,011	0,017	0,110	-0,085	0,091	0,062	0,101	1,000		
Odmiana Cultivar	2,32565	1,363	0,110	0,045	0,322	0,003	0,311	0,203	0,339	0,110	1,000	
Jakość stanowiska Soil quality	3,568	0,769	0,060	0,130	0,005	0,078	0,015	0,088	0,050	0,009	0,067	1,000

Kolejnym etapem analizy było wykonanie analizy czynnikowej metodą składowych głównych wyodrębniania czynników, by następnie zastosować rotację Varimax z normalizacją Kaisera dla czterech pierwszych składowych (tab. 3) (Khattre i Naik, 2000; Der i Everitt, 2002).

Tabela 3

Wyniki analizy czynnikowej — stopień wyjaśnienia zmienności
Results of factor analysis — degree of variation explanation

Czynniki główne Main factors	Wartości własne po rotacji — Rotated eigenvalues		
	ogółem total	% wariancji variance per cent	skumulowany % wariancji cumulated variance per cent
1	2,417	24,169	24,169
2	1,127	11,267	35,436
3	1,080	10,797	46,233
4	1,071	10,715	56,947

Wyznaczono także oceny wartości czynnikowych, które posłużyły do oceny ważności poszczególnych czynników przy pomocy analizy regresji wielokrotnej plonu względem tych ocen. Te oceny wartości czynnikowych posłużyły także dla określenia dla każdego czynnika dwóch poziomów w ten sposób, że jeżeli wartość czynnika głównego była ujemna, wówczas przypisywano mu liczbę 0, jeżeli natomiast wartość czynnika głównego była nieujemna, wówczas nadawano mu liczbę 1. Zestawiając wszystkie cztery czynniki główne uzyskano $2^4 = 16$ wariantów (od 0 do 15) technologii produkcji.

W ramach analizy porównawczej średnich plonów dla wyodrębnionych technologii uprawy, przeprowadzono jednoczynnikową analizę wariancji w układzie losowanych bloków, przy czym lata potratowano jako bloki (Box i in., 2005). W celu opisania różnic pomiędzy średnimi plonami dla technologii uprawy wykorzystano procedurę porównań wielokrotnych Tukeya-Kramera (Kramer, 1956; Westfall i in., 1999).

Obliczenia wykonano w pakiecie statystycznym SPSS w wersji 12.0 (SPSS Inc., 2003) oraz w Systemie SAS® w wersji 9.1 (SAS Institute Inc., 2004 a, 2004 b).

OMÓWIENIE WYNIKÓW I DYSKUSJA

W wyniku przeprowadzonej analizy czynnikowej metodą składowych głównych z rotacją Varimax oraz zastosowaniem kryterium Kaisera, wyodrębniono cztery czynniki główne, które wyjaśniały łącznie 56,95% zmienności (tab. 3). Wartość własna czwartego czynnika głównego po rotacji przekraczała 1. Wybór czterech czynników głównych potwierdził dodatkowo test osypiska (rys. 1).

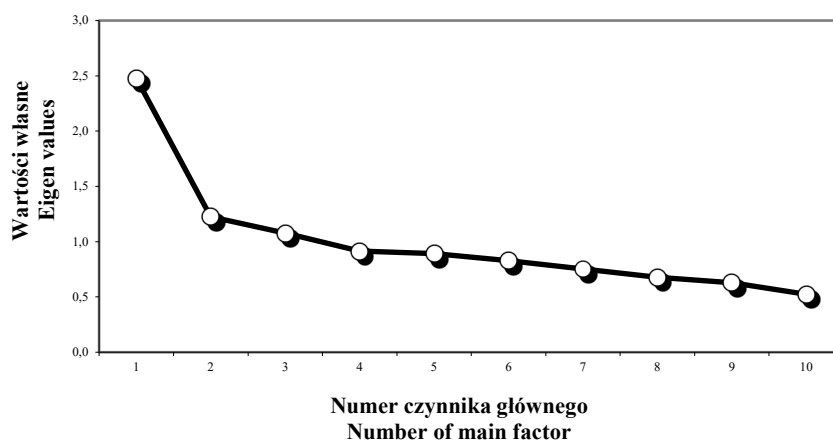
Na podstawie macierzy czynników (tab. 4) stwierdzono, że pierwszą grupę (czynnik) tworzą takie czynniki agrotechniczne jak: pestycydy, NPK, materiał siewny, odmiana, przedplon oraz obornik. Można powiedzieć, że są to w głównej mierze składniki nakładowe. Drugą grupę (czynnik) stanowią przede wszystkim: odczyn gleby, termin siewu, oraz w mniejszym stopniu wartość odmiany. To z kolei są składniki określające warunki uprawy. Trzecią grupę (czynnik) stanowią: ilość wysiewu oraz termin siewu, czyli elementy związane z siewem pszenicy ozimej. Czwartą grupę (czynnik) tworzą: jakość stanowiska, obornik

i przedplon, czyli podobnie jak w przypadku drugiej grupy, składniki związane ze stanowiskiem (warunkami) uprawy.

Tabela 4

Macierz wartości własnych rotowanych czynników głównych dla analizowanych czynników plonotwórczych
Matrix of eigen values of rotated principal factors for analyzed yielding factors

Czynnik Factor	Rotowane czynniki główne — Main factors after rotation			
	1	2	3	4
Obornik — Manure	0,414	-0,279	-0,287	0,459
Ilość wysiewu — Sowing amount			0,835	0,145
NPK — N, P, K fertilization	0,746			
Termin siewu — Sowing date	0,238	-0,618	0,468	
Pestycydy — Pesticide	0,750			
Przedplon — Forecrop	0,550	-0,168		0,296
Materiał siewny — Seed material	0,620	0,166		
Odczyn gleby — Soil pH	0,192	0,694	0,199	
Odmiana — Cultivar	0,586	0,343		
Jakość stanowiska — Soil quality			0,220	0,855



Rys. 1. Wykres osypiska
Fig. 1. Rubble graph

Pomimo, iż wyznaczone w powyższy sposób cztery czynniki główne tłumaczą jedynie niecałe 60% zmienności, to postępowanie można uznać za zasadne. Kolejne czynniki główne (pozostałe 6) tłumaczyły poniżej 10% zmienności każdy, czyli stosunkowo mało. Gdyby uwzględnić dodatkowo następny, piąty czynnik główny liczba wyznaczonych technologii wynosiłaby już 32 (2^5), ale w związku z tym, że czynnik ten tłumaczył około 7% zmienności, to różnice między tymi technologiami byłyby znikome. Można więc uznać, że podział na 16 technologii produkcji z uwzględnieniem 4 czynników głównych jest zadowalający.

Wyniki analizy regresji plonów względem ocen czynnikowych (tab. 5) pozwalają na stwierdzenie, iż największy wpływ na plon ma czynnik pierwszy ($\beta = 0,468$) oraz kolejno:

czynnik czwarty ($\beta = 0,158$), czynnik drugi ($\beta = 0,148$), a najmniejszy wpływ, aczkolwiek istotny statystycznie, ma czynnik trzeci ($\beta = 0,084$).

Tabela 5

Analiza regresji wielokrotnej dla plonów względem wyznaczonych czynników głównych

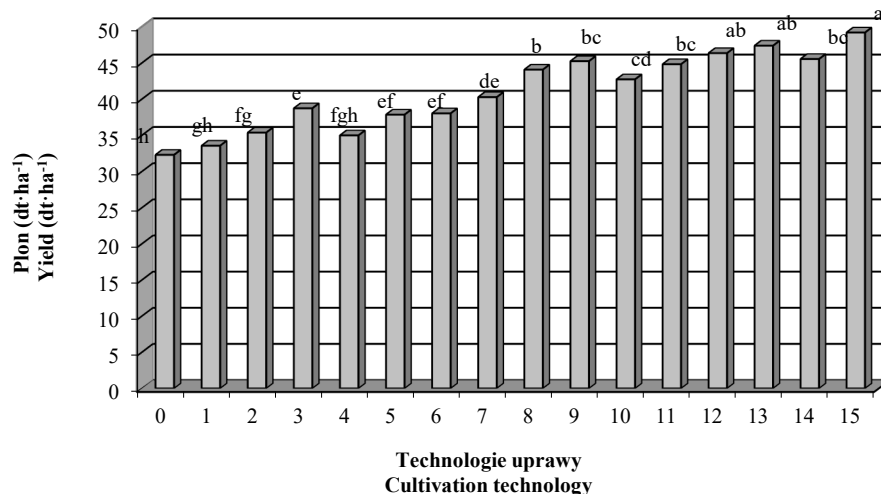
Multiple regression analysis for yields vs. fixed main factors

Czynnik Factor	Współczynniki niestandardyzowane Unstandardized coefficients		Współczynniki standaryzowane Standardized coefficients	Statystyka t t-statistics
	B	błąd standardowy standard error	β	
Stała — Intercept	40,453	0,157	—	257,130**
Czynnik 1 — Factor 1	5,557	0,157	0,468	35,315**
Czynnik 2 — Factor 2	1,760	0,157	0,148	11,188**
Czynnik 3 — Factor 3	1,003	0,157	0,084	6,372**
Czynnik 4 — Factor 4	1,881	0,157	0,158	11,957**

Analiza wariancji dla modelu — Model's analysis of variance				
Źródło Source	liczba stopni swobody degrees of freedom	suma kwadratów sum of squares	średni kwadrat mean square	statystyka F F-statistics
Model — Model	4	159472	39868	389,97**
Błąd — Error	4136	423927	102,497	
Razem — Total	4140	583399		
R modelu Model's R	0,523	R ² modelu Model's R ²	poprawiony R ² modelu model's adjusted R ²	0,273

** — Istotne przy $\alpha = 0,01$; R — Współczynnik korelacji; R² — Współczynnik determinacji

** — Significant at $\alpha = 0.01$; R — Correlation coefficient; R² — Coefficient of determination



Rys. 2. Wykres wartości średnich plonów dla wyodrębnionych technologii uprawy. Grupy jednorodne wyodrębniono w oparciu o test Tukeya-Kramera dla danych nieortogonalnych, przy $\alpha = 0,05$

Fig. 2. Graph of mean values for separated cultivation technologies. Homogenous groups were separated using Tukey-Kramer test for nonorthogonal data, at $\alpha = 0.05$

Wyznaczono wartości średnie dla wybranych cech w ramach każdej z wyodrębnionych technologii uprawy (tab. 6). Średnie wartości NPK, pestycydów, przedplonu, materiału siewnego oraz odmiany zmieniały się w technologiach uprawy wprost proporcjonalnie do średnich wartości plonów. Można więc powiedzieć, że cechy te wykazywały w wyodrębnionych technologiach uprawy liniowy wpływ na plony pszenicy ozimej. Pozostałe składniki warunkujące plon (obornik, ilość wysiewu, termin siewu, odczyn gleby oraz jakość stanowiska) nie zmieniały się proporcjonalnie do średnich plonów w technologiach, co nie oznacza, że nie miały wpływu na plony. Ich wpływ może nie mieć charakteru liniowego.

Przeprowadzona analiza wariancji plonów dla wyodrębnionych szesnastu technologii uprawy wykazała istotne (wartość $F = 66,51^{**}$) różnice pomiędzy średnimi plonami dla porównywanych technologii. Średnie i wyznaczone grupy jednorodne przedstawiono na rysunku 2.

Tabela 6

Wartości średnie wybranych cech dla wyodrębnionych technologii uprawy
Mean values for chosen variables for separate cultivation technology

Technologia uprawy Cultivation technology	Plon Yield		Obornik Manure		Ilość wysiewu Sowing amount		NPK N, P, K fertilization		Termin siewu Sowing date		Pestycydy Pesticide	
	dt·ha ⁻¹	5°	**	5°	kg·ha ⁻¹	5°	kg·ha ⁻¹	5°	***	5°	****	5°
0	32,31	1,394	1,29	0,323	238,9	1,767	104,9	0,920	271,1	2,424	1,01	0,732
1	33,57	1,473	2,79	0,697	245,9	1,891	94,3	0,827	272,0	2,475	1,06	0,754
2	35,38	1,586	1,21	0,303	303,3	2,917	130,8	1,148	276,4	2,704	1,38	0,985
3	38,74	1,796	1,73	0,432	308,4	3,007	117,6	1,032	276,8	2,727	1,30	0,932
4	34,99	1,562	1,12	0,281	248,1	1,930	110,1	0,974	260,1	1,847	1,12	0,797
5	37,86	1,741	1,69	0,422	255,5	2,062	99,8	0,876	258,5	1,764	1,06	0,754
6	38,04	1,752	0,82	0,206	301,7	2,888	124,1	1,089	267,1	2,215	1,28	0,917
7	40,28	1,893	1,43	0,357	312,6	3,083	98,4	0,863	264,6	2,084	1,20	0,856
8	44,08	2,130	2,86	0,714	246,8	1,907	219,1	1,921	273,2	2,536	1,85	2,035
9	45,25	2,203	4,74	1,185	252,2	2,004	215,3	1,889	272,5	2,501	2,48	1,770
10	42,74	2,046	1,65	0,413	304,5	2,938	226,2	1,985	285,6	3,190	2,40	1,712
11	44,83	2,177	3,02	0,755	320,9	3,231	208,5	1,829	285,3	3,173	2,17	1,547
12	46,36	2,273	1,86	0,466	242,9	1,838	213,5	1,873	263,1	2,007	2,58	1,844
13	47,39	2,337	3,16	0,790	249,1	1,948	219,2	1,923	263,1	2,005	2,39	1,708
14	45,54	2,222	1,24	0,310	298,6	2,832	225,5	1,978	272,0	2,476	2,06	1,469
15	49,20	2,450	2,23	0,557	319,3	3,203	216,0	1,895	271,6	2,452	1,93	1,376
Ogółem Total	40,45	1,903	2,02	0,506	277,0	2,446	157,7	1,383	270,6	2,400	1,70	1,211
Odchylenie standardowe między technologiami Standard deviation between technologies	5,32	0,33	1,03	0,26	32,31	0,58	56,59	0,50	7,94	0,42	0,58	0,46
Współczynnik zmienności Coefficient of variation	13,0%	17,2%	50,0%	49,9%	11,6%	23,4%	34,5%	34,5%	2,9%	17,3%	34,2%	36,7%

c.d. Tabela 6

Technologia uprawy Cultivation technology	Przedplon Forecrop		Materiał siewny Seed material		Odczyn gleby Soil pH		Jakość stanowiska Soil quality		Odmiana Cultivar		Lata uprawy Years of cultivation	
	*	5°	*	5°	*	5°	*	5°	*	5°	*	5°
0	38,43	1,484	38,23	0,363	39,09	0,715	38,73	2,990	36,85	0,939	40,19	2,807
1	39,68	1,910	38,26	0,375	39,08	0,710	41,46	3,903	36,58	0,836	40,15	2,784
2	38,64	1,555	38,36	0,415	39,23	0,808	39,11	3,117	38,12	1,427	40,47	2,963
3	40,18	2,079	38,70	0,549	39,19	0,782	42,22	4,159	38,32	1,506	40,15	2,788
4	38,22	1,412	39,35	0,805	40,94	1,931	38,62	2,954	40,08	2,181	40,15	2,785
5	39,49	1,845	39,48	0,857	40,88	1,890	41,81	4,020	39,74	2,050	40,15	2,785
6	38,13	1,383	38,89	0,622	41,99	2,617	39,31	3,185	40,77	2,446	40,35	2,898
7	39,39	1,812	39,28	0,775	41,25	2,135	42,75	4,337	41,08	2,539	40,50	2,981
8	41,95	2,686	41,93	1,820	39,28	0,841	37,72	2,652	42,04	2,936	41,07	3,300
9	44,24	3,464	42,61	2,091	39,29	0,849	41,33	3,860	41,91	2,885	40,81	3,159
10	41,90	2,666	41,06	1,478	39,55	1,021	38,91	3,052	41,78	2,834	40,59	3,018
11	43,49	3,209	41,75	1,751	39,44	0,943	42,23	4,162	41,86	2,867	40,54	3,004
12	40,22	2,094	42,89	2,201	41,85	2,523	38,93	3,057	42,91	3,271	40,85	3,179
13	43,45	3,197	43,79	2,553	41,82	2,507	41,53	3,927	43,43	3,468	41,08	3,308
14	40,01	2,024	42,45	2,027	42,98	3,269	39,28	3,174	42,71	3,192	40,25	2,842
15	41,73	2,608	43,42	2,407	42,59	3,012	42,37	4,208	42,54	3,127	40,39	2,920
Ogółem Total	40,45	2,174	40,45	1,239	40,45	1,610	40,45	3,568	40,45	2,326	40,45	2,957
Odchylenie standardowe między technologiami Standard deviation between technologies												
Współczynnik zmienności Coefficient of variation	4,9%	30,5%	5,0%	60,4%	3,5%	55,4%	4,2%	16,0%	5,4%	34,8%	0,8%	6,1%
* Przeliczone na średnie plony dla klasy; ** Liczba lat wstecz; *** Liczba dni od 1 stycznia; **** Liczba zabiegów;												
* Recalculated into average yields for classes ** Number of years before *** Number of days starting from 1 st January **** Number of procedure operation												

Wyodrębnione technologie uprawy zostały pogrupowane pod względem średnich plonów w 8 grup jednorodnych. Najwyższe średnie plony obserwowano przy wykorzystaniu technologii „15”, „13” oraz „12”, a najniższe w przypadku technologii „0”, „1” i „4”.

Bliższa charakterystyka wyodrębnionych technologii uprawy zostanie opisana w drugiej części pracy.

PODSUMOWANIE

Wykorzystane zostały wzajemne zależności pomiędzy składnikami warunkującymi zmienność plonów, by przy pomocy analizy czynnikowej wyodrębnionych zostało cztery grupy tych składników, wyjaśniających blisko 57% zmienności układu danych. Grupy te pozwoliły z kolei na określenie 16 wariantów technologii uprawy pszenicy ozimej. Warianty te różniły się między sobą wysokością osiąganych średnich plonów oraz średnimi

wartościami analizowanych składników technologicznych. Większość z analizowanych składników technologicznych wykazywała się znaczną wewnętrzną zmiennością wartości obserwowanych, gdyż tylko w przypadku jakości stanowiska (3,566) i lat uprawy (2,957) przekroczony został poziom oczekiwany dla danych w skali od 0 do 5.

LITERATURA

- Box G. E. P., Hunter J. S., Hunter W. G. 2005. Statistics for experimenters — design, innovation, and discovery. Second Edition. New Jersey, USA: Wiley and Sons Inc.
- Der G., Everitt B. S. 2002. A handbook of statistical analyses using SAS. Second Edition. London, UK: Chapman & Hall/CRC.
- Khattre R., Naik D. N. 2000. Multivariate data reduction and discrimination with SAS Software. New York, USA: SAS Publishing, SAS Institute Inc., John Wiley & Sons Inc.
- Kramer C. Y. 1956. Extension of multiple range tests to group means with unequal numbers of replications. *Biometrics* 12: 307—310.
- Krzymuski J. 1982. Ocena i prognoza efektywności głównych czynników plonotwórczych zbóż. *Rocznik Nauk Rolniczych, Seria A, Tom 105*: 71 — 90.
- Krzymuski J. 1998. Zmiany w strukturze zasiewów i wartości przedplonów zbóż w latach 1971—1995. *Rocznik Nauk Rolniczych, Ser. A, Tom 113, Z. 1-2*: 9 — 20.
- Krzymuski J., Krasowicz S. 1985. Gleba jako czynnik plonotwórczy w świetle wyników różnych badań. *Pamiętnik Puławski* 86: 11—30.
- Krzymuski J., Laudański Z. 1993. Intensywność gospodarowania a ilość i wartość produkcji roślinnej. *Rocznik Nauk Rolniczych, Seria A, T. 110, Z. 1-2*: 43 — 50.
- Krzymuski J., Laudański Z. 1995. Warunki i czynniki plonowania zbóż. Cz. II. Ocena współzależności wybranymi metodami statystycznymi. *Biul. IHAR* 193: 11 — 18.
- Krzymuski J., Laudański Z. 1996. Zmiany w uprawie i w produkcji ziemniaka. Cz. II. Agrotechnika. *Biul. IHAR* 197: 283—290.
- Krzymuski J., Laudański Z., Oleksiak T. 1993. Poziom i działanie czynników plonowania w gospodarstwach indywidualnych i państwowych. Cz. II. Ziemniaki, buraki cukrowe, rzepak ozimy. *Biul. IHAR* 185: 25 — 32.
- Laudański Z. 1981. Analiza statystyczna plonów pszenicy ozimej w warunkach produkcyjnych na podstawie danych ankietowych. *Hodowla Roślin Aklimatyzacja i Nasiennictwo, Tom 25, Zesz. 5/6*: 275—288.
- Oleksiak T. 1998. Wpływ kwalifikowanego materiału siewnego na plonowanie zbóż. *Biul. IHAR* 208: 3 — 9.
- SAS Institute Inc. 2004 a. SAS 9.1 Companion for Windows. Cary, NC, USA, SAS Publishing, SAS Institute Inc.
- SAS Institute Inc. 2004 b. SAS/STAT 9.1 User's Guide. Cary, NC, USA, SAS Publishing, SAS Institute Inc.
- SPSS Inc. 2003. SPSS Base 12.0 User's Guide. SPSS Inc., Chicago, IL, USA.
- Spychaj-Fabisiak E., Łozek O., Knapowski T., Ralcewicz M. 2005. Ocena oddziaływania terminu siewu i nawożenia azotem na wysokość plonu i zawartość białka ogólnego w ziarnie pszenżyta. *Fragmenta Agronomica* 1 (85): 550 — 573.
- Westfall P. H., Tobias R. D., Rom D., Wolfinger R. D., Hochberg Y. 1999. Multiple Comparisons and Multiple Tests Using SAS. Cary, NC, USA: SAS Publishing, SAS Institute Inc.
- Witek T. (red.). 1981. Waloryzacja rolniczej przestrzeni produkcyjnej Polski według gmin. Puławy, IUNG.

ZBIGNIEW LAUDAŃSKI^{1,2}**DARIUSZ R. MAŃKOWSKI**¹**LESZEK SIECZKO**²¹ Pracownia Ekonomiki Nasiennictwa i Hodowli Roślin

Zakład Nasiennictwa i Nasionoznawstwa, IHAR — Radzików

² Katedra Biometrii, Wydział Rolnictwa i Biologii

SGGW — Warszawa

Próba oceny technologii uprawy pszenicy ozimej na podstawie danych ankietowych gospodarstw indywidualnych Część II. Ocena technologii uprawy

Attempt to evaluate winter wheat cultivation technology on the basis of survey data from individual farms

Part II. Evaluation of cultivation technology

Niniejsza praca wykorzystuje wyniki uzyskane w części pierwszej (Laudański i in., 2007), w której zastosowanie wielowymiarowej metody analizy czynnikowej pozwoliło na pogrupowanie technologii stosowanych w indywidualnych gospodarstwach rolniczych w grupy o podobnych tendencjach warunków siedliskowych oraz zabiegów agrotechnicznych. W ten sposób uzyskane warianty technologii uprawy zostały poddane analizie metodą regresji wielokrotnej plonów względem warunków siedliskowych i zabiegów agrotechnicznych. Zastosowano także metodę analizy skupień do oceny „bliskości” poszczególnych technologii ze względu na poziom ich poszczególnych składowych. W końcu, dla całościowej oceny technologii wykonano analizy statystyczne dla układów technologie × lata oraz odmiany × technologie z uwzględnieniem badania interakcji między nimi, wykorzystując metodę analizy interakcji genotypowo-środowiskowej.

Słowa kluczowe: agrotechnika, analiza czynnikowa, interakcja genotypowo-środowiskowa, materiał siewny, pszenica ozima, siedlisko, technologie uprawy

The results presented in first part (Laudański *et al.*, 2007) have been utilized in this paper. A multidimensional method of factor analysis was applied in the first part. The method made possible to classify technologies used in private farms into groups of similar trends of habitat conditions and agrotechnology. The combinations of cultivation technologies obtained in this way were analyzed using multiple regression of yields vs. habitat conditions and agrotechnology. Moreover, a cluster analysis was used in order to estimate the distances among different technologies considering the levels of particular components. Finally, statistical analyses for the relationships between technologies and years as

well as between and cultivars and technologies, taking into account a genotype-environment interaction were performed for the entire technology estimation.

Key words: agricultural technology, cultivation technology, factor analysis, genotype-environment interaction, habitat, seed material, winter wheat

WSTĘP

Zagadnienie reakcji odmian na zmienne warunki uprawy było już, w dość ogólnym stopniu poruszane w pracach badawczych (Oleksiak i Mańkowski, 2005, 2006, 2007). W pracach tych jednak ograniczano się jedynie do porównania reakcji odmian zbóż na różne warunki nawożenia mineralnego i ochrony chemicznej, jakości stanowiska i odczynu gleby oraz ze względu na różne położenie geograficzne pól uprawnych.

W części pierwszej niniejszej pracy (Laudański i in., 2007) przedstawiono sposób statystycznej identyfikacji technologii uprawy pszenicy ozimej na podstawie wyników badań ankietowych. Uzyskane, na podstawie badań ankietowych gospodarstw indywidualnych z lat 1992–2003, warianty grup technologii uprawy produkcyjnej pszenicy ozimej pozwoliły na pewną uogólnioną ocenę wpływu poszczególnych składowych tych technologii na poziom średniego plonu (Laudański i in., 2007). Każde pole ankietowanego gospodarstwa charakteryzowało się różnymi warunkami siedliskowymi (jakość gleby, odczyn, przedplon) oraz różnymi poziomami zabiegów agrotechnicznych (nawożenie mineralne, nawożenie organiczne, ochrona chemiczna, ilość wysiewu, termin siewu, materiał siewny). Można więc stwierdzić, że każde z tych pól przedstawiało inną technologię uprawy pszenicy ozimej.

W niniejszej pracy zostaną scharakteryzowane wyodrębnione grupy indywidualnych technologii uprawy poprzez ich ocenę wpływu na plon przy zachowaniu zmienności poszczególnych składników technologicznych. Zostanie także przedstawiona ocena stabilności tych grup technologii względem zmiennych warunków pogodowych w latach oraz reakcji odmian pszenicy ozimej uprawianych produkcyjnie przy tak określonych grupach technologii indywidualnych.

MATERIAŁ I METODY

Materiał do analiz stanowiły wyniki badań ankietowych indywidualnych gospodarstw rolnych, przeprowadzane w latach 1992–2003 przez Pracownię Ekonomiki Nasiennictwa i Hodowli Roślin IHAR w Radzikowie. Do analiz wybrano dane z pól, na których uprawiano pszenicę ozimą. Dane te obejmowały łącznie 4141 pól uprawnych.

W części pierwszej (Laudański i in., 2007) wyodrębniono na podstawie tych danych 16 wariantów technologii uprawy (od „0” do „15”). Dla scharakteryzowania wyodrębnionych technologii produkcji przeprowadzono dla każdej z nich analizę regresji wielokrotnej z jednoczesnym uwzględnieniem wpływu lat. Wyznaczono, na podstawie cech plonotwórczych wyodrębnionych technologii uprawy, macierz odległości D^2 Mahalanobisa, by następnie wykonać analizę skupień metodą najbliższego sąsiedztwa (pojedynczego wiązania). Przeprowadzono także analizę interakcji genotypowo-środowiskowej z zastosowaniem modelu mieszanego Sheffégo-Calińskiego oraz modelu regresji łącznej

Calińskiego-Kaczmarka (Caliński, 1967; Caliński i in., 1997; Mądry i Rajfura, 2003), w układach: technologie uprawy $\times$ lata oraz odmiany $\times$ technologie uprawy.

Obliczenia wykonano w pakiecie statystycznym SPSS w wersji 12.0 (SPSS Inc., 2003), w Systemie SAS[®] w wersji 9.1 (SAS Institute Inc., 2004 a, 2004 b) oraz w programie SERGEN 3 (Caliński i in., 1998).

OMÓWIENIE WYNIKÓW I DYSKUSJA

Wyniki analiz metodą regresji wielokrotnej (tab. 1) wybranych cech plonotwórczych dla każdej z wyodrębnionych technologii uprawy, pozwalają na identyfikację podstawowych przyczyn warunkujących poziom średniego plonu dla każdej z technologii. Poszczególne lata, wyrażone średnimi plonami pszenicy w danym roku, reprezentowały różne, losowe układy warunków klimatycznych.

- W przypadku technologii „0” istotny wpływ na plon miały: NPK, przedplon oraz jakość stanowiska.
- W przypadku technologii uprawy „1” — obornik, NPK, termin siewu, pestycydy, odmiana i warunki klimatyczne (lata uprawy).
- Dla technologii „2” — NPK, termin siewu, pestycydy, odczyn gleby, jakość stanowiska, warunki klimatyczne (lata uprawy).
- Dla technologii „3” — ilość wysiewu, NPK, pestycydy, materiał siewny, odmiana oraz warunki klimatyczne (lata uprawy).
- W przypadku technologii „4” — NPK, przedplon i jakość stanowiska.
- Dla technologii „5” — obornik, pestycydy, odczyn gleby, jakość stanowiska oraz warunki klimatyczne (lata uprawy).
- Dla technologii „6” — ilość wysiewu, pestycydy, odczyn gleby, jakość stanowiska i warunki klimatyczne (lata uprawy).
- W przypadku technologii „7” — NPK, pestycydy, materiał siewny, odczyn gleby, jakość stanowiska i warunki klimatyczne (lata uprawy).
- W przypadku technologii „8” — przedplon, materiał siewny, jakość stanowiska i warunki klimatyczne (lata uprawy).
- Dla technologii „9” — NPK, przedplon, jakość stanowiska oraz warunki klimatyczne (lata uprawy).
- W przypadku technologii „10” — pestycydy, jakość stanowiska, warunki klimatyczne (lata uprawy).
- Dla technologii „11” — ilość wysiewu, jakość stanowiska, warunki klimatyczne (lata uprawy).
- W przypadku technologii „12” — termin siewu, pestycydy, przedplon, odczyn gleby, jakość stanowiska i warunki klimatyczne (lata uprawy).
- Dla technologii „13” — pestycydy, przedplon, materiał siewny, odczyn gleby, jakość stanowiska oraz warunki klimatyczne (lata uprawy).
- Dla technologii „14” — przedplon, odmiana, jakość stanowiska i warunki klimatyczne (lata uprawy).
- W przypadku technologii „15” były to NPK, przedplon, oraz odmiana.

Tabela 1

Analiza regresji wielokrotnej plonów względem czynników w wyodrębnionych szesnastu technologiach uprawy

Multiple regression analysis for yields versus chosen factors of 16 separated cultivation technologies

Technologia uprawy Cultivation technology	Ocena parametrów Parameter estimation	Stała Intercept	obornik manure	Ilość wysiewu Sowing amount	NPK N, P, K fertilization	Termin siewu Sowing date	Pestycydy Pesticides	Przedplon Forecrop	Materiał siewny Seed material
0	stała/wsp.*** statystyka t t-statistics	16,34575 3,10**	0,32894 0,13	0,96716 0,83	3,29557 3,45**	-1,76719 -1,30	1,60445 1,24	1,99191 2,40*	1,83455 1,96
1	stała/wsp.*** statystyka t t-statistics	30,25551 5,34**	-3,84045 -3,35**	1,10713 1,06	2,18783 2,25*	-3,44115 -2,94**	2,63766 1,97*	0,60491 1,17	0,14741 0,17
2	stała/wsp.*** statystyka t t-statistics	21,85902 3,42**	4,49122 1,46	-0,81559 -0,70	2,18569 2,03*	-3,98165 -2,84**	3,75361 2,70**	-1,42944 -1,46	1,88785 1,86
3	stała/wsp.*** statystyka t t-statistics	13,35038 1,88	-0,34909 -0,18	2,18825 2,53*	2,36974 2,39*	-0,75523 -0,71	4,16764 3,27**	0,63177 1,11	2,56636 3,62**
4	stała/wsp.*** statystyka t t-statistics	13,97552 2,92**	3,33211 1,22	1,93859 1,75	3,66175 4,08**	0,56659 0,42	-0,79381 -0,62	2,25395 2,87**	0,51148 1,11
5	stała/wsp.*** statystyka t t-statistics	16,2627 2,45*	6,55622 2,59*	1,38554 1,06	1,48894 1,34	-1,79826 -1,07	6,90042 3,93**	1,71073 2,53*	0,05912 0,12
6	stała/wsp.*** statystyka t t-statistics	1,51854 0,20	-2,70893 -0,74	3,64457 2,91**	2,25550 1,85	1,03161 0,60	3,68498 2,37*	0,85117 0,78	0,80504 1,06
7	stała/wsp.*** statystyka t t-statistics	8,40486 1,28	-0,33134 -0,17	0,78692 0,81	2,58256 2,72**	-0,63241 -0,49	4,00802 2,61**	0,54546 0,99	1,07920 2,14*
8	stała/wsp.*** statystyka t t-statistics	8,67617 1,07	0,94828 0,44	-2,34202 -1,45	2,57737 1,93	-0,80551 -0,44	1,52499 1,44	2,32953 3,43**	2,34830 3,18**
9	stała/wsp.*** statystyka t t-statistic	-2,34414 -0,30	-0,09085 -0,08	-0,43454 -0,39	7,42109 5,92**	-0,21877 -0,17	0,81047 0,92	2,74122 5,07**	0,71487 1,35
10	stała/wsp.*** statystyka t t-statistics	31,12485 5,04**	-1,86873 -0,76	-0,93003 -0,97	1,63862 1,50	-2,49399 -1,89	2,91108 3,37**	-0,09103 -0,16	0,09606 0,20
11	stała/wsp.*** statystyka t t-statistics	18,86701 2,15*	0,01248 0,01	-2,32139 -2,38*	1,58313 1,58	0,10337 0,08	0,89032 0,84	0,79495 1,37	0,55634 1,04
12	stała/wsp.*** statystyka t t-statistics	16,35558 2,19*	3,11787 1,24	-1,48103 -0,89	2,02545 1,66	-4,93549 -2,64**	2,54214 2,93**	1,70745 2,71**	0,7441 1,59
13	stała/wsp.*** statystyka t t-statistics	-3,96582 -0,50	3,49653 1,96	0,62261 0,47	1,11859 0,96	0,00421 0,00	1,94385 2,29*	2,17391 4,62**	1,55611 3,84**
14	stała/wsp.*** statystyka t t-statistics	31,68615 4,45**	-5,72606 -1,99	1,93011 1,62	0,87722 0,76	-1,52579 -1,08	1,19864 1,10	1,55003 2,30*	0,61595 1,29
15	stała/wsp.*** statystyka t t-statistics	13,73361 1,61	0,27475 0,13	1,41600 1,29	2,78862 2,21*	1,51660 1,08	0,39839 0,38	2,12389 3,49**	-0,9663 -0,19

c.d. Tabela 1

Technologia uprawy Cultivation technology	Ocena parametrów Parameter estimation	Odczyn gleby Soil pH	Odmiana Cultivar	Jakość stanowiska Soil quality	Lata Years	Model regresji wielokrotnej Multiple regression model			
						statystyka F F-statistics	R modelu R for model	R ² modelu R ² for model	poprawiony R ² adjusted R ²
0	stała/wsp.***	0,87298	0,77564	2,43627	0,69921				
	statystyka t t-statistics	1,04	1,71	2,61**	1,94	4,57**	0,3545	0,1257	0,0982
1	stała/wsp.***	1,09808	1,32993	0,82493	0,82723				
	statystyka t t-statistics	1,44	2,86**	0,80	2,30*	5,94**	0,4281	0,1833	0,1524
2	stała/wsp.***	4,26221	0,74881	4,03086	1,17015				
	statystyka t t-statistics	4,40**	1,47	3,47**	2,85**	7,25**	0,5068	0,2568	0,2214
3	stała/wsp.***	0,41456	1,49033	1,78265	0,71145				
	statystyka t t-statistics	0,49	3,29**	1,27	1,99*	5,68**	0,4696	0,2205	0,1817
4	stała/wsp.***	-0,44636	0,31062	2,40527	0,66241				
	statystyka t t-statistics	-0,95	0,66	2,46*	1,96	4,33**	0,3797	0,1442	0,1109
5	stała/wsp.***	-0,28083	-0,75080	2,21411	0,93191				
	statystyka t t-statistics	-0,57	-1,42	1,65	2,31*	5,40**	0,4346	0,1889	0,1539
6	stała/wsp.***	0,94225	1,29096	2,56506	1,02270				
	statystyka t t-statistics	2,07*	1,94	2,11*	2,33*	3,41**	0,3861	0,1491	0,1054
7	stała/wsp.***	0,86259	-0,24597	3,49890	2,35055				
	statystyka t t-statistics	2,19*	-0,53	3,20**	6,63**	8,24**	0,4588	0,2105	0,1850
8	stała/wsp.***	0,74327	0,54598	4,85713	2,28377				
	statystyka t t-statistics	0,63	0,76	4,07**	3,57**	8,26**	0,6093	0,3712	0,3263
9	stała/wsp.***	1,05074	0,17265	4,17666	1,63515				
	statystyka t t-statistic	1,21	0,26	3,01**	3,21**	11,92**	0,5804	0,3369	0,3087
10	stała/wsp.***	0,76806	0,22721	1,96410	2,48897				
	statystyka t t-statistics	1,07	0,34	2,08*	6,12**	7,94**	0,5014	0,2514	0,2198
11	stała/wsp.***	0,32279	-0,71001	4,98453	2,10276				
	statystyka t t-statistics	0,44	-0,90	3,33**	4,82**	5,34**	0,4382	0,1920	0,1560
12	stała/wsp.***	2,10847	-0,32302	6,14064	1,39942				
	statystyka t t-statistics	4,55**	-0,43	4,75**	2,58*	10,80**	0,5905	0,3487	0,3164
13	stała/wsp.***	1,13180	0,36318	6,02224	0,97777				
	statystyka t t-statistics	2,36*	0,51	4,05**	2,00*	11,31**	0,5650	0,3501	0,3192
14	stała/wsp.***	0,83681	-2,79218	2,77040	1,21329				
	statystyka t t-statistics	1,68	-3,42**	2,11*	2,45*	3,84**	0,4165	0,1735	0,1283
15	stała/wsp.***	-0,68614	2,63773	1,81636	0,71937				
	statystyka t t-statistics	-1,38	3,02**	1,13	1,34	3,75**	0,4215	0,1777	0,1303

* Istotne przy $\alpha = 0,05$; ** Istotne przy $\alpha = 0,01$; *** Estymowana wartość stałej i częściowych współczynników regresji* Significant at $\alpha = 0.05$; ** Significant at $\alpha = 0.01$; *** Estimated value of intercept and regression partial coefficients

Należy zauważyć, iż w przypadku technologii „0”, „4” i „15” nie stwierdzono istotnego wpływu warunków klimatycznych reprezentowanych przez lata uprawy na średni poziom osiągniętych plonów. Technologie „0” i „4” należą do grupy technologii najsłabszych, natomiast technologia „15” jest technologią zdecydowanie najlepszą (Laudański i in., 2007).

Macierz odległości D^2 Mahalanobisa (tab. 2) oraz dendrogram (rys. 1) pozwalają stwierdzić, iż najbardziej zbliżone do siebie, pod względem zróżnicowania cech plonotwórczych, są technologie „2” i „3” ($D^2 = 5,17$), „0” i „1” ($D^2 = 5,45$), „4” i „5” ($D^2 = 5,51$), „14” i „15” ($D^2 = 6,37$), „12” i „13” ($D^2 = 6,38$) oraz „10” i „11” ($D^2 = 7,70$).

Tabela 2

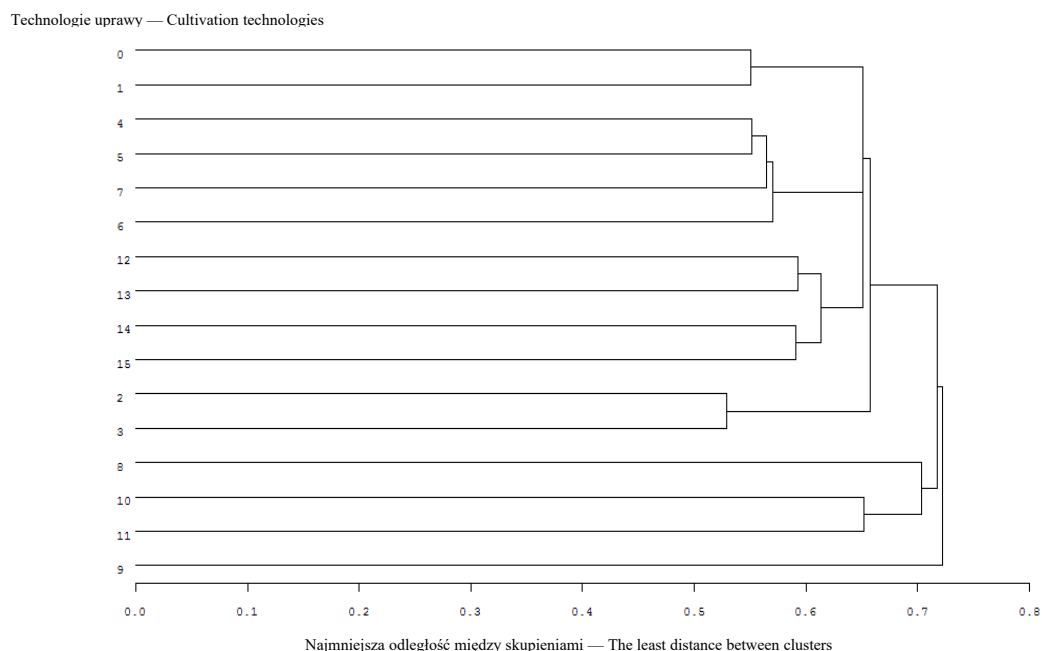
Macierz odległości D^2 Mahalanobisa pomiędzy wyodrębnionymi technologiami uprawy
D-squared Mahalanobis distance matrix between separated cultivation technologies

D^2	0	1	2	3	4	5	6	7
0	0							
1	5,4449	0						
2	6,0623	11,7877	0					
3	11,5932	7,3545	5,1651	0				
4	6,06333	12,9616	10,6574	16,2090	0			
5	11,6237	8,2103	16,2221	11,2060	5,5103	0		
6	13,3418	20,2625	7,0562	11,6959	5,3821	10,3225	0	
7	20,3578	15,8660	13,9614	6,9073	12,5892	5,3911	6,8944	0
8	13,6439	20,7138	13,8689	21,9853	14,9291	24,1129	19,7187	30,4696
9	21,4135	16,7563	23,1486	17,3542	23,4293	18,2488	29,2661	24,1779
10	19,4233	26,5188	7,5746	14,0477	22,6067	30,6365	15,1542	24,8542
11	26,0375	20,5334	13,4551	7,6601	29,4076	24,8009	20,9290	16,5305
12	17,6116	24,7127	18,4765	24,3212	7,4252	13,8423	10,6992	19,3014
13	25,1953	21,3427	26,3370	21,5998	15,1808	10,8872	18,7693	15,4915
14	24,3384	32,5820	14,4984	20,2488	13,3115	20,0255	5,5350	14,9558
15	30,9902	28,0878	19,4712	16,0897	20,5392	15,7840	11,1083	11,6859

D^2	8	9	10	11	12	13	14	15
0								
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8	0							
9	10,5045	0						
10	8,7148	19,9292	0					
11	17,9578	11,5657	7,6953	0				
12	7,7572	16,7331	17,1232	24,5517	0			
13	14,6041	7,6928	23,9831	18,1392	6,3817	0		
14	15,9400	26,6962	10,8510	18,0810	6,3096	13,9404	0	
15	24,4007	19,6068	16,8405	10,2466	13,8745	9,3156	6,3742	0

Wszystkie odległości były istotne statystycznie przy $\alpha = 0,01$

All distances were significant at $\alpha = 0.01$



Rys. 1. Dendrogram podobieństwa wyodrębnionych technologii uprawy
Fig. 1. Tree graph showing similarity of separated cultivation technologies

Na podstawie średnich wartości czynników plonotwórczych (Laudański i in., 2007) można wyznaczone technologie produkcji scharakteryzować w następujący sposób:

- „0” — stanowisko słabe, niskie nawożenie NPK, niski poziom ochrony chemicznej, gleba o odczynie kwaśnym, słaby przedplon, materiał siewny niskiej jakości, odmiany o niskim potencjale plonotwórczym, niska ilość wysiewu, obornik stosowany głównie w roku uprawy.
- „1” — stanowisko średnie, niskie nawożenie NPK, niski poziom ochrony chemicznej, gleba o odczynie kwaśnym, słaby przedplon, materiał siewny niskiej jakości, odmiany o niskim potencjale plonotwórczym, niska ilość wysiewu, obornik stosowany głównie w roku poprzedzającym rok uprawy.
- „2” — stanowisko średnie, średnie nawożenie NPK, średni poziom ochrony chemicznej, gleba o odczynie kwaśnym, słaby przedplon, materiał siewny niskiej jakości, odmiany o niskim potencjale plonotwórczym, średnia ilość wysiewu, obornik stosowany głównie w roku uprawy.
- „3” — stanowisko dobre, średnie nawożenie NPK, niski poziom ochrony chemicznej, gleba o odczynie kwaśnym, średni przedplon, materiał siewny niskiej jakości, odmiany o niskim potencjale plonotwórczym, wysoka ilość wysiewu, obornik stosowany głównie w roku uprawy.

- „4” — stanowisko słabe, niskie nawożenie NPK, niski poziom ochrony chemicznej, gleba o odczynie lekko kwaśnym, słaby przedplon, materiał siewny niskiej jakości, odmiany o średnim potencjale plonotwórczym, wczesny siew, niska ilość wysiewu, obornik stosowany głównie w roku uprawy.
- „5” — stanowisko dobre, niskie nawożenie NPK, niski poziom ochrony chemicznej, gleba o odczynie lekko kwaśnym, słaby przedplon, materiał siewny niskiej jakości, odmiany o średnim potencjale plonotwórczym, wczesny siew, średnia ilość wysiewu, obornik stosowany głównie w roku uprawy.
- „6” — stanowisko średnie, średnie nawożenie NPK, niski poziom ochrony chemicznej, gleba o odczynie lekko kwaśnym, słaby przedplon, słaby przedplon, materiał siewny niskiej jakości, odmiany o średnim potencjale plonotwórczym, średnia ilość wysiewu, obornik stosowany głównie w roku uprawy.
- „7” — stanowisko dobre, niskie nawożenie NPK, niski poziom ochrony chemicznej, gleba o odczynie lekko kwaśnym, dobry przedplon, materiał siewny niskiej jakości, odmiany o średnim potencjale plonotwórczym, niska ilość wysiewu, obornik stosowany głównie w roku uprawy.
- „8” — stanowisko słabe, wysokie nawożenie NPK, wysoki poziom ochrony chemicznej, gleba o odczynie kwaśnym, średni przedplon, materiał siewny dobrej jakości, odmiany o średnim potencjale plonotwórczym, wysoka ilość wysiewu, obornik stosowany głównie w roku poprzedzającym rok uprawy.
- „9” — stanowisko średnie, wysokie nawożenie NPK, średni poziom ochrony chemicznej, gleba o odczynie kwaśnym, dobry przedplon, materiał siewny dobrej jakości, odmiany o średnim potencjale plonotwórczym, średnia ilość wysiewu, obornik stosowany głównie w dwa lata przed rokiem uprawy.
- „10” — stanowisko średnie, wysokie nawożenie NPK, średni poziom ochrony chemicznej, gleba o odczynie lekko kwaśnym, średni przedplon, materiał siewny niskiej jakości, odmiany o średnim potencjale plonotwórczym, późny siew, średnia ilość wysiewu, obornik stosowany głównie w roku uprawy.
- „11” — stanowisko dobre, wysokie nawożenie NPK, średni poziom ochrony chemicznej, gleba o odczynie kwaśnym, dobry przedplon, materiał siewny dobrej jakości, odmiany o średnim potencjale plonotwórczym, późny siew, wysoka ilość wysiewu, obornik stosowany głównie w roku poprzedzającym rok uprawy.
- „12” — stanowisko dobre, wysokie nawożenie NPK, średni poziom ochrony chemicznej, gleba o odczynie lekko kwaśnym, średni przedplon, materiał siewny dobrej jakości, odmiany o wysokim potencjale plonotwórczym, niska ilość wysiewu, obornik stosowany głównie w roku uprawy.
- „13” — stanowisko średnie, wysokie nawożenie NPK, średni poziom ochrony chemicznej, gleba o odczynie lekko kwaśnym, dobry przedplon, materiał siewny dobrej jakości, odmiany o wysokim potencjale plonotwórczym, niska ilość wysiewu, obornik stosowany głównie w roku poprzedzającym rok uprawy.
- „14” — stanowisko średnie, wysokie nawożenie NPK, średni poziom ochrony chemicznej, gleba o odczynie obojętnym, średni przedplon, materiał siewny dobrej

jakości, odmiany o wysokim potencjale plonotwórczym, średnia ilość wysiewu, obornik stosowany głównie w roku uprawy.

- „15” — stanowisko dobre, wysokie nawożenie NPK, średni poziom ochrony chemicznej, gleba o odczynie obojętnym, średni przedplon, materiał siewny dobrej jakości, odmiany o wysokim potencjale plonotwórczym, wysoka ilość wysiewu, obornik stosowany głównie w roku poprzedzającym rok uprawy.

W wyniku przeprowadzonej dla plonu analizy interakcji genotypowo-środowiskowej ($G \times E$) dla układu technologie uprawy $\times$ lata (tab. 3, rys. 2), technologie podzielono, ze względu na wartości ocen efektów głównych, na trzy grupy:

- Grupę technologii istotnie lepszych od średniej środowiskowej — „15” (efekt główny = +7,9**), „12” (efekt główny = +6,1**), „13” (efekt główny = +5,7**), „9” (efekt główny = +4,8**), „14” (efekt główny = +4,5**), „11” (efekt główny = +3,7**).
- Grupę technologii istotnie słabszych od średniej środowiskowej — „0” (efekt główny = -8,4**), „1” (efekt główny = -7,0**), „4” (efekt główny = -6,0**), „2” (efekt główny = -5,9**), „5” (efekt główny = -3,1**), „6” (efekt główny = -2,5**) oraz „3” (efekt główny = -2,4*).
- Pozostałe technologie uprawy („7”, „8” oraz „10”) nie różniły się istotnie od średniej środowiskowej.

Tabela 3

Podsumowanie analizy interakcji genotypowo-środowiskowej dla wariantu technologie uprawy $\times$ lata
Overall analysis of the genotype-environment interaction for cultivation technologies $\times$ years variant

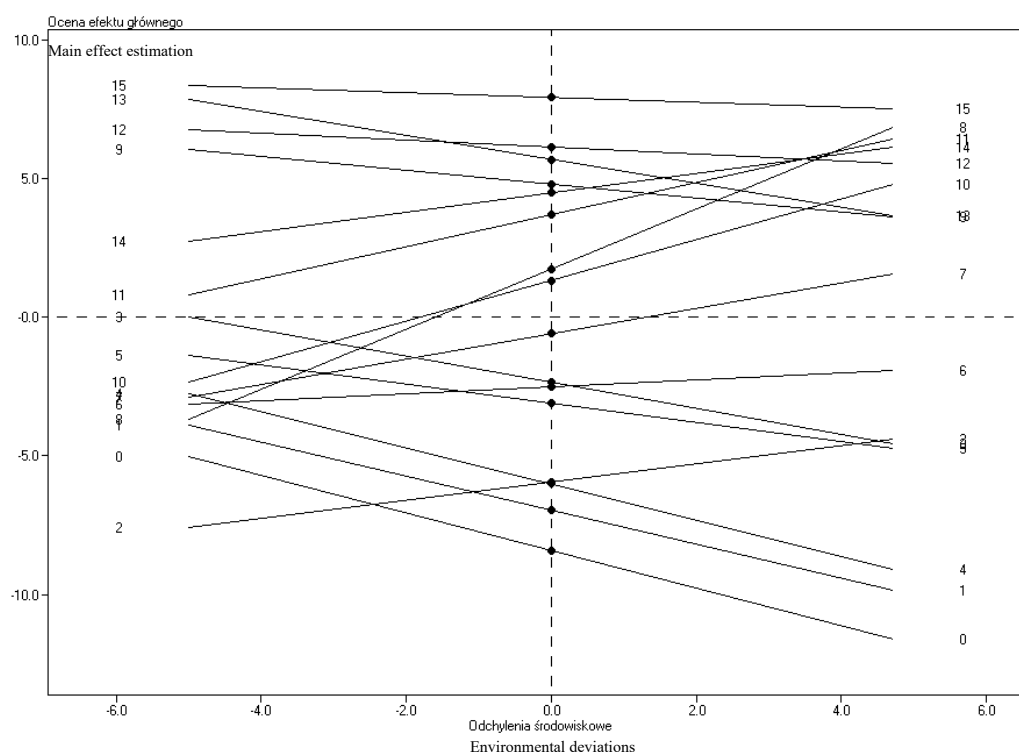
Technologie uprawy Cultivation technology	Ocena efektu głównego Main effect estimation	Wartość F dla efektu głównego F value for main effect	Wartość F dla interakcji F value for interaction	Współczynnik regresji Coefficient of regression	Wartość F dla regresji interakcyjnej F value for interaction regression
0	-8,410	98,36**	3,54**	-0,682	4,57
1	-6,966	94,52**	2,07*	-0,613	5,51*
2	-5,942	60,86**	1,91*	0,325	0,97
3	-2,348	6,41*	2,26**	-0,470	1,43
4	-6,005	77,22**	1,43	—	—
5	-3,104	27,81**	1,46	—	—
6	-2,516	15,31**	1,09	—	—
7	-0,583	0,68	1,95*	0,459	2,59
8	1,747	0,95	2,84**	1,083	2,14
9	4,801	16,87**	3,44**	-0,250	0,23
10	1,328	2,22	2,44*	0,735	4,95*
11	3,704	29,22**	1,49	—	—
12	6,142	37,06**	2,10*	-0,126	0,08
13	5,695	31,83**	1,51	—	—
14	4,511	23,34**	2,49**	0,350	0,73
15	7,945	77,89**	2,75**	-0,087	0,05

* Istotne przy $\alpha = 0,05$; ** Istotne przy $\alpha = 0,01$

* Significant at $\alpha = 0,05$; ** Significant at $\alpha = 0,01$

Technologie „4”, „5”, „6”, „11” i „13” uznano za technologie gwarantujące stabilne plony na przestrzeni lat (brak istotnej interakcji genotypowo-środowiskowej). Pozostałe wykazały istotną interakcję ze środowiskiem. Przy czym technologia „10” okazała się niestabilna — intensywna (istotna regresja interakcyjna i dodatni współczynnik regresji),

to znaczy w latach o korzystniejszym układzie warunków klimatycznych pozwalała ona na uzyskiwanie relatywnie wyższych plonów pszenicy ozimej, natomiast technologia „1” okazała się niestabilna — ekstensywna (istotna regresja interakcyjna i ujemny współczynnik regresji), czyli pozwalała na uzyskiwanie relatywnie wyższych plonów w gorzszych latach uprawy. Reakcji plonów w pozostałych niestabilnych technologiach niestety nie udało się opisać istotną funkcję regresji interakcyjnej, możemy je więc określić mianem technologii nieprzewidywalnych w reakcji na zmienne warunki klimatyczne.



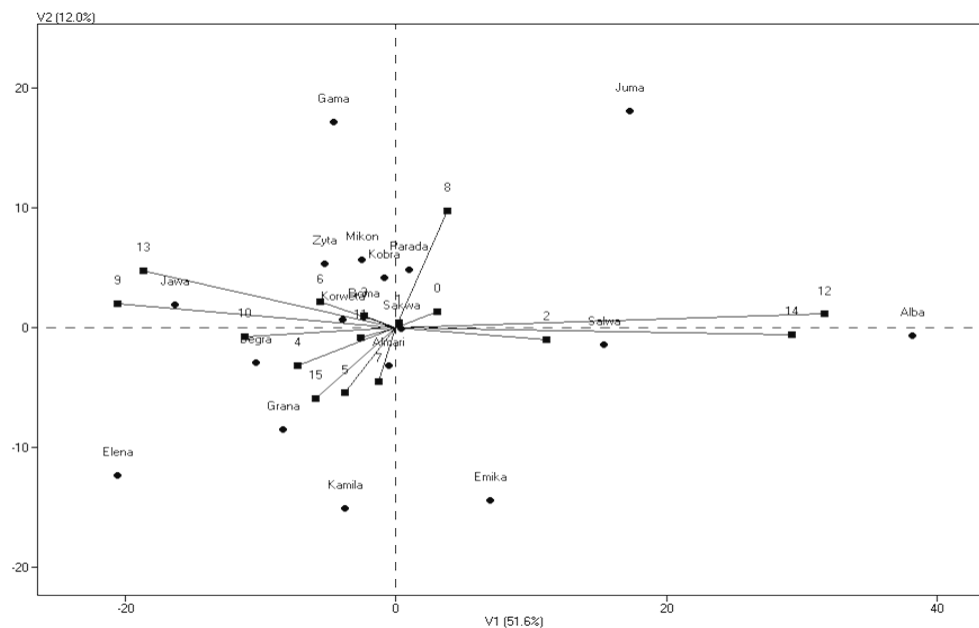
Rys. 2. Graficzna prezentacja interakcji genotypowo-środowiskowej dla wariantu technologie uprawy × lata
Fig. 2. Graphic presentation of the genotype-environment interaction for cultivation technologies × years
variant

Analiza interakcji $G \times E$ dla układu odmiany × technologia uprawy (tab. 4) pozwoliła na opisanie zachowania się odmian pszenicy ozimej w różnych technologiach uprawy. Jedynie odmiana Korweta charakteryzowała się istotnym, dodatnim (+2,5) efektem głównym. W różnych technologiach uprawy odmiany Zyta, Korweta, Sakwa, Kobra, Juma, Kamila, Almari, Salwa oraz Begra plonowały w sposób stabilny, nie wykazując istotnej interakcji z technologiami. Wszystkie pozostałe odmiany (Elena, Mikon, Roma, Parada, Alba, Jawa, Emika, Gama, Grana) plonowały niestabilnie i w sposób nieprzewidywalny, wykazując istotną interakcję z technologiami, lecz nie wykazując istotnej regresji interakcyjnej.

Tabela 4

Podsumowanie analizy interakcji genotypowo-środowiskowej dla układu odmiany × technologie uprawy
Overall analysis of the genotype-environment interaction for cultivar × cultivation technologies variant

Technologie uprawy Cultivation technology	Ocena efektu głównego Main effect estimation	Wartość F dla efektu głównego F value for main effect	Wartość F dla interakcji F value for interaction	Współczynnik regresji Coefficient of regression	Wartość F dla regresji interakcyjnej F value for interaction regression
Zyta	-0,425	0,20	0,27	—	—
Korweta	2,539	8,45*	0,12	—	—
Sakwa	1,547	3,97	1,40	—	—
Elena	-0,917	0,21	4,56**	-0,285	0,44
Mikon	1,842	2,26	3,00**	0,045	0,03
Roma	-0,833	0,69	3,48**	0,021	0,01
Kobra	-0,573	1,61	1,22	—	—
Juma	1,250	0,32	1,52	—	—
Kamila	-0,482	0,14	0,98	—	—
Almari	-0,107	0,05	1,39	—	—
Parada	-0,374	0,06	2,66**	-0,523	2,96
Alba	0,616	0,06	22,67**	0,137	0,06
Jawa	-0,145	0,01	3,17**	0,363	1,06
Emika	-0,377	0,10	3,81**	0,170	0,43
Gama	-1,390	1,22	1,82*	0,042	0,02
Salwa	-1,787	1,20	1,60	—	—
Begra	0,822	0,59	1,61	—	—
Grana	-1,205	0,67	2,79**	-0,467	2,43

* Istotne przy $\alpha = 0,05$; ** Istotne przy $\alpha = 0,01$ * Significant at $\alpha = 0.05$; ** Significant at $\alpha = 0.01$ 

Rys. 3. Biplot w układzie dwóch pierwszych składowych głównych dla wariantu odmiany × technologie uprawy

Fig. 3. Biplot in two first principal components layout for cultivar × cultivation technologies variant

Analizując biplot dla układu odmiany $\times$ technologia uprawy (rys. 3) można zidentyfikować odmiany dobrze zaadaptowane do wyznaczonych technologii uprawy. Odmiany te na wykresie znajdują się w bliskiej odległości od punktów oznaczających technologie uprawy.

PODSUMOWANIE

Wyodrębnione warianty grup technologii uprawy zostały potraktowane jako obraz tendencji w praktycznym „dawkowaniu” składników plonotwórczych wraz z oceną ich stabilności zachowań w różnych warunkach pogodowych oraz oddziaływania na uprawiane odmiany.

Przeprowadzona charakterystyka wyodrębnionych grup technologii produkcji pszenicy ozimej pozwoliła na sformułowanie następujących wniosków:

1. Największe znaczenie w kształtowaniu poziomu wyodrębnionych grup technologii miały nawożenie NPK, jakość stanowiska, liczba zabiegów pestycydami oraz warunki klimatyczne (lata uprawy). W przypadku grup technologii dających najlepsze (technologia „15”) i najgorsze (technologie „0” i „4”) efekty, warunki klimatyczne nie wpływały w sposób istotny na uzyskiwane średnie plony pszenicy ozimej.
2. Zaproponowane grupy technologii produkcji wyraźnie różniły się między sobą ze względu na poziomy składowych czynników plonotwórczych.
3. Analiza interakcji genotypowo-środowiskowej dla układu technologie $\times$ lata, pozwoliła na wyraźne podzielenie wyodrębnionych technologii na trzy grupy (technologie najlepsze, technologie przeciętne i technologie zdecydowanie najgorsze). Dodatkowo stwierdzono, że grupy technologii oznaczonych jako „4”, „5”, „6”, „11” i „13” zapewniają stabilne plony pszenicy ozimej w latach.
4. Szereg odmian (Zyta, Korweta, Sakwa, Kobra, Juma, Kamila, Almari, Salwa oraz Begra) pszenicy ozimej cechowało się stabilnym plonowaniem w wyodrębnionych 16 grupach technologii uprawy.

LITERATURA

- Caliński T. 1967. Model analizy wariancji dla doświadczeń wielokrotnych. Rocznik Nauk Rolniczych, Seria A, 93, 3: 549 — 579.
- Caliński T., Czajka S., Kaczmarek Z. 1997. A multivariate approach to analyzing genotype-environmental interactions. Poznań.
- Caliński T., Czajka S., Kaczmarek Z., Krajewski P., Siatkowski I. 1998. SERGEN — Analiza serii doświadczeń odmianowych i genetyczno hodowlanych.
- Laudański Z., Mańkowski D. R., Sieczko L. 2007. Próba oceny technologii uprawy pszenicy ozimej na podstawie danych ankietowych gospodarstw indywidualnych. Część 1. Metoda wyodrębniania technologii uprawy. Biul. IHAR 244: 33 — 43.
- Mądry W., Rajfura A. 2003. Analiza statystyczna miar stabilności na podstawie danych w klasyfikacji genotypy $\times$ środowiska. Cz. I. Model mieszany Scheffego-Calińskiego i model regresji łączonej. Colloquium Biometryczne, 33: 181 — 205.
- Oleksiak T., Mańkowski D. R. 2005. Interakcja odmian pszenicy ozimej w zmiennych warunkach środowiskowych na podstawie wyników badań ankietowych. Biuletyn IHAR, 235: 5 — 11.

- Oleksiak T., Mańkowski D. R. 2006. Analiza stabilności plonowania odmian pszenżyta ozimego w przestrzeni rolniczej Polski. *Folia Universitatis Agriculturae Stetinensis, Agricultura* 100: 133 — 140.
- Oleksiak T., Mańkowski D. R. 2007. Analiza stabilności plonowania odmian jęczmienia jarego w przestrzeni rolniczej Polski. *Biul. IHAR* (w druku).
- SAS Institute Inc. 2004 a. SAS 9.1 Companion for Windows. Cary, NC, USA, SAS Publishing, SAS Institute Inc.
- SAS Institute Inc. 2004 b. SAS/STAT 9.1 Users Guide. Cary, NC, USA, SAS Publishing, SAS Institute Inc.
- SPSS Inc. 2003. SPSS Base 12.0 Users Guide. SPSS Inc., Chicago, IL, USA.

ALEKSANDRA PIETRUSIŃSKA¹**PAWEŁ CZ. CZEMBOR²**¹Zakład Hodowli i Genetyki Stosowanej, Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Radzikowie²Zakład Fitopatologii, Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Radzikowie

Ocena wybranych metod izolacji DNA pod względem ich przydatności w hodowli pszenicy

Evaluation of selected DNA isolation methods for wheat breeding purposes

Opracowano wiele metod izolacji roślinnego DNA. Jednak większość z nich nie jest powszechnie wykorzystywana do selekcji wspomaganej markerami z uwagi na złożoność procedur, dużą czasochłonność i wysokie koszty. Porównano przydatność trzech metod izolacji DNA pod kątem wykorzystania ich w masowej selekcji w hodowli pszenicy. Zastosowano metody: zestaw DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen), DNAzol Direct (Molecular Research Center) oraz lizę alkaliczną opartą o NaOH. Wszystkie matryce przechowywane były w jednakowych warunkach. Aby ocenić trwałość preparatów, do reakcji PCR pobrano DNA po jednym, dziesięciu, trzydziestu i czterdziestu dniach od izolacji. W analizie molekularnej łącznie wykorzystano dwanaście markerów mikrosatelitarnych (SSR). Ocena przydatności każdej z trzech metod izolacji DNA polegała na analizie liczby zamplifikowanych produktów w reakcji PCR, przeprowadzonej po czterech różnych okresach przechowywania DNA, a także na analizie uzyskanych produktów pod względem ich intensywności. Otrzymane wyniki wykazały, że najbardziej stabilnym układem oprócz referencyjnej metody opartej o zestaw DNeasy Plant Mini Kit, okazały się matryce po tak zwanej szybkiej ekstrakcji z udziałem NaOH. Wykorzystanie tej metody do selekcji opartej o mikrosatelity może być z powodzeniem stosowane, ponieważ jest niezawodna, szybka i znacznie obniża koszty programów hodowlanych. Natomiast przy izolacji DNA za pomocą odczynnika DNAzol Direct otrzymano inne wyniki od opisywanych w literaturze.

Słowa kluczowe: izolacja DNA, pszenica

There are many methods of plant DNA isolation. However, most of them are unacceptable for marker assisted breeding since their procedures are long, complex and expensive. Therefore, we evaluated three methods that could be used in marker assisted selection in wheat breeding: DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen), DNAzol Direct (Molecular Research Center) and alkaline lysis based on NaOH. All isolated DNA were kept in the same conditions. In order to evaluate stability of DNA matrices, they were tested in PCR reaction after one, ten, thirty and forty days of storage. Each DNA sample was amplified in PCR with twelve SSRs (Simple Sequence Repeats). Three DNA isolation methods were assessed based upon number of the amplified PCR products and their intensity after various periods of DNA storage. Besides the reference method DNeasy Plant Mini Kit, the most stable and acceptable results were obtained with fast DNA extraction method based on NaOH. The last

method coupled with microsatellite assisted selection seems to be the most reliable and cost effective in breeding programs, whereas DNAzol Direct method gave results different to that described in the literature.

Key words: DNA isolation, wheat

WSTĘP

We współczesnej hodowli roślin, markery molekularne często są wykorzystywane jako narzędzie diagnostyczne w selekcji materiału roślinnego (ang. marker-assisted selection, MAS). Korzyści wynikające z zastosowania markerów DNA widoczne są szczególnie przy wprowadzaniu pojedynczych genów (recesywnych) drogą krzyżowań wypierających i cech o niskiej odziedziczalności. W porównaniu do metod konwencjonalnych, zastosowanie markerów DNA umożliwia szybszą selekcję w obrębie segregujących populacji z uwzględnieniem pożądanego genu lub kombinacji genów (Ribaut i Hosington, 1998).

Rozwój biologii molekularnej sprawił, że obecnie dostępne są odpowiednie systemy markerowe gwarantujące wykrywanie polimorfizmu DNA badanych osobników. Jednak koszty selekcji na masową skalę są nadal zbyt wysokie (Paris i Carter, 2000; Koebner i in., 2003). Dlatego też, powinno dążyć się do redukcji kosztów jednostkowych, przede wszystkim związanych z samym etapem izolacji DNA, ponieważ są one zazwyczaj najwyższe w procesie selekcji wspomaganej markerami.

Obecnie na rynku istnieją gotowe zestawy do izolacji genomowego DNA (np. Qiagen, USA; Autogen, USA; A&A Biotechnology, Polska) za pomocą, których otrzymywane DNA jest dobrej jakości, a procedury są mało skomplikowane. Jedyną wadą jest wysoki koszt przypadający na jedną próbkę, dlatego też wykorzystanie tych metod izolacji w programach hodowlanych (MAS) nie znajduje powszechnego zastosowania.

Innym ważnym zagadnieniem jest wybór odpowiedniej metody uwzględniającej wielkość analizowanej populacji, czasochłonność izolacji, złożoność procedury i docelowe wykorzystanie uzyskanego DNA. Do selekcji materiału hodowlanego za pomocą markerów DNA, gdy w krótkim czasie trzeba przebadать setki (a czasem tysiące) obiektów, przede wszystkim należy wybierać metody niezawodne, tanie i szybkie. W literaturze opisano wiele szybkich metod ekstrakcji DNA, a otrzymane DNA jest wykorzystywane do reakcji amplifikacji PCR (Wang i in., 1993; Thomson i Henry, 1995; Haymes, 1996; Lange i in., 1998; Tuvešson i in., 1998; Paris i Carter, 2000; Warner i in., 2001; Burr i in., 2001; Stein i in., 2001; Werner i in., 2002; Ata-ur-Rehman i in., 2003; Post i in., 2003). W metodach tych, otrzymany ekstrakt zawierać może wiele inhibitorów reakcji PCR pochodzących z zanieczyszczeń roślinnych, tj.: taniny, polisacharydy, pigmenty. Wszystko to sprawia, że wspomniane wyżej metody nie znalazły szerszego zastosowania w systemach markerowych, które wymagają większych ilości DNA i obejmują etap trawienia enzymami restrykcyjnymi (RFLP, AFLP) (Peist i in., 2001; Kourakousis i Langridge, 2003).

W ostatnich latach pojawiły się również na rynku gotowe roztwory alkaliczne do izolacji DNA (DNAzol Direct, Molecular Research Center, USA; DNAzol ES, Molecular

Research Center, Inc., USA; DNAzol Reagent, Invitrogen Corp., USA; Plant DNAzol, Life Technologies, USA), za pomocą których technika ekstrakcji DNA stała się bardzo szybka i prosta w wykonaniu. W ich skład wchodzi alkaliczne detergenty, odpowiedzialne za uszkodzenie ścian komórkowych i błon jądrowych. W literaturze opisano wiele przykładów wykorzystywania gotowych odczynników do izolacji roślinnego DNA (Peng i in., 2000; Ching i in., 2002; Rudnóy i in., 2002; Caldwell i in., 2004; Hong i Hwang, 2005; Konishi i in., 2005; Hu i in., 2005; Navajas-Pérez i in., 2005; Yamane i Kawahara, 2005). Z danych literaturowych wynika, że wyizolowane DNA za pomocą odczynnika DNAzol ES (Extra Strength) jest z powodzeniem wykorzystywane w takich systemach markerowych jak: AFLP, RAPD, SSR, RFLP (Peng i in., 2000) jak również do klonowania genów (Hu i in., 2005).

Celem pracy było porównanie efektywności trzech różnych metod izolacji DNA pod kątem możliwości zastosowania do masowej selekcji materiałów hodowlanych przez obniżenie kosztów i czasu izolacji DNA.

MATERIAŁ I METODY

Do izolacji DNA użyto siewki 5 odmian pszenicy ozimej: Bogatka, Kobra, Nadobna, Lexus, Satyna, które wykorzystywane są w programach hodowlanych jako dawcy cech wysokiej wartości użytkowej i 7 odmian/linii: Pavon76, translokowana linia 6VS/6AL Yangmai 5, KS90WGRC10, KS96WGRC36, KS91WGRC11, KS92WGRC16 i linia zawierająca gen *Pm29*, będące źródłami genów odporności na choroby, ale o niskiej wartości innych cech użytkowych.

Z wszystkich badanych odmian izolowano DNA trzema metodami. Pierwsza z nich (referencyjna) polegała na wyizolowaniu DNA przy pomocy zestawu DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen Inc., 27220 Turnberry Lane, Valencia, CA 91355, USA). W tym celu z każdego obiektu pobrano 200 mg młodej tkanki roślinnej, którą homogenizowano w buforze ekstrakcyjnym przy użyciu młynka miksującego MM301 (Retsch, Verder, Katowice, Polska), przy ustawieniu częstotliwości wytrząsania 30 tys./min. w dwóch cyklach pięciominutowych. Po zakończeniu pierwszego etapu izolacji procedura przebiegała zgodnie z zaleceniami podanymi przez producenta zestawu DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen). Spektrofotometryczny pomiar ilości UV zaabsorbowanego przez zasady w DNA oznaczono przy użyciu aparatu Genesys 10 (ThermoSpectronic, Rochester, NY 14625, USA).

Druga metoda izolacji została przeprowadzona według protokołu opracowanego przez Warner i współpracowników (2002). Z każdego obiektu pobrano około 20 mg dwutygodniowej tkanki roślinnej. Materiał roślinny następnie homogenizowano w 0,2 ml probówek (Multi Ultra Strip Tubes & Caps, SorensonTM Bioscience, Inc., 6507 South 400 West Salt Lake City, Utah 84107, USA) w obecności roztworu alkalicznego 250mM NaOH, przy użyciu młynka miksującego MM301 i częstotliwości wytrząsania 30 tys./min. w dwóch powtórzeniach trzydziestosekundowych. Po wstępnym ucieraniu materiał roślinny inkubowano przez 1 minutę w temperaturze 95°C, wykorzystując do tego termocykler UNO II (Biometra GmbH, Rudolf-Wissell-Str. 30, D-37079 Göttingen,

Niemcy) i ponownie ucierano młynkiem miksującym MM301. Następnie do roztworu lizatu w celu uzyskania lekko zasadowego pH dodano 100 mM TRIS-HCl, pH 8,3. Po zakończeniu tego etapu otrzymany supernatant inkubowano przez 1 dobę w temperaturze 4°C.

W trzeciej metodzie do izolacji DNA wykorzystano odczynnik DNAzol Direct (Molecular Research Center, MRC, USA). Z każdego obiektu pobrano około 20 mg młodej tkanki roślinnej, a następnie homogenizowano ją w 0,2 ml probówkach (SorensonTM Bioscience) w obecności alkalicznego roztworu DNAzol Direct. Do homogenizacji materiału roślinnego użyto młynka miksującego MM301 przy ustawieniu częstotliwości wytrząsania 30 tys./min. w dwóch powtórzeniach trzydziestosekundowych. Po wstępnym ucieraniu próbki inkubowano przez 1 minutę w temperaturze 95°C, wykorzystując do tego termocykler UNO II, ponownie ucierano młynkiem miksującym MM301, a następnie pozostawiono je przez 1 dobę w temperaturze pokojowej.

Jakość i ilość DNA uzyskanego w trzech metodach izolacji sprawdzono elektroforetycznie na 0,7% żelu agarozowym zawierającym bromek etydy (Agarose NEEO ultra-quality, ROTH), przy napięciu 200 V w buforze 0,5 × TBE. Obraz rozdziału elektroforetycznego sfotografowano na transiluminatorze UV za pomocą Kodak Gel Logic 200 Imagine System (Eastman Kodak Company, Rochester, NY 14650, USA), wykorzystując do tego program Kodak Molecular Imaging Software, Version 4.0 (Eastman Kodak Company, Rochester, NY 14650, USA).

W celu porównania efektywności izolacji DNA wszystkie matryce przechowywano w temperaturze 4°C przez 30 dni, a następnie, w celu przyspieszenia degradacji DNA, umieszczono je w temperaturze pokojowej na 10 dni. Do reakcji amplifikacji PCR (ang. Polymerase Chain Reaction) pobrano dwanaście matryc kolejno po 1, 10, 30 i 40 dniach od izolacji. Łącznie wykorzystano dwanaście markerów mikrosatelitarnych (SSR, ang. Simple Sequence Repeats): *Xgwm136* (oczekiwany produkt 275 pz — par zasad), *Xgwm550* (156 pz), *Xbarc66* (112 pz), *Xbarc147* (105 pz), *Xbarc135* (239 pz), *Xgwm369* (184 pz), *Xgwm95* (105 pz), *Xbarc124* (250 pz), *Xgwm257* (190 pz), *Xgwm169* (193 pz), *Xgwm613* (114 pz), *Xbarc183* (166 pz) (Röder i in., 1998; Pestsova i in., 2000; Somers i in., 2004; Song i in., 2005). W każdej parze starterów amplifikujących *loci* mikrosatelitarne jeden ze starterów na końcu 5' był wyznakowany jednym z trzech barwników fluorescencyjnych ABI (6-FAM, HEX lub TET). Reakcję amplifikacji przeprowadzono przy wykorzystaniu niskoprofilowanych cienkościennych probówek (MJResearch, Inc., 149 Grove Street, Watertown, MA 02172, USA) w termocyklerze Mastercycler ep (Eppendorf AG, 22331, Hamburg, Niemcy). Całkowita objętość mieszaniny reakcyjnej wyniosła 20 µl, a w jej skład wchodziły następujące komponenty: 1 × bufor (MBI Fermentas, V. Graiciuno g. 8, 02241 Wilno, Litwa), 2,5 mM MgCl₂, 0,2 mM dNTPs, 0,5 µM startera i 1 jednostka polimerazy *Taq* (MBI Fermentas). Ponadto w zależności od metody izolacji DNA mieszanina reakcyjna zawierała: 24 ng DNA roślinnego wyizolowanego za pomocą zestawu DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen), 3 µl supernatantu pochodzącego po ekstrakcji metodą NaOH i 2 µl supernatantu uzyskanego po izolacji za pomocą odczynnika DNAzol Direct (MRC). W zależności od temperatury przyklejania się startera do matrycy zastosowano trzy różne profile termiczne reakcji PCR

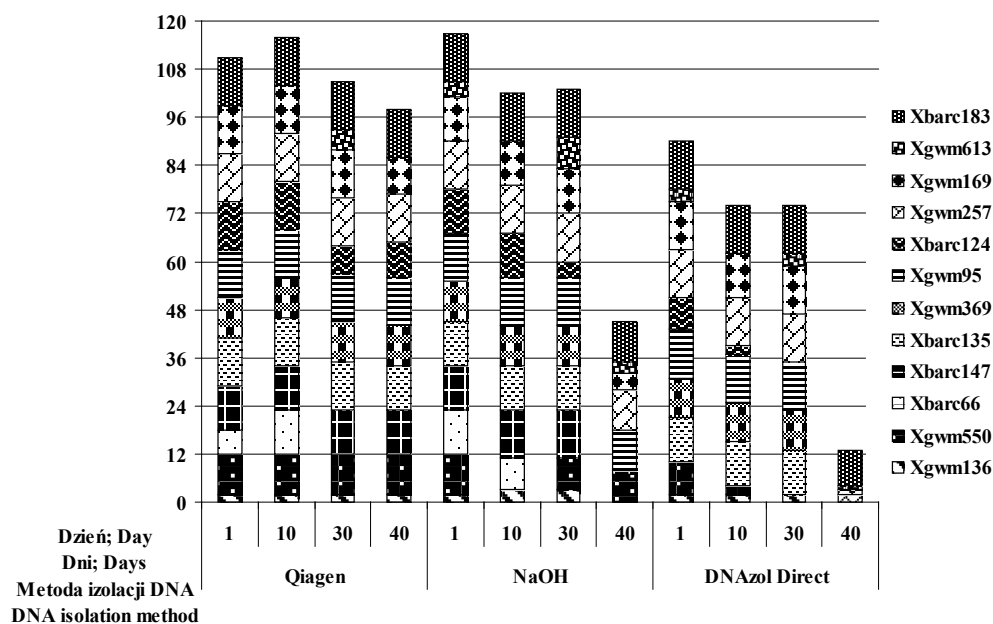
przewodzonej w termocyklerze Mastercycler ep (Eppendorf AG, Hamburg, Niemcy). Dla markerów: *Xgwm136*, *Xgwm369*, *Xgwm613*, *Xgwm95*, *Xgwm257* warunki amplifikacji przebiegały według następującego programu: 94°C/2 min. denaturacji wstępnej, 10 cykli składających się 94°C/30 sek., 60°C/30 sek., 72°C/1 min., a także 30 cykli 90°C/30 sek., 60°C/30 sek., 72°C/1 min. Dla markerów: *Xgwm550*, *Xbarc66*, *Xbarc183* poszczególne etapy reakcji PCR różniły się tylko temperaturą przyklejania startera do matrycy, która wynosiła 55°C/30 sek., a dla markerów: *Xbarc124*, *Xbarc147*, *Xbarc135*, *Xgwm169* temperatura hybrydyzacji wynosiła 50°C/30 sek. W ostatnim cyklu reakcji PCR, etap elongacji został wydłużony o 5 min. Temperaturę pokrywy grzewczej w termocyklerze ustawiono na 105°C we wszystkich użytych programach. Produkty PCR przed naniesieniem na żel odpowiednio rozcieńczono i denaturowano w obecności formamidu (Sigma-Aldrich sp. z o. o., ul. Szelągowska 30, 61-626 Poznań, Polska) z temperaturą pokrywy grzewczej 105°C i temperaturą bloku 95°C przez 3 min., wykorzystując do tego termocykler UNO II (Biometria, Göttingen, Niemcy).

Rozdział produktów amplifikacji PCR przeprowadzono na analizatorze DNA ABI 377XL (Applied Biosystems, Foster City, CA 94404, USA) na 4,75% denaturującym żelu polyakrylamidowym (Long Ranger® Gel Solution, Cambrex Bio Science Rockland, Inc., Rockland, USA).

Intensywność produktów reakcji PCR oceniano na podstawie ilości prążka (zajmowanej powierzchni na żelu w jednostkach względnych) za pomocą programu WinCAM 2004a Color Area Meter (Instruments Régent Inc., 2672, Chemin Sainte-Foy, Quebec, Qc G1V 1V4, Kanada).

WYNIKI

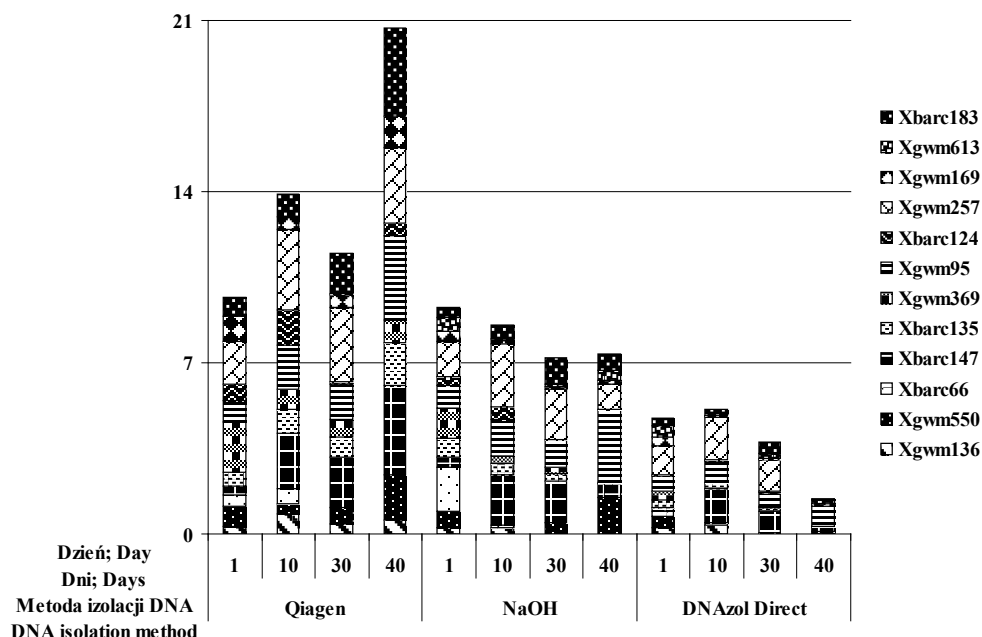
Stwierdzono, że liczba otrzymanych produktów reakcji PCR przy użyciu tego samego markera (*Xgwm95*, *Xgwm257*, *Xbarc183*, *Xgwm169*, *Xgwm369*, *Xbarc135*, *Xbarc147*, *Xgwm550*, *Xbarc124*, *Xgwm136*), dla poszczególnych metod jest taka sama i zmienia się nieznacznie wraz z upływem czasu (po 1, 10 i 30 dni) przechowywania w temperaturze 4°C (rys. 1). Po 40 dniach od izolacji (30 dni/4°C + 10 dni/temp. pokojowa) przeprowadzona ocena liczby produktów wykazała, że prawie żadna z matryc otrzymanych po izolacji Qiagen i tzw. szybkiej metodzie (NaOH) pod wpływem temperatury nie uległa degradacji i uzyskano taką samą liczbę produktów reakcji PCR (rys. 1). Wśród matryc po izolacji metodą NaOH zauważono nieznaczny ich degradację. Dla markerów: *Xgwm95*, *Xgwm257*, *Xbarc183*, *Xgwm169*, *Xbarc147*, *Xgwm550*, otrzymano średnio o dwa produkty mniej, natomiast tylko dla czterech układów: *Xgwm369*, *Xbarc135*, *Xbarc124*, *Xgwm136* nie otrzymano żadnych produktów (rys. 1). Matryce po izolacji za pomocą DNAzol Direct, podczas przechowywania przez 10 dni w temperaturze pokojowej, uległy degradacji do tego stopnia, że dla markerów: *Xgwm95*, *Xgwm257*, *Xbarc183*, *Xgwm169* liczba uzyskanych produktów była znacznie niższa. Natomiast aż w siedmiu kombinacjach (*Xgwm369*, *Xbarc135*, *Xbarc147*, *Xgwm550*, *Xbarc124*, *Xgwm136*, *Xbarc66*) nie otrzymano żadnych produktów amplifikacji *loci* mikrosatelitarnych (rys. 1).



Rys. 1. Liczba produktów PCR uzyskanych w trakcie amplifikacji DNA uzyskanego po izolacji różnymi metodami

Fig. 1. Number of PCR products generated with the use of DNA extracted with different methods

Analiza uzyskanych produktów w reakcji PCR pod względem ich intensywności aż dla dziewięciu z dwunastu układów mikrosatelitarnych (Xgwm95, Xgwm257, Xbarc183, Xgwm169, Xgwm369, Xbarc135, Xbarc147, Xgwm550, Xbarc124) wykazała znaczną różnicę pomiędzy matrycami wyizolowanymi przy pomocy trzech metod (rys. 2). Różnica w intensywności produktów PCR była najbardziej widoczna pomiędzy metodami Qiagen i NaOH a metodą DNAzol Direct. Dla niektórych metod izolacji DNA (Qiagen i NaOH) intensywność uzyskanych produktów (niezależnie od wieku matryc i sposobu ich przechowywania) była bardzo wysoka, co czasami utrudniało ich dokładną analizę. Natomiast dla matryc po izolacji odczynnikiem alkalicznym (DNAzol Direct) dla wszystkich dwunastu układów mikrosatelitarnych, uzyskane produkty reakcji PCR były znacznie mniej intensywne, a w niektórych przypadkach były bardzo trudno dostrzegalne (Xbarc124, Xbarc66, Xgwm369), co znacznie utrudniło ich analizę.



Rys. 2. Intensywność (jednostki względne) produktów PCR uzyskanych w trakcie amplifikacji DNA uzyskanego po izolacji różnymi metodami

Fig. 2. Intensity (relative units) of PCR products generated with the use of DNA extracted with different methods

DYSKUSJA

W celu zastosowania w selekcji materiału hodowlanego efektywnych, szybkich i tanich metod izolacji DNA w badaniach wykorzystano dwie metody ekstrakcji: za pomocą alkalicznego buforu NaOH i gotowego odczynnika DNAzol Direct. Okazało się, że jedynie za pomocą ekstrakcji w obecności roztworu NaOH otrzymane matryce nie uległy tak szybko degradacji pod wpływem upływu czasu i sposobu przechowywania, jak miało to miejsce w przypadku matryc po izolacji odczynnikiem DNAzol Direct. Dokonywana po różnym czasie przechowywania wyizolowanego DNA, ocena efektywności trzech różnych metod izolacji dla dwunastu markerów mikrosatelitarnych (SSR) potwierdziła, że ekstrakcja DNA za pomocą NaOH jest metodą, która daje dobre wyniki, a przy tym jest szybka, prosta, a także tania. Wybór tej metody ekstrakcji DNA do przeprowadzenia izolacji dużej liczby obiektów w krótkim czasie jest jak najbardziej uzasadniony. Według Warner i współpracowników (Warner i in., 2001) za pomocą ekstrakcji w obecności NaOH, w ciągu jednego dnia roboczego jedna osoba jest w stanie wyizolować aż 400 próbek roślinnych, podczas gdy za pomocą zestawu DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, USA)

tylko 48 próbek (obserwacje własne). Zasadniczą zaletą tej metody jest bardzo niski koszt jednostkowy. Według Warner i zespół (Warner i in., 2001) wyizolowanie jednej próbki za pomocą metody NaOH kosztuje w przybliżeniu 0,54 \$, podczas gdy za pomocą gotowych zestawów koszty, w zależności od producenta, wynoszą ponad 4,00 \$ za jedną próbkę. Jednak jakość i czystość otrzymanego DNA za pomocą ekstrakcji w obecności NaOH jest czynnikiem znacznie ograniczającym wykorzystanie tej metody izolacji w technikach molekularnych składających się z wielu etapów (AFLP, RFLP), a przez to wymagających znacznie większych ilości DNA, pozbawionego jakichkolwiek zanieczyszczeń, będących inhibitorami reakcji PCR (Peist i in., 2001; Warner i in., 2001; Kourakousis i Langridge, 2003).

Według zebranej literatury na temat zastosowania do izolacji roślinnego DNA gotowego odczynnika alkalicznego (DNAzol Direct, Molecular Research Center, USA; Plant DNAzol, Life Technologies, USA) wynika, że do niektórych procedur wprowadzono dodatkowy etap związany z oczyszczaniem wyizolowanego DNA (Ching in., 2002; Caldwell i in., 2004). Może to sugerować, że w celu uzyskania DNA lepszej jakości, konieczne jest wprowadzenie tego punktu do procedury izolacji za pomocą tego odczynnika. Jednak oznacza to, że wykorzystanie tej metody do izolacji z dużej liczby obiektów roślinnych, może znacznie przedłużyć selekcję wspomaganą markerami, na co nie zawsze można sobie pozwolić.

WNIOSKI

1. Metoda izolacji za pomocą NaOH dała porównywalne wyniki w stosunku do referencyjnej metody izolacji za pomocą zestawu DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen).
2. Ze względu na wysoką efektywność szybkiej ekstrakcji DNA za pomocą alkalicznego buforu NaOH, zastosowanie tej metody izolacji do selekcji wspomaganej markerami mikrosatelitarnymi (MAS), wydaje się jak najbardziej uzasadnione, gdyż znacznie obniża koszty analizy i skraca jej czas.
3. Metoda izolacji DNA za pomocą odczynnika DNAzol w naszych doświadczeniach nie dała oczekiwanych wyników.

LITERATURA

- Ata-ur Rehman, Raman R., Read B., Raman H. 2001. High throughput DNA isolation method for routine marker assisted selection in barley. Proceedings of the 10th Australian Barley Technical Symposium, 2001.
- Burr K., Harper R., Linacre A. 2001. One-step isolation of plant DNA suitable for PCR amplification. Plant Mol. Biol. Rep. 19: 367 — 371.
- Caldwell K. S., Dvorak J., Lagudah E. S., Akhunov E., Luo M. C., Wolters P., Powell W. 2004. Sequence polymorphism in polyploid wheat and their D-genome diploid ancestor. Genetics 167: 941 — 947.
- Ching A., Caldwell K., Jung M., Dolan M., Smith O., Tingey S., Morgante M., Rafalski A. J. 2002. SNP frequency, haplotype structure and linkage disequilibrium in elite maize inbred lines. BMC Genetics 3: 19.
- Haymes K. M. 1996. Mini-prep method suitable for a plant breeding program. Plant Mol. Biol. Rep. 14: 280 — 284.
- Hong J. K., Hwang B. K. 2005. Induction of enhanced disease resistance and oxidative stress tolerance by overexpression of pepper basic PR-1 gene in *Arabidopsis*. Physiologia Plantarum 124: 267 — 277.

- Hu W. W., Gong H., Pua E. C. 2005. Molecular cloning and characterization of S-adenosyl-methionine decarboxylase genes from mustard (*Brassica juncea*). *Physiologia Plantarum* 124: 25.
- Karakousis A., Langridge P. 2003. A high-throughput plant DNA extraction method for marker analysis. *Plant Mol. Biol. Rep.* 21: 95a — 95f.
- Koebner R. M. D., Summers R. W. 2003. 21st century wheat breeding: plot selection or plate detection? *Trends in Biotechnology* 21 (2): 59 — 63.
- Konishi T., Yasui Y., Ohnishi O. 2005. Original birthplace of cultivated common buckwheat inferred from genetic relationships among cultivated populations and natural populations of wild common buckwheat revealed by AFLP analysis. *Genes & Genetic Systems* 80 (2): 113 — 119.
- Lange D. A., Penuela S., Denny R. L., Mudge J., Concibo V. C., Orf J. H., Young N. D. 1998. A plant DNA isolation protocol suitable for polymerase chain reaction based marker-assisted breeding. *Crop Sci.* 38: 217 — 220.
- Navajas-Pérez R., Herrán R., González G. L., Jamilena M., Lozano R., Rejón C. R., Rejón M. R., Garrido-Ramos M. A. 2005. The evolution of reproductive systems and sex-determining mechanisms within *Rumex* (*Polygonaceae*) inferred from nuclear and chloroplastidial sequence data. *Molecular Biology and Evolution* 22 (9): 1929 — 1939.
- Paris M., Carter M. 2000. Cereal DNA: A rapid high-throughput extraction method for marker assisted selection. *Plant Mol. Biol. Rep.* 18: 357 — 360.
- Peist R., Hansel D., Twieling G., Löffert D. 2001. PCR inhibitors in plant DNA preparations. *QIAGEN News* 3: 7 — 9.
- Peng J., Korol A. B., Fahima T., Röder S., Ronin Y. I., Li Y. C., Nevo E. 2000. Molecular genetic maps in wild emmer wheat, *Triticum dicoccoides*: genome-wide coverage, massive negative interference, and putative quasi-linkage. *Genome Res.* 10: 1509 — 1531.
- Pestsova E., Ganai M. W., Röder M. S. 2000. Isolation and mapping of microsatellite markers specific for the D genome of bread wheat. *Genome* 43: 689 — 697.
- Post R., Post L., Dayteg C., Nilsson M., Forster B. P., Tuveesson S. 2003. A high-throughput DNA extraction method for barley seed. *Euphytica* 130: 255 — 260.
- Ribaut J. M., Hoisington D. 1998. Marker-assisted selection: new tools and strategies. *Trends in Plant Science* 3(6): 236 — 239.
- Röder M. S., Korzun V., Wendehake K., Plaschke J., Tixier M. H., Leroy P., Ganai M. W. 1998. A microsatellite map of wheat. *Genetics* 149: 2007 — 2023.
- Rudnóy S., Bratek Z., Páldi E., Rácz I., Lásztity D. 2002. FLC-like factors in wheat (cv. Mv15) and *Conyza* sp. *Proceedings of the 7th Hungarian Congress on Plant Physiology*.
- Somers D. J., Isaac P., Edwards K. 2004. A high-density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 109: 1105 — 1114.
- Song Q. J., Shi J. R., Singh S., Fickus E. W., Costa J. M., Lewis J., Gill B. S., Ward R., Cregan P. B. 2005. Development and mapping of microsatellite (SSR) markers in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 110: 550 — 560.
- Stein N., Herren G., Keller B. 2001. A new DNA extraction method for high-throughput marker analysis in a large-genome species such as *Triticum aestivum*. *Plant Breeding* 120: 354 — 356.
- Thompson D., Henry R. 1995. Single-step protocol for preparation of plant tissues for analysis by PCR. *Biotechniques* 19: 394 — 400.
- Tuveesson S. L. v Post, Öhlund R., Hagberg P., Graner A., Svitashv S., Schehr M. & Elovsson. 1998. Molecular breeding for the BaMMV/BaYMV resistance gene *ym4* in winter barley. *Plant Breed.* 117: 19 — 22.
- Wang H., Qi M., Cutler A. J. 1993. A simple method of preparing plant samples for PCR. *Nucleic Acids Research* 21 (17): 4153 — 4154.
- Warner P., Karakousis A., Schiemann A., Eglinton J., Langridge P., Barr A. 2001. An investigation of a rapid DNA extraction method for routine MAS in the S.A. Barley Improvement Program. *Proceedings of the 10th Australian Barley Technical Symposium*.
- Werner O., Ros M. R., Guerra J. 2002. Direct amplification and NaOH extraction: two rapid and simple methods preparing bryophyte DNA for polymerase chain reaction (PCR). *J. Bryology* 24: 127 — 131.

- Yamane K., Kawahara T. 2005. Intra- and interspecific phylogenetic relationships among diploid *Triticum-Aegilops* species (*Poaceae*) based on base-pair substitutions, indels, and microsatellites in chloroplast noncoding sequences. *Am. J. Botany* 92(11): 1887 — 1898.

JERZY ZIENTARSKI**JACEK WAGA**

Zakład Oceny Jakości i Metod Hodowli Zbóż, IHAR, Kraków

Białka gluteninowe o niskiej masie cząsteczkowej jako markery biochemiczne w hodowli pszenicy

Low molecular weight glutenins as biochemical marks in wheat breeding

Opracowano nową metodę rozdzielania białek gluteninowych o niskiej masie cząsteczkowej (LMW GS) w oparciu o zasadę stopniowej ekstrakcji białek ziarniaków pszenicy, przy użyciu 50% izopropanolu. Do badań wybrano dziewiętnaście odmian i rodów pszenicy ozimej o znanym składzie podjednostek białek gluteninowych o wysokiej masie cząsteczkowej (HMW GS) i zróżnicowanych pod względem właściwości technologicznych mąki. LMW GS ekstrahowano z mąki i pojedynczych ziarniaków wybranych genotypów i analizowano metodą elektroforezy w żelu poliakryloamidowym. Wśród poszczególnych odmian i rodów obserwowano od ośmiu do dziesięciu prążków elektroforetycznych różniących się pod względem masy cząsteczkowej i występujących w różnych kombinacjach, specyficznych dla badanych genotypów. Analizowano zróżnicowanie podjednostek LMW GS w grupach odmian i rodów różniących się pod względem HMW GS (5+10 i 2+12) oraz jakością technologiczną. Zidentyfikowano szereg frakcji w strefie białek o większej prędkości migracji, różnicujących odmiany wysoko- i niskojakościowe. Sugeruje to istnienie związku genetycznego pomiędzy LMW GS, a cechami jakościowymi badanych form pszenicy.

Słowa kluczowe: białka gluteninowe o niskiej masie cząsteczkowej (LMW GS), białka gluteninowe o wysokiej masie cząsteczkowej (HMW GS), elektroforeza PAGE, liczba sedymentacji

A method of low molecular weight glutenins (LMW GS) separation based on sequential extraction of wheat kernel proteins with 50% isopropanol was worked out. Nineteen cultivars and strains of winter wheat of known high molecular weight glutenin (HMW GS) composition and variable in flour technological properties were investigated. LMW GS extracted from flour and single kernels of chosen genotypes were resolved in polyacrylamide gel electrophoresis. Eight to ten protein bands differing in molecular weight and specific for individual wheats were observed. Differences in LMW GS composition between high and low quality cultivars in groups containing HMW GS 5+10 and 2+12 were analyzed. A number of protein bands differentiating high and low quality genotypes were identified. A possible relationship between LMW GS polymorphism and quality was discussed.

Key words: low molecular weight glutenin subunits (LMW GS), high molecular weight glutenin subunits (HMW GS), PAGE electrophoresis, sedimentation value

WSTĘP

Gluteniny stanowią grupę białek zapasowych odgrywających kluczową rolę w kształtowaniu cech jakościowych pszenicy. Powszechnie akceptowany jest pogląd, iż właściwości reologiczne kompleksu glutenowego związane są z występowaniem lub brakiem określonych podjednostek tych białek.

Przyjmując za podstawę klasyfikacji masę cząsteczkową podjednostek (a co za tym idzie ich prędkość migracji w żelu poliakryloamidowym) gluteniny dzieli się na frakcje o wysokiej (HMW GS) oraz o niskiej (LMW GS) masie cząsteczkowej (Payne i Corfield, 1979). O ile frakcje HMW GS zostały stosunkowo dokładnie poznane i opisane zarówno pod względem sposobu ich dziedziczenia jak też związku z jakością technologiczną, o tyle frakcje LMW GS są wciąż przedmiotem badań i dyskusji. Stanowią one specyficzną grupę białek glutenowych. Pod względem budowy chemicznej lokują się pomiędzy ω-gliadynami, a HMW GS (Beckwith, 1966). Od tych pierwszych różnią się głównie obecnością reszt cysteiny, dzięki którym mogą łączyć się za pośrednictwem wiązań disulfidowych (SS), a tym samym tworzyć dłuższe łańcuchy białkowe zbudowane z większej liczby polipeptydów. Ta cecha z kolei zbliża je do HMW GS, od których różnią się jednak niższą masą cząsteczkową (Wrigley, 1996).

LMW GS wykazują również specyfikę pod względem genetycznych uwarunkowań syntezy polipeptydów. Trzy grupy loci warunkujących podjednostki LMW GS zbudowane są z kilku silnie sprzężonych genów zlokalizowanych głównie na krótszych ramionach chromosomów 1A, 1B i 1D w bliskim sąsiedztwie głównych loci gliadyn (Jackson i in., 1983). Podobnie jak w przypadku innych białek glutenowych loci LMW GS tworzą serie alleli wielokrotnych. Konsekwencją zróżnicowania genetycznego jest polimorfizm ich budowy fizykochemicznej obserwowany u odmian i rodów pszenicy (Gupta i MacRitchie, 1994).

Wykazano, iż niektóre LMW GS są zdolne do tworzenia dwóch międzycząsteczkowych wiązań SS, przez co wspomagają proces polimeryzacji i przyczyniają się do kształtowania unikalnych właściwości reologicznych glutenu. Inne, zdolne do tworzenia tylko jednego wiązania SS wykazują przeciwstawne działanie pełniąc funkcję przerywacza procesu polimeryzacji (Kasarda, 1989). Zdaniem niektórych autorów ich rola w kształtowaniu cech jakościowych jest porównywalna z HMW GS (Gupta i in., 1989). Sugeruje to, iż łączne wykorzystanie obu grup białek zapasowych jako markerów pozwoli uzyskać bardziej obiektywny obraz zależności pomiędzy ich budową fizykochemiczną, a zmiennością tych cech niż w przypadku, gdy każda z nich jest rozpatrywana indywidualnie.

Powszechnie uważa się, iż podjednostki HMW GS 5+10 są związane z wysoką, natomiast 2+12 z niską jakością technologiczną. Jednak wśród odmian uprawnych i rodów hodowlanych można niekiedy obserwować genotypy o niskiej jakości zawierające *Glu D1-5+10*, jak również genotypy wysokojakościowe zawierające *Glu D1-2+12* (Bedo i in., 1995). Prawdopodobnie wspomniane rozbieżności mogą wynikać ze specyficznych kombinacji podjednostek LMW GS u odmian i rodów pszenicy, jak również ich interakcji z podjednostkami ciężkimi w strukturach przestrzennych matrycy glutenowej.

Celem niniejszej pracy była charakterystyka LMW GS wybranych odmian i rodów pszenicy ozimej, na podstawie metody rozdziału elektroforetycznego opracowanej w ZOJiMHZ IHAR w Krakowie oraz stwierdzenie, czy zmienność LMW GS w grupach form zawierających określone podjednostki HMW GS może być powiązana ze zmiennością ich właściwości technologicznych.

MATERIAŁ I METODY

Do badań wybrano dziewiętnaście odmian i rodów pszenicy ozimej zróżnicowanych pod względem właściwości wypiekowych mąki. Wybrany materiał pochodził z kolekcji roboczej HR Strzelce Sp. z o.o. zebranej w 2005 roku.

Właściwości technologiczne uzyskanych form pszenicy określono na podstawie testu sedymentacji (Axford i in., 1979). Podjednostki HMW GS zidentyfikowano na podstawie obrazów elektroforetycznych SDS PAGE i katalogu bloków białek gluteninowych Payne'a (Payne i Lawrence, 1983).

Białka LMW GS analizowano metodą elektroforezy w żelu poliakryloamidowym według zmodyfikowanej metodyki opracowanej przez Singh i wsp. (1991). Naważkę 0,2 g mąki oczyszczano z lekkich białek albuminowych i globulinowych 50% roztworem izopropanolu, a następnie białka glutenowe ekstrahowano 50% izopropanolem o pH = 7,9. Celem uwolnienia monomerów wiązania SS oczyszczonych białek redukowano ditiotritolem, a następnie alkilowano dodatkiem winylopirydyny. Grupę LMW GS wydzielono metodą frakcjonowanego strącania acetonem. Po odwirowaniu i rozpuszczeniu ekstrakty białkowe wprowadzano do studzienek uformowanych w żelu poliakryloamidowym. Jako roztworu elektrodowego (zarówno przy anodzie jak i katodzie) użyto rozcieńczonego (ok. 0,15%) roztworu kwasu octowego. Rozdziały elektroforetyczne prowadzono w komorach firmy BioRad (Mini Protean III) przez około 2 godziny, a następnie żele barwiono w roztworze komasyny (Coomassie Brilliant Blue R250 + G250) i odbarwiano przez dobę w wodzie. Uzyskane obrazy elektroforetyczne fotografowano techniką cyfrową.

WYNIKI

Dziewiętnaście odmian i rodów pszenicy ozimej analizowano pod kątem zróżnicowania białek HMW GS metodą SDS-PAGE oraz pod względem właściwości technologicznych, które oszacowano na podstawie liczby sedymentacji. Analizowany materiał badawczy podzielono na dwie grupy pod względem *locus Glu D1*. Pierwsza obejmowała genotypy zawierające podjednostki 5+10, natomiast druga — 2+12. Pomimo, iż średnia wartość liczby sedymentacji form zawierających *Glu D1*-5+10 (42,67 mL) była wyższa niż form zawierających *Glu D1*-2+12 (33,31 mL) to jednak w grupach obserwowano znaczne zróżnicowanie pod względem tej cechy (współczynniki zmienności odpowiednio: 36,26% i 24,76%) (tab. 1).

Tabela 1

Podział badanych materiałów na klasy jakości w grupach odmian i rodów zawierających podjednostki *Glu D1-5+10* oraz *Glu D1-2+12*

Repartition of analyzed winter wheat's according to quality and the presence of HMW GS *Glu D1-5+10* and *Glu D1-2+12*

Odmiany Cultivars	locus Glu <i>A1</i>	locus Glu B1	locus Glu <i>D1</i>	LS*	CV(%)**	Klasy jakości Classes of quality
STH 146	N	7+9	5+10	26	36,26	A1
60 A	N	6+8	5+10	27		
Rywalka	N	7+9	5+10	40		A2
Soraja	N	7+9	5+10	45		
Korweta	N	7+8	5+10	51		A3
Ostka Strzelecka	1	7+9	5+10	67		
średnia — average				42,67		
Elena	N	7+9	2+12	22	24,76	B1
STH 183	N	7+9	2+12	23		
STH 5295/1	N	7+9	2+12	24		
STH 650	N	7+9	2+12	27		
Jawa	N	7+9	2+12	29		
STH 490	N	6+8	2+12	31	B2	
Tonacja	N	7+9	2+12	33		
Kris	1	7+9	2+12	34		
STH 626	1	7+9	2+12	37		
STH 764	N	17+18+9	2+12	40	B3	
Orkisz	N	7+9	2+12	42		
Sukces	N	7+9	2+12	45		
STH 5338	N	6+8	2+12	46		
średnia — average				33,31		

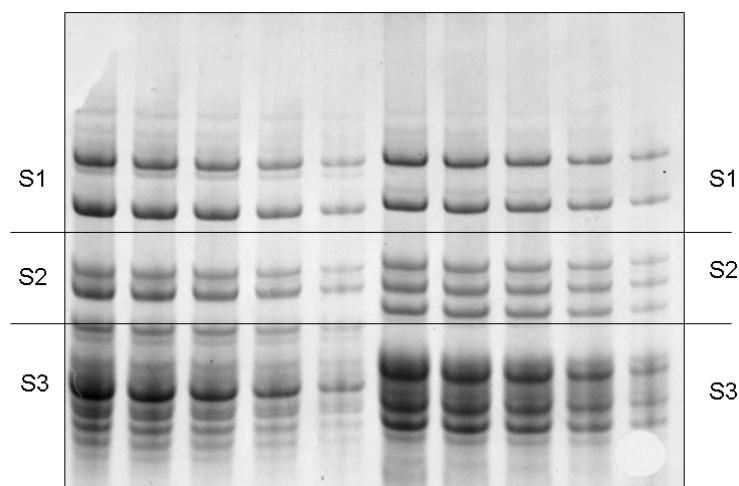
* LS — Liczba sedymentacji ; Sedimentation value

** CV (%) — Współczynnik zmienności; Coefficient of variability

Dla każdej z nich utworzono trzy podgrupy: o niskiej, średniej i wysokiej wartości liczby sedymentacji i oznaczono je symbolami: A1, A2 i A3 (dla form zawierających *Glu D1-5+10*) oraz B1, B2 i B3 (dla form zawierających *Glu D1-2+12*).

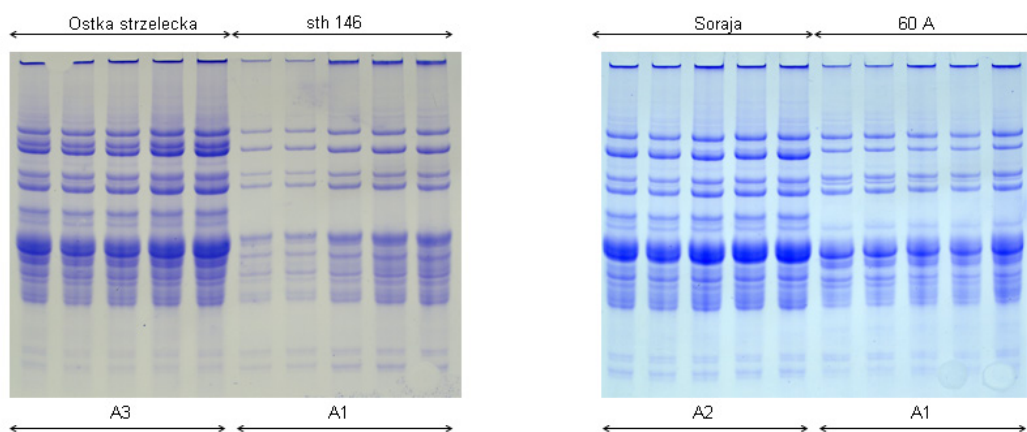
Opracowana metoda rozdziału elektroforetycznego LMW GS pozwala wyodrębnić od 8 do 10 prążków elektroforetycznych u różnych odmian i rodów pszenicy ozimej. Prawdopodobnie wszystkie stanowią białka gluteninowe o niskiej masie cząsteczkowej, chociaż na obecnym etapie badań nie można jednoznacznie wykluczyć obecności gliadyn czy też śladowych ilości HMW GS wśród rozdzielonych frakcji białkowych. Badane formy zawierają kombinacje prążków różniących się prędkością migracji, a obserwowany polimorfizm jest podobnie jak w przypadku innych białek glutenowych — uzależniony od genotypu. Prążki obserwowane na obrazach elektroforetycznych podzielono na trzy strefy, które oznaczono symbolami: S1, S2 i S3 (rys. 1).

Porównywano specyfikę obrazów elektroforetycznych LMW GS w grupie wybranych odmian i rodów zawierających podjednostki 5+10 HMW GS i charakteryzujących się skrajnie różnymi wartościami liczby sedymentacji (podgrupy A3 i A2 oraz A1) (rys. 2).



Rys. 1. Trzy strefy obrazu elektroforetycznego białek gluteninowych o niskiej masie cząsteczkowej (LMW GS)

Fig. 1. Electrophoregrams of low molecular weight glutenins divided into three zones



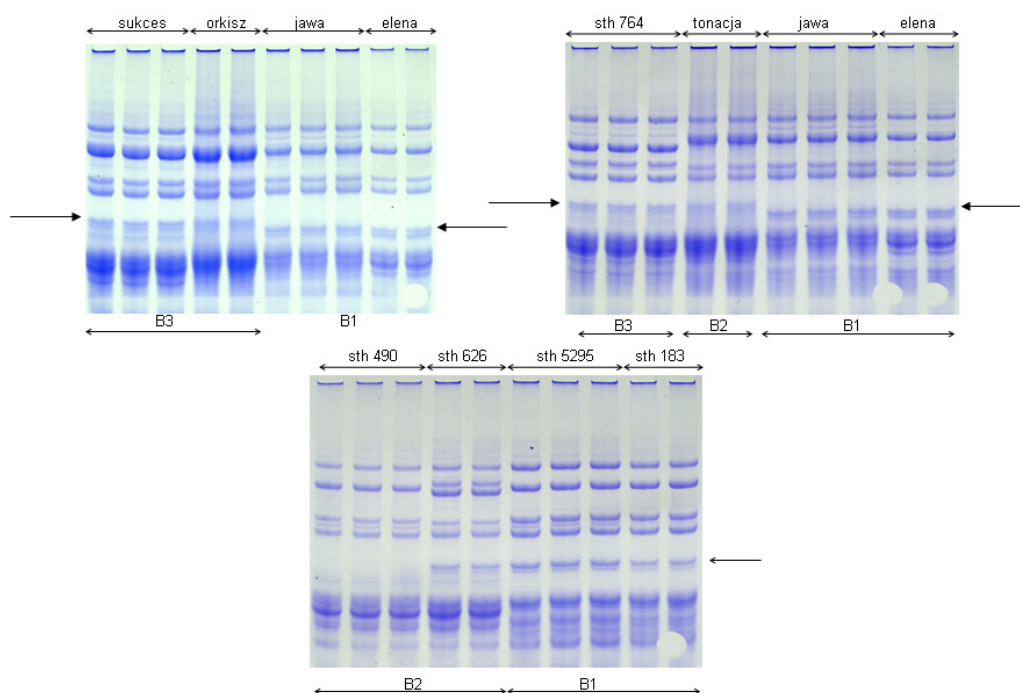
Rys. 2. Porównanie obrazów elektroforetycznych LMW GS w grupie form pszenicy ozimej zawierających podjednostki HMW GS *Glu D1-5+10*

Fig. 2. Comparison of LMW GS electrophoregrams in the group of the *Glu D1-5+10* containing cultivars and strains of winter wheat

Charakterystyczną cechą odróżniającą formy o wysokiej i niskiej liczbie sedimentacji jest obecność frakcji LMW GS zlokalizowanej na pograniczu stref S2 i S3 (zaznaczona strzałką) w środkowej i dolnej strefie obrazu elektroforetycznego. Frakcja ta pojawiła się u dwóch form o wysokiej jakości (Ostka strzelecka i Soraja) natomiast nie obserwowano

jej u żadnej spośród dwóch form o niskiej jakości, zawierających podjednostki 5+10 HMW GS (rodu STH 146 oraz linii 60A).

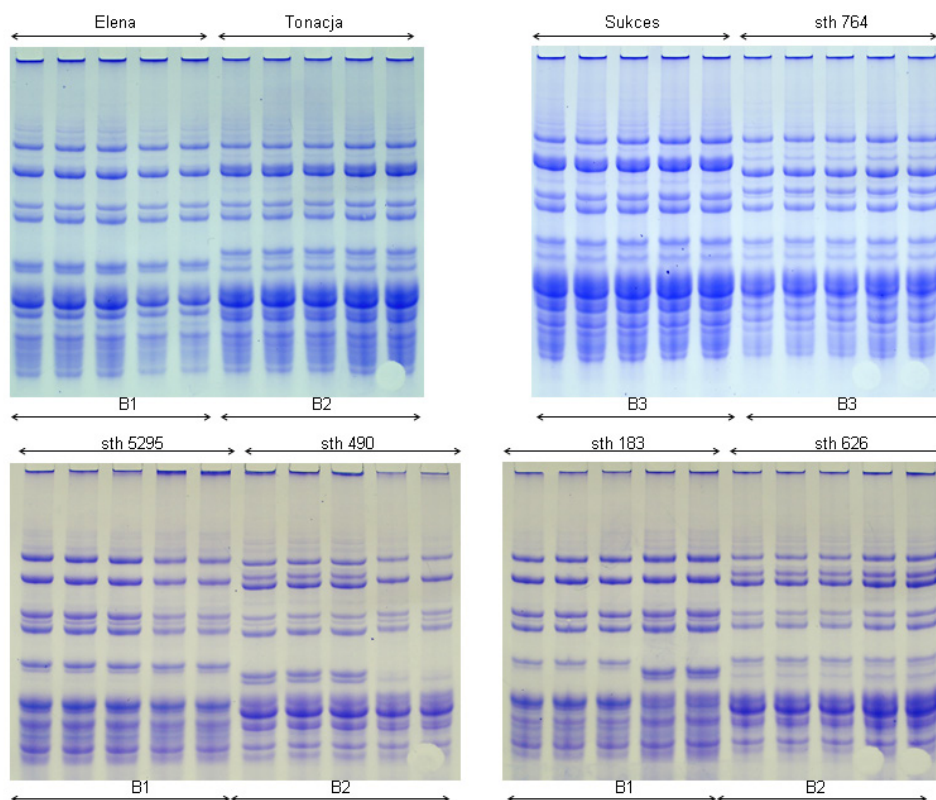
Porównując LMW GS form wysoko- i niskojakościowych w grupie odmian i rodów zawierających podjednostki 2+12 HMW GS uwagę zwraca (podobnie jak w przypadku form zawierających *Glu D1*-5+10) kombinacja wolno migrujących prążków w strefie S3 (rys. 3). Odmiany Sukces i Tonacja, ród STH 764 oraz wybrany genotyp orkisz, które charakteryzowały się wysokimi wskaźnikami testu sedymentacji zawierały w tej strefie obrazu elektroforetycznego frakcje białkowe wolniej migrujące niż w analogicznej strefie u odmian niskojakościowych Jawa i Elena. Ten charakterystyczny szczegół genotypów należących do grup B3 i B1 zaznaczono strzałkami.



Rys. 3. Porównanie obrazów elektroforetycznych LMW GS w grupie form pszenicy ozimej zawierających podjednostki HMW GS *Glu D1*-2+12

Fig. 3. Comparison of LMW GS electrophoregrams in the group of the *Glu D1*-2+12 containing cultivars and strains of winter wheat

Porównując genotypy w grupach B1 i B2 zaobserwowano, że dwie formy o niskiej liczbie sedymentacji (STH 5295 i STH 183) zawierały charakterystyczny prążek na granicy stref S2 i S3, natomiast wśród form o średnich wartościach liczby sedymentacji jeden ród (STH 626) zawierał tę frakcję, a w drugim z nich (STH 490) nie obserwowano żadnych białek w rozpatrywanej strefie obrazu LMW GS.



Rys. 4. Analiza wyrównania genetycznego pod względem LMW GS. Dwa genotypy spośród ośmiu badanych są heterogeniczne
Fig. 4. Analysis of genetic purity in respect of LMW GS. Two of eight analyzed genotypes are heterogenic

Dla wybranych odmian i rodów wykonano analizę elektroforetyczną pojedynczych ziarniaków celem stwierdzenia czystości genetycznej badanych materiałów. Spośród ośmiu analizowanych genotypów tylko dwa — rody STH 183 i STH 490 — wykazały polimorfizm wewnątrzliniowy. Pierwszy z nich zawierał dwa biotypy: jeden zawierający prążek o mniejszej i jeden o większej prędkości migracji w strefie S3. Z kolei ród STH 490 składał się również z dwóch biotypów, z których jeden zawierał prążek o większej prędkości migracji w strefie S3, natomiast drugi nie wykazywał ekspresji genu białka zlokalizowanego w rozpatrywanej strefie obrazu elektroforetycznego.

DYSKUSJA

Opracowana metoda rozdzielania elektroforetycznego glutenin o niskiej masie cząsteczkowej okazała się efektywnym narzędziem analizy składu i różnicowania budowy fizykochemicznej podjednostek w tej grupie białek. Obrazy elektroforetyczne

pozwalają zidentyfikować od ośmiu do dziesięciu ostrych, wyraźnie widocznych prążków. Ich jakość jest porównywalna z jakością obrazów prezentowanych w innych pracach związanych z dziedziczeniem i analizą właściwości chemicznych LMW GS (Singh i in., 1991; Melas i in. 1994; Morel, 1994).

Uzyskane wyniki sugerują, że polimorfizm LMW GS obserwowany wśród badanych odmian i rodów pszenicy ozimej jest powiązany ze zmiennością jakości technologicznej oszacowanej na podstawie testu sedimentacji, co oznacza, że obrazy elektroforetyczne LMW GS, a w szczególności kombinacje prążków w strefie średnio i szybko migrujących frakcji oznaczonych symbolami S2 i S3, mogą być efektywnie wykorzystywane jako markery cech jakościowych, użyteczne w hodowli nowych odmian pszenicy. Podobne zależności zostały stwierdzone również przez innych autorów (Masci i in., 1991, Vaccino i in., 2002). Analiza związków z jakością dla prążków w strefie S1 wymaga dodatkowych badań.

W pracach nad polimorfizmem HMW GS oraz identyfikacją ich podjednostek u odmian i rodów pszenicy niejednokrotnie można spotkać formy o niskiej jakości, które zawierają korzystne (z punktu widzenia właściwości technologicznych) bloki białkowe (*Glu B1-7+9* czy *Glu D1-5+10*). Można zaobserwować też odwrotną zależność w przypadku form wysokojakościowych zawierających bloki powiązane z niską jakością (np. *Glu B1-6+8* czy *Glu D1-2+12*) (Bedo i in., 1995). Najbardziej prawdopodobną przyczyną tego zjawiska jest zróżnicowanie innych czynników mających wpływ na końcową wartość parametrów technologicznych genotypu. Jednym z takich czynników może być kombinacja podjednostek LMW GS. Obserwowana ich zmienność u badanych odmian i rodów pszenicy wyjaśnia do pewnego stopnia obserwowane rozbieżności w powiązaniach HMW GS z cechami jakościowymi. Uzyskany wynik sugeruje, że analiza zmienności podjednostek we wszystkich trzech grupach białek glutenowych: HMW GS, LMW GS oraz w gliadynach jest najbardziej racjonalną strategią wykorzystania elektroforetycznych markerów białkowych w hodowli nowych odmian pszenicy. W ten sposób zwiększa się prawdopodobieństwo identyfikacji genotypów wysokojakościowych w mieszańcowym potomstwie kombinacji krzyżowań, na podstawie obrazów elektroforetycznych. Wyniki badań innych autorów potwierdzają słuszność tej hipotezy (Gupta i in., 1989).

Biorąc pod uwagę różnice metodyczne przedstawionej metody analizy LMW GS oraz specyfikę uzyskanych rozdziałów, wyniki ich interpretacji zarówno pod względem genetycznym, jak i biochemicznym mogą nieznacznie odbiegać od schematów opisanych w literaturze (Gupta i MacRitchie, 1994). Zagadnienia te będą przedmiotem przyszłych badań.

LITERATURA

- Axford D. W. E., Mc Dermott E. E., Redman D. G. 1979. Dodecylo sulfate test of breadmaking quality: comparison with Pelshenke and Zeleny tests. *Cereal Chem.* 56 (6): 552.
- Beckwith A. C., Nielsen H. C., Wall J. S., Huebner F. R. 1966. Isolation and characterization of a high-molecular-weight protein from wheat gliadin. *Cereal Chem.* 43: 14 — 28.

- Bedo Z., Karpati M., Vida G., Kramarik-Kissimon J., Lang L. 1995. Good breadmaking quality wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes with 2+12 subunit composition at the *Glu-D1* locus. *Cereal Res. Commun.* Vol.23 No.3: 283 — 290.
- Gupta R. B., Singh N. K., Shepherd K. W. 1989. The cumulative effect of allelic variation in LMW and HMW glutenin subunits on dough properties in the progeny of two bread wheats. *Theor. Appl. Genet.* 77: 57 — 64.
- Gupta R. B., MacRitchie F. 1994. Allelic variation at gluten subunit and gliadin loci, *Glu-1*, *Glu-3* and *Gli-1* of common wheats. II. Biochemical basis of the allelic effects on dough properties. *Cereal Chem.* 19: 19 — 29.
- Gupta R. B., Paul J. G., Cornish G. B., Palmer G. A., Bekes F., Rathjen A. J. 1994. Allelic variation of glutenin subunit and gliadin loci, *Glu-1*, *Glu-3* and *Gli-1*, of common wheats. I. Its additive and interaction effects on dough properties. *J. Cereal Sci.* 19, 9 — 17.
- Jackson E. A., Holt L. M., Payne P. I. 1983. Characterisation of high molecular weight gliadin and low-molecular-weight glutenin subunits of wheat endosperm by two-dimensional electrophoresis and the chromosomal localization of their controlling genes. *Theor. Appl. Genet.* 66: 29 — 37.
- Kasarda D. D. 1989. Glutenin structure in relation to wheat quality. In: Pomeranz Y. (eds.), *Wheat is unique*. American Association of Cereal Chemistry, St Paul, MN: 277 — 302.
- Masci S. M., Porceddu E., Colaprico G., Lafiandra D. 1991. Comparison of the B and D subunits of glutenin encoded at the *Glu-D3* locus in two biotypes of the common wheat cultivar Newton with different technological characteristics. *J. Cereal Sci.* 14: 35 — 46.
- Melas V., Morel M. H., Autran J. C., Feillet P. 1994. Simple and rapid method for purifying low molecular weight subunits of glutenin from wheat. *Cereal Chem.* 71 (3): 234 — 237.
- Morel M. H. 1994. Acid-polyacrylamide gel electrophoresis of wheat glutenins: a new tool for the separation of high and low molecular weight subunits. *Cereal Chem.* 71 (3): 238 — 242.
- Payne P. I., Corfield K. G. 1979. Subunit composition of wheat glutenin proteins, isolated by gel filtration in a dissociating medium. *Planta* 145: 83 — 88.
- Payne P. I., Lawrence G. J. 1983. Catalogue of alleles for the complex loci, *Glu-A1*, *Glu-B1* and *Glu-D1* which code for high-molecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheat. *Cereal Res. Commun.* 11: 29 — 35.
- Singh N. K., Shepherd K. W., Cornish G. B. 1991. A simplified SDS-PAGE procedure for separating LMW subunits of glutenin. *J. Cereal Sci.* 14: 203 — 208.
- Vaccino P., Redaelli R., Metakovsky E. V., Borghi B., Corbellini M., Pogna N. E. 2002. Identification of novel low MW glutenin subunits in the high quality bread wheat cv. Salmone and their effects on gluten quality. *Theor. Appl. Genet.* 105: 43 — 49.
- Wrigley C. W. 1996. Giant proteins with flour power. *Nature* 381: 738 — 739.

JACEK WAGA**JERZY ZIENTARSKI**

Zakład Oceny Jakości i Metod Hodowli Zbóż, IHAR, Kraków

Strategie wytwarzania genotypów pszenicy o obniżonej zdolności wywoływania alergii i celiakii*

Strategies for development of hypoallergenic wheat genotypes

Białka gliadynowe są ważnymi składnikami różnych środków spożywczych wytwarzanych z ziarna pszenicy a w konsekwencji odgrywają istotną rolę w żywieniu człowieka. Jednakże w przypadku osób z nietolerancją glutenową są one czynnikiem odpowiedzialnym za różne formy alergii pokarmowych, natomiast dla chorych na celiakię substancją toksyczną. Stanowi to poważny problem związany z jakością, zdrowiem i bezpieczeństwem żywności. Badano zróżnicowanie właściwości alergogennych gliadyn u wybranych odmian, rodów oraz linii mieszańcowych pszenicy ozimej. Na podstawie testu ELISA oraz punktowych testów skórnych określano intensywność reakcji immunologicznej wywoływanej przez analizowane ekstrakty białkowe. Zidentyfikowano szereg mieszańców zawierających specyficzne kombinacje gliadyn warunkowane chromosomami *1B* bądź *1D*, wykazujących obniżoną immunoreaktywność w stosunku do form rodzicielskich. Korzystne właściwości w porównaniu do odmian uprawnych zaobserwowano też w przypadku dzikich form pszenicy, przede wszystkim *Triticum monococcum* oraz *Triticum dicoccum*. Stwierdzone zróżnicowanie immunoreaktywności gliadyn w obrębie gatunków oraz linii mieszańcowych stwarza perspektywę wykorzystania metod stosowanych w genetyce i hodowli roślin w pracach nad wytwarzaniem genotypów pszenicy o obniżonych zdolnościach wywoływania alergii i celiakii.

Słowa kluczowe: gliadyny, celiakia, alergie

Gliadins are one of the most important components in many foodstuffs produced from wheat seed, so they play a significant role in the human diet. However, for people suffering gluten intolerance they may be strong food allergens and in the case of celiac patients – even toxic. This is a serious problem connected with food safety and quality. Immunoreactivity of gliadins extracted from chosen wheat genotypes (species, cultivars and hybrid lines) was investigated. Based on ELISA and skin prick tests binding of gliadin proteins with specific antigliadin antibodies as well as human sera containing IgE antibodies to gluten was analysed. Hybrid genotypes containing a unique composition of gliadins coded by chromosomes *1B* and *1D* were identified. They showed decreased immunoreactivity in comparison with parental forms. Similar effect was observed in the case of wild progenitors of common wheat:

* Praca naukowa finansowana ze środków Ministra Nauki w latach 2004–2007 jako projekt badawczy zamawiany nr PBZ-KBN-097/P06/2003

Triticum monococcum and *Triticum dicoccum*. Differentiation of the analysed wheat species and lines in respect of immunoreactive properties suggest possibility of using genetics and plant breeding methods in production of new hypoallergic wheat genotypes.

Key words: gliadins, celiac, allergies

WSTĘP

Białka gliadynowe są szczególnym przykładem substancji biochemicznych, których cechy korzystne i użyteczne łączą się z cechami niekorzystnymi, wręcz szkodliwymi dla zdrowia ludzi. Są one ważnym elementem strukturalnym glutenu, tym samym mają znaczący wpływ na właściwości wypiekowe mąki. Jako składnik wielu pokarmów odgrywają istotną rolę w żywieniu człowieka. Jednakże w przypadku osób uczulonych na gluten są silnym alergenem (wywołującym m.in.: astmę, atopowe zapalenie skóry, pokrzywkę, obrzęk naczynioruchowy czy alergie pokarmowe) natomiast dla chorych na celiakię — substancją toksyczną (Bürk i in. 2001, Vissers i in. 2001, Rujner, 1993). Stanowi to poważny problem związany z jakością, zdrowiem i bezpieczeństwem żywności. Ranga problemu sprawia, że ograniczenie właściwości alergizujących gliadyn (podobnie jak innych grup białek ziarniaków pszenicy) stało się przedmiotem intensywnych badań o charakterze interdyscyplinarnym. Dotychczas wiodącą rolę w tych pracach odgrywały nauki medyczne i technologia żywności. Rozwój wiedzy na temat właściwości biochemicznych i sposobu dziedziczenia białek zapasowych pszenicy dał teoretyczne podstawy dla włączenia w krąg badań metod z zakresu genetyki i hodowli roślin.

Mimo istotnych różnic pomiędzy alergiami i celiakią oba typy zaburzeń stanu zdrowia są wynikiem nieprawidłowego funkcjonowania systemu immunologicznego.

W przypadkach alergii organizm osoby uczulonej wytwarza nadmierne ilości przeciwciał klasy IgE przeciwko białkom glutenowym pszenicy i ich analogom pochodzącym z ziarniaków żyta, jęczmienia czy owsa. Wiązanie antygenów z przeciwciałami powoduje uwolnienie histaminy (pochodna aminokwasu histydyny), której duże ilości zgromadzone są w bazofilach. Po wydostaniu na zewnątrz histamina, zwiększając przepuszczalność naczyń krwionośnych, w różny sposób uszkadza narządy organizmu (Czerwionka-Szaflarska i Muller, 2001).

Inny rodzaj aktywności immunologicznej białek zapasowych pszenicy występuje w przypadku celiakii. Biochemiczne aspekty rozwoju choroby są wciąż przedmiotem badań naukowych. Obecnie wiadomo, że istotne znaczenie w patogenezie celiakii odgrywa enzym transglutaminaza tkankowa (tTG), który modyfikuje krótkie peptydy powstałe w wyniku trawienia enzymatycznego białek gliadynowych w przewodzie pokarmowym powodując zamianę określonych reszt glutaminy na kwas glutaminowy (Green i Jabri, 2003). Tak zmodyfikowane peptydy są szczególnie efektywnie wiązane przez białka głównego układu zgodności tkankowej (typu HLA DQ2), a następnie rozpoznawane przez specyficzne dla gliadyn limfocyty T. Opisane reakcje inicjują procesy zapalne wywołujące typowe dla celiakii objawy, takie jak zanik kosmków czy uszkodzenie błony śluzowej jelita cienkiego (Mc Mowat, 2003).

Należy zaznaczyć, iż pewne grupy gliadyn są bardziej szkodliwe dla zdrowia pacjentów, inne mniej. Przykładowo, w celiakii najbardziej aktywne są lekkie frakcje α -gliadyn natomiast jednym z ważniejszych alergenów są szybko migrujące w trakcie elektroforezy białka należące do grupy ω -gliadyn (Kasarda, 1994, Palosuo i in., 2001). Z punktu widzenia struktur białkowych istotną rolę w patogenezie odgrywają krótkie, powtarzające się sekwencje aminokwasów pełniące funkcje epitopów, a więc regionów bezpośrednio wiązanych przez przeciwciała (De Ritis i in., 1988). Zbudowane są one głównie z reszt proliny i glutaminy. W przypadku alergii szczególnie aktywny jest pentapeptyd Gln-Gln-Gln-Pro-Pro natomiast w celiakii — dwa tetrapeptydy: Gln-Gln-Gln-Pro oraz Pro-Ser-Gln-Gln określane w literaturze anglojęzycznej terminem "toxic peptides".

Badania właściwości alergizujących gliadyn — podobnie jak innych grup białek zapasowych zbóż są młodą, choć intensywnie rozwijającą się dyscypliną nauki. Z uwagi na brak standardowych metod w ich ocenie często wykorzystuje się zmodyfikowane testy diagnostyczne stosowane w praktyce klinicznej. Zarówno alergie jak i celiakia są chorobami, których rozwój spowodowany jest nieprawidłowym funkcjonowaniem systemu immunologicznego. Dlatego wskaźnikiem aktywności biologicznej alergenu może być — między innymi — zdolność jego wiązania przez różne komponenty układu odpornościowego, takie jak przeciwciała przeciwko endomysium, gliadynie, transglutaminazie obecne w surowicy pacjentów, molekuły DQ-2 czy specyficzne dla glutenu linie komórek T (Zwolińska-Wcisło i Galicka-Latała, 2004; Shuo-Wang i in., 2005).

Celem niniejszej pracy było stwierdzenie czy białka gliadynowe różnych form pszenicy ozimej (gatunków, odmian, linii mieszańcowych) wykazują zróżnicowanie pod względem zdolności wiązania przeciwciał antygliadynowych w warunkach *in vitro*, w procesie symulującym odpowiedź immunologiczną organizmu pacjentów uczulonych na gluten.

MATERIAŁ I METODY

Materiał roślinny

Materiał badawczy stanowiły:

- formy uprawne — powszechnie znane odmiany i rody pszenicy ozimej,
- blisko spokrewnione biotypy gliadynowe, wytworzone z linii heterogenicznych potomstwa orkisz odmiany Oberkumler Rotkorn i rodu LAD 480,
- dzikie gatunki pszenicy: *Tr. monococcum*, *Tr. dicoccum* oraz *Tr. beoticum*.

Ekstrakcja białek gliadynowych

Białka gliadynowe ekstrahowano z mąki dwuetapowo. W pierwszej kolejności badane próby oczyszczano z białek nieglutenowych - albumin i globulin — 0,01 M roztworem NaCl w proporcji 1:10 (w/v) przez 2 godziny w temperaturze pokojowej. Po odwirowaniu (10,000 rpm, 10 min) i usunięciu supernatantu do pozostałego w próbówce osadu dodawano 70% roztwór alkoholu etylowego (również w proporcji 1:10) i mieszano z przez całą noc. Po ponownym odwirowaniu ekstrakty rozcieńczono w stosunku 1:10.000 i 1:100.000, i analizowano pod względem właściwości immunoreaktywnych.

Ocena właściwości immunoreaktywnych i alergizujących gliadyn

Właściwości immunoreaktywne białek gliadynowych wybranych form pszenicy określono na podstawie testu ELISA. W badaniach wykorzystano dwa warianty tej metody: wariant bezpośredni („direct”) oraz pośredni („indirect”).

W pierwszym przypadku ekstrakty gliadynowe wprowadzano do studzienek mikrotitracyjnych (w ilości 100 μ L na studzienkę) i opłaszczano przez całą noc w temperaturze 4°C. Na drugi dzień ekstrakty usuwano, płytki płukano trzykrotnie roztworem PBST, a do studzienek wprowadzano królicze poliklonalne przeciwciała antygliadynowe skoniugowane z peroksydazą chrzanową (aga-hrp, rozcieńczenie 1:1000) (Sigma Co.), które inkubowano w temperaturze 36°C przez 1,5 godziny. W wyniku reakcji z substratem (fabrycznie przygotowany roztwór ortofenylenodwuaminy) powstawał barwny produkt, którego intensywność wybarwienia określano przy użyciu czytnika testu ELISA. Wartości gęstości optycznej (OD) analizowanych prób interpretowano jako wskaźnik właściwości immunoreaktywnych badanych białek.

W układzie „indirect” ELISA płytki opłaszczano roztworem gliadyny analogicznie jak w układzie „direct”. Na drugi dzień do studzienek wprowadzano roztwór surowicy ludzkiej rozcieńczony w buforze PBST w stosunku 1:2. Surowice zawierające wysoki poziom przeciwciał klasy IgE przeciwko glutenowi uzyskano od pacjentów wykazujących objawy alergii pokarmowych. Po inkubacji (36°C, 1,5 godziny) nadmiar surowicy usuwano, a na jej miejsce wprowadzano koniugaty (przeciwciała typu „antihuman” skoniugowane z alkaliczną fosfatazą) rozcieńczone w stosunku 1:1000 i ponownie inkubowano w temperaturze 36°C przez 1,5 godziny. Jako substratu używano BCIP/NBT. Wynik reakcji immunologicznej określono na podstawie odczytu gęstości optycznej produktów analogicznie jak w układzie „direct” ELISA.

Właściwości alergizujące gliadyn określano na podstawie zmodyfikowanego testu skórno (SPT). W praktyce lekarskiej służy on do wykrywania alergii oraz identyfikacji rodzaju alergenów wywołujących uczulenia u badanych pacjentów. Na powierzchnię nakłutego igłą naskórka nanosi się 1–2 kropel badanego roztworu. W efekcie wiązania przeciwciał obecnych w krwi na skórze pojawia się okrągła czerwona plama, której średnica jest miarą intensywności reakcji immunologicznej informując o stopniu uczulenia badanego pacjenta. Opisaną metodę dostosowano do oceny właściwości immunoreaktywnych gliadyn, które po rozpuszczeniu w 0,01 M kwasie mlekowym wykorzystano jako antygeny. Wielkość obserwowanych plam była, w niektórych przypadkach, porównywalna z odczynem fabrycznego standardu. W naszych badaniach, w których uczestniczyli pacjenci wykazujący silne objawy alergii, wynik testu interpretowano jako alergeniczność badanego roztworu gliadyn.

Redukcja wiązań disulfidowych

Wewnątrzłańcuchowe wiązania disulfidowe białek gliadynowych poddano redukcji przy użyciu systemu tioredoksyny, w skład którego wchodziły: tioredoksyna (0,3 mg/mL), enzym reduktaza tioredoksyny (0,3 mg/mL) oraz 25 mM NADPH (Kobrehel i in., 1992). Mieszaninę reakcyjną rozpuszczoną w buforze tris-HCl (pH = 7,9) inkubowano przez 30 minut w temperaturze 36°C. Uzyskane produkty reakcji analizowano pod względem właściwości immunoreaktywnych.

WYNIKI

Immunoreaktywność siedemnastu odmian, rodów i gatunków pszenicy oszacowano na podstawie wartości OD produktów reakcji immunoenzymatycznej gliadyn z surowicą pacjentów wykazujących objawy alergii pokarmowych (tab. 1). Obliczono również wartości wskaźnika, który informował o ile procent wartości OD każdego z badanych genotypów różniły się od średniej wartości OD dla form uprawnych. Wykazano, że zróżnicowanie immunoreaktywności gliadyn u wybranych odmian i rodów pszenicy ozimej było stosunkowo nieznaczne. Natomiast gliadyny dwóch form dzikich: *Triticum monococcum* oraz *Triticum dicoccum* wykazywały zdecydowanie niższą (około 15% i 20%) zdolność wiązania przeciwciał surowicy w porównaniu do form uprawnych.

Tabela 1

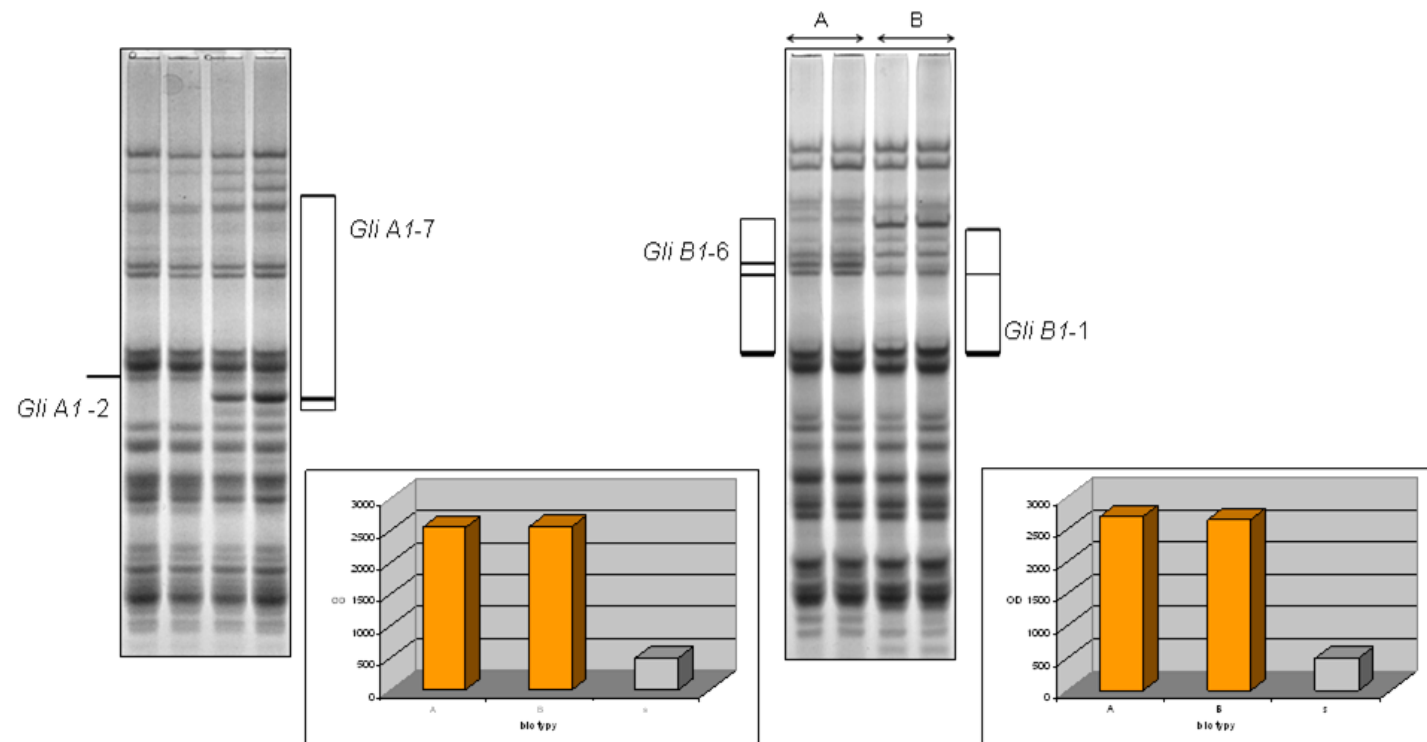
Immunoreaktywność gliadyn w grupie wybranych form pszenicy
Gliadin's immunoreactivity in the group of chosen wheat genotypes

Lp. No.	Genotyp Genotype	OD*	I (%)**
1	Tonacja	2701	97,4
2	Sukces	2784	100,4
3	Jawa	2692	94,8
4	Elena	2781	100,3
5	Ostka strzelecka	2660	95,9
6	LAD 480	2965	96,9
7	Orkisz	2877	103,8
8	STH 146	2770	99,9
9	STH 626	2793	100,7
10	STH 650	2751	99,2
11	STH 764	2717	98,0
12	STH 5338	2849	102,7
13	<i>Tr. aethiopicum</i>	2714	97,9
14	<i>Tr. araraticum</i>	2627	94,7
15	<i>Tr. boeoticum</i>	2645	95,4
16	<i>Tr. dicoccum</i>	2379	85,8
17	<i>Tr. monococcum</i>	1985	81,6

*OD — Gęstość optyczna; Optical density

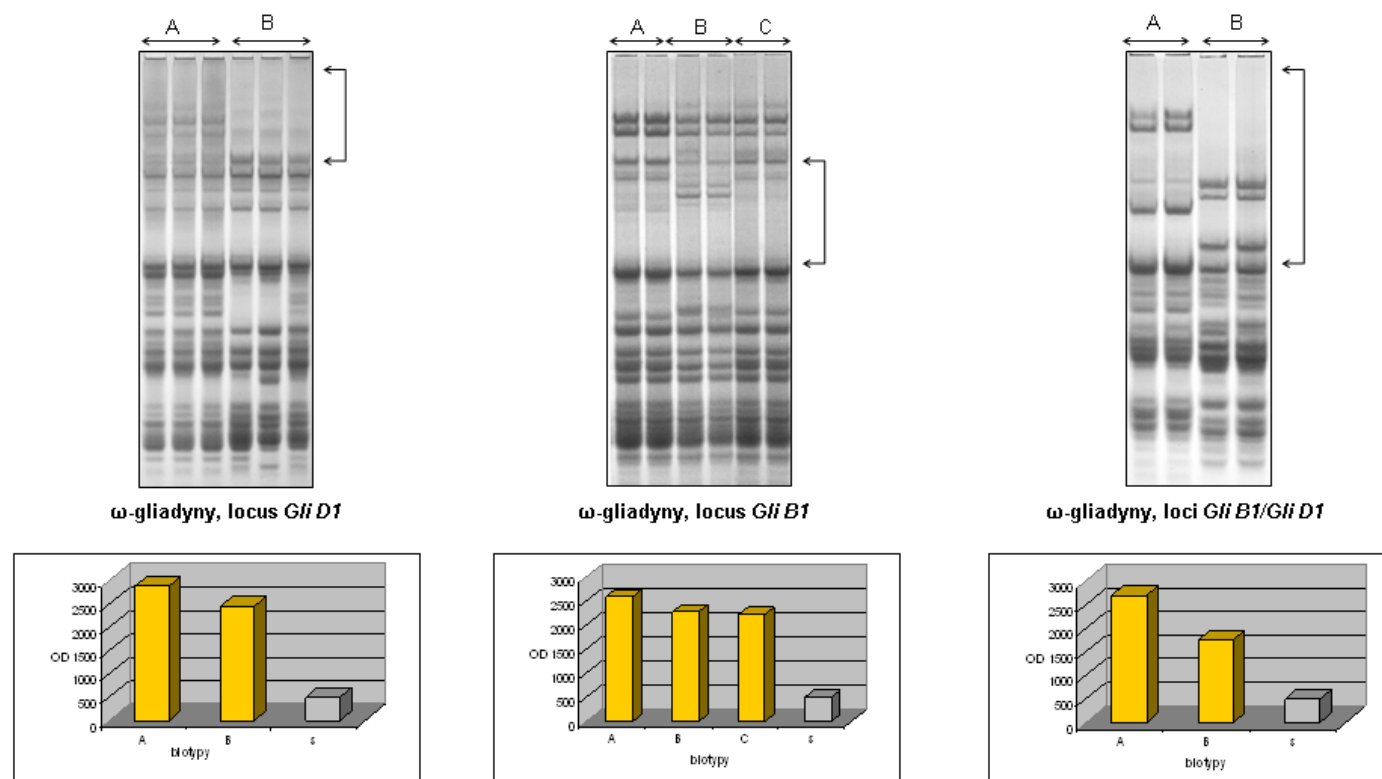
**I (%) — Procent średniej wartości OD form uprawnych pszenicy; Percent of average OD value calculated for common wheat genotypes)

W odrębnym doświadczeniu porównywano parami blisko spokrewnione biotypy wytworzone z linii mieszańcowych orkiszu i rodu LAD 480. Biotypy w obrębie pary różniły się tylko jednym blokiem białek gliadynowych (rys. 1 a). Taki dobór materiału pozwala określić wpływ różnicującego bloku białkowego na zmienność badanej cechy. Porównanie wytworzonych linii mieszańcowych sugeruje, że frakcje powszechnie obserwowane wśród polskich odmian i rodów, nie różnicują analizowanych biotypów pod względem immunoreaktywności gliadyn.



Rys. 1 a. Obrazy elektroforetyczne oraz immunoreaktywność gliadyn w blisko spokrewnionych liniach mieszańcowych. A, B – biotypy gliadynowe s – ślepe próby

Fig. 1 a. Gliadin's electrophoregrams and immunoreactivity of closely related hybrid genotypes. A, B – gliadin biotypes. s – blanks

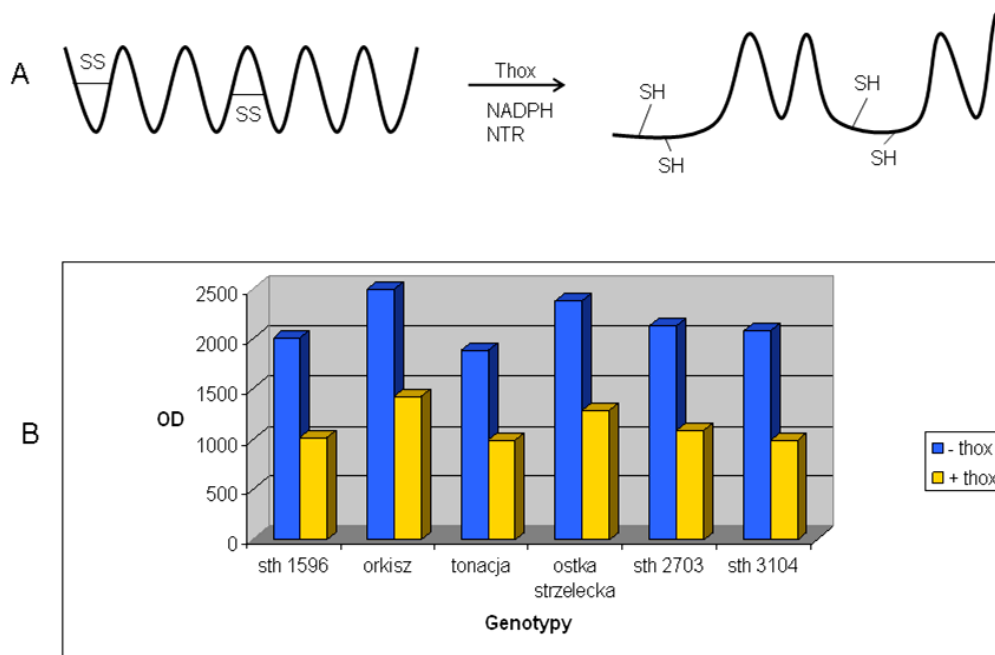


Rys. 1 b. Obrazy elektroforetyczne oraz immunoreaktywność gliadyn w blisko spokrewnionych liniach mieszańcowych. A, B – biotypy gliadynowe s – ślepe próby (kontynuacja 1 a)

Fig. 1 b. Gliadin's electrophoregrams and immunoreactivity of closely related hybrid genotypes. A, B – gliadin biotypes. s – blanks (continuation of 1 a)

W trakcie badań zidentyfikowano szereg genotypów zawierających specyficzne kombinacje prążków elektroforetycznych (rys. 1b). W ich przypadku stwierdzono wyraźnie słabsze wiązanie przeciwciał w porównaniu z biotypami stanowiącymi punkt odniesienia. Wartości OD dla tych genotypów były niższe przeciętnie o około 20%. Nietypowe kombinacje gliadyn obserwowano w grupach frakcji białkowych warunkowanych chromosomami 1B i 1D.

W punktowych testach skórnych gliadyny form dzikich oraz biotypów zawierających nowe kombinacje gliadyn również wykazywały nieco słabszy odczyn immunologiczny w porównaniu z typowymi odmianami uprawnymi.



Rys. 2. Wpływ tioredoksyny na strukturę i właściwości gliadyn. A — Częściowe rozfałdowanie struktury drugorzędowej w wyniku redukcji wiązań SS. B — Obniżenie właściwości immunoreaktywnych gliadyn

Fig. 2. Influence of thioredoxin on structure and properties of gliadin proteins. A — Partially unfolding of secondary structure after reduction of SS bonds. B — Decreasing of gliadin's immunoreactivity

Z kolei analizowano wpływ modyfikacji z wykorzystaniem tioredoksyny na właściwości immunoreaktywne gliadyn różnych form pszenicy. Tioredoksyna jest niskocząsteczkowym białkiem o właściwościach oksydoredukcyjnych, które w obecności enzymu — reduktazy tioredoksyny oraz NADPH redukuje wewnątrzłańcuchowe wiązania disulfidowe (SS) frakcji α , β oraz γ -gliadyn (Kobrehel i in., 1992). Zgodnie z hipotezą taka modyfikacja może łagodzić właściwości alergizujące białek, a z drugiej strony poprawiać właściwości wypiekowe mąki, gdyż częściowo rozfałdowane łańcuchy aminokwasów mają zdolność przyłączania się do wielocząsteczkowych molekuł gluteninowych za

pośrednictwem uwolnionych grup hydrosulfidowych (SH). Zwiększenie stopnia polimeryzacji zwiększa ich elastyczność (Wong i in., 1993). Celem weryfikacji tej hipotezy białka gliadynowe wybranych odmian uprawnych i rodów hodowlanych uzyskane metodą stopniowej ekstrakcji (a więc po ich wstępnym oczyszczeniu z albumin oraz globulin) poddano redukcji z wykorzystaniem systemu tioredoksyny. Immunoreaktywność uzyskanych produktów określono na podstawie testu ELISA zarówno w układzie „direct” jak też „indirect”. Wyniki badań w obu przypadkach wskazują na znaczny spadek immunoreaktywności białek (rys. 2). Wahał się on w granicach od 40 do 50% w stosunku do prób nie modyfikowanych, co oznacza, że zdolność wiązania przeciwciał antygliadynowych przez białka ziarniaków pszenicy o zmienionej, częściowo rozfałdowanej strukturze drastycznie zmalała. Sugeruje to, iż alergeniczność produktów spożywczych wytworzonych z mąki poddanej modyfikacji z wykorzystaniem systemu tioredoksyny może być również mniejsza, a sama metoda znaleźć komercyjne zastosowanie do produkcji żywności o właściwościach hipoalergicznym, a więc niewywołujących niepożądanych reakcji organizmu w przypadku osób uczulonych na gluten.

Skuteczność tioredoksyny została stwierdzona również przez innych autorów (Buchanan i in., 1997). Uzyskane wyniki okazały się na tyle zachęcające, że w chwili obecnej bada się możliwości wytworzenia pszenicy o podwyższonej zawartości poszczególnych składników systemu jak również o podwyższonej efektywności funkcjonowania systemu tioredoksyny. Badania te prowadzone są zarówno z wykorzystaniem tradycyjnych metod hodowlanych, opartych na kombinacjach krzyżowań i selekcji mieszańców, jak również z wykorzystaniem linii transgenicznych uzyskanych metodami biologii molekularnej (Buchanan i in., 2001).

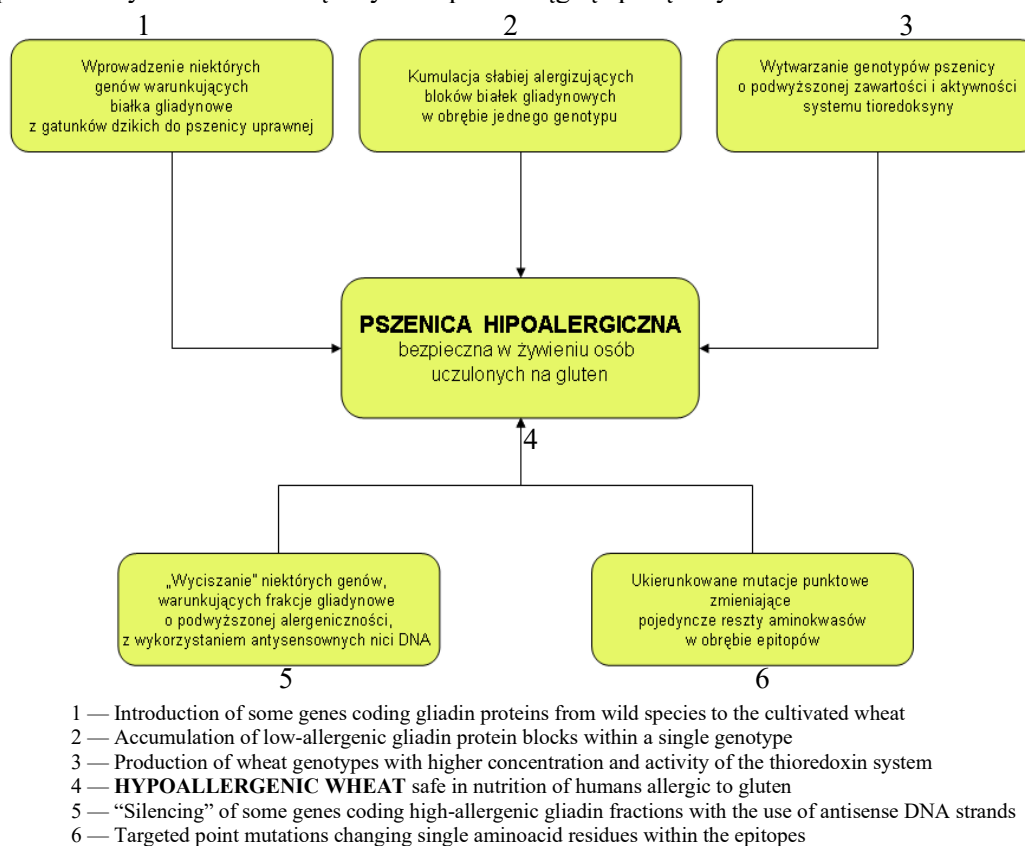
DYSKUSJA

Opisane przykłady ilustrują możliwość wytwarzania linii pszenicy zawierających gliadyny o obniżonej alergeniczności drogą:

- przeniesienia genów warunkujących białka gliadynowe z niektórych gatunków dzikich do pszenic uprawnych,
- identyfikacji, a następnie kumulacji w obrębie jednego genotypu słabiej alergizujących bloków białek gliadynowych warunkowanych różnymi chromosomami,
- identyfikacji genotypów o podwyższonej zawartości i efektywności systemu tioredoksyny.

Zakres metod nieomówionych, pozwalających uzyskać zbliżony efekt, jest z pewnością znacznie szerszy. Należałoby wspomnieć o możliwości wykorzystania technologii antysensownych nici DNA do wyciszania określonych genów warunkujących najbardziej toksyczne frakcje gliadyn, czy zastosowaniu ukierunkowanych mutacji punktowych pozwalających zmieniać pojedyncze aminokwasy w obrębie epitopów (Brown, 2001, Kuipers i in., 1997). Wydaje się jednak, że znacznie bardziej efektywnym podejściem byłoby zastosowanie strategii łączącej kilka wzajemnie uzupełniających się metod (rys. 3). Indywidualnie każda z nich może przyczynić się do obniżenia właściwości alergogennych,

lecz nie do ich eliminacji. Tymczasem obniżenie — nawet znaczne — jest niewystarczające z punktu widzenia norm żywieniowych. Przykładowo, górna granica stężenia gliadyny w produktach bezglutenowych, dopuszczalna przez Codex Alimentaris wynosi 200 ppm (Codex Stan., 1981). Trudno przypuszczać, aby zastosowanie którejkolwiek z wymienionych metod pozwoliło obniżyć immunoreaktywność gliadyn do poziomu, którego efekt byłby porównywalny z efektem działania śladowych ilości białka o stężeniu 200 ppm. Można natomiast oczekiwać, że połączenie kilku takich metod pozwoliłoby w znacznie większym stopniu osiągnąć pożądany rezultat.



Rys. 3. Strategia wytwarzania genotypów pszenicy hipoalergicznej
Fig. 3. Strategy of developing hypoallergenic wheat genotypes

Należy wziąć pod uwagę, iż w przypadku białek glutenowych nie można wyeliminować wszystkich polipeptydów (nawet gdyby takie rozwiązanie było teoretycznie możliwe), ponieważ w efekcie właściwości wypiekowe uległyby drastycznemu pogorszeniu, co byłoby niezgodne z założeniami badań.

Należy także pamiętać, iż poza gliadynami w ziarniakach pszenicy są jeszcze inne grupy białek alergizujących, zarówno glutenowych jak i nie glutenowych. Nie została w sposób jednoznaczny wyjaśniona rola glutenin w rozwoju choroby zarówno tych

o niskiej, jak i o wysokiej masie cząsteczkowej (Anderson i Wieser, 2006). Zdania na ten temat są podzielone. Wiadomo natomiast, że w niektórych przypadkach bardzo silnymi alergenami są albuminy i globuliny (Ikezawa i in., 1994). Jest to obszerne zagadnienie i problem, który powinien być rozwiązany na drodze do wytworzenia hipoalergiczných genotypów pszenicy.

Niemniej jednak stwierdzenie różnic odmianowych i gatunkowych pod względem immunoreaktywności gliadyn oznacza, iż metody stosowane w genetyce i hodowli roślin, nawet te najbardziej tradycyjne, oparte na krzyżowaniach i selekcji, wspomagane testami biochemicznymi oraz klinicznymi, mogą odegrać kluczową rolę w procesie ograniczania lub eliminacji niekorzystnych, toksycznych cech białek zapasowych pszenicy.

LITERATURA

- Bürk K., Melms A., Schulz J. B., Dichgans J., Effectiveness of Intravenous Immoglobulin therapy in cerebellar ataxia associated with gluten sensitivity. *Ann. Neurol.*, 2001, 50 (6), 827 — 828.
- Brown T. A. 2001. *Genomy*. Wydawnictwa Naukowe PWN. Warszawa: 85 — 110.
- Buchanan B., Adamidi C., Lozano R. M., Yee B. C., Momma M., Kobrehel K., Ermel R., Frick O. L. 1997. Thioredoxin-linked mitigation of allergic responses to wheat. *Proc. Natl. Acad. Sci.* Vol 94: 5372 — 5377.
- Buchanan B., Kobrehel K., Yee B. C., Lozano R., Frick O. L., Ermel R. 2001. Neutralization of food allergens by thioredoxin. U.S. patent No. 6,190,723 B1.
- Czerwionka-Szaflarska M., Muller L. 2001. Alergiczne podłoże chorób przewodu pokarmowego. *Ter. i Lek* 51 (4): 15 — 18.
- De Ritis G., Auricchio G., Jones H. H., Lew E. J. L., Bernardin J. E., Kasarda D. D., *In vitro* (organ culture) studies of the toxicity of specific A-gliadin peptides in celiac disease. *Gastroenterology*, 1988, 94, 41 — 49.
- Green P.H.R., Jabri B. 2003. Celiac disease. *Lancet* Vol. 362: 383 — 391.
- Ikezawa Z., Tsubaki K., Yokota S. 1994. Effect of hypoallergenic wheat (HAW-A1) on atopic dermatitis (AD) with wheat allergy, and its antigenic analysis using sera from patients with AD. *Acta Derm. Venerol.* 43(6):679 — 688.
- Joint FAO/WHO Food Standards Programme. Codex Alimentarius Commission. Codex Stan, 1981: 118.
- Kasarda D. D. 1994. Toxic cereal grains in celiac disease. Conleth Feighery and Cliona O'Farrelly Editors, *Proceedings of the Sixth International Symposium on Celiac Disease held at Trinity College, Dublin in July 1992*: 203 — 220.
- Kobrehel K., Wong J. H., Balogh K., Kiss E., Yee B. C., Buchanan B. B. 1992. Specific reduction of wheat storage proteins by thioredoxin h. *Plant Physiol.* 99: 919 — 924.
- Kuipers A. G. J., Jacobsen E., Visser G. F. 1997. Applications of antisense technology in plants. *in: Antisense technology: a practical approach*. Lichtenstein C., Nellen W. (eds.) IRL Press at Oxford University Press: 191 — 219.
- Mc Mowat A. 2003. Coeliac disease — a meeting point for genetics, immunology and protein chemistry. *Lancet*, Vol. 361: 1290 — 1292.
- Palosuo K., Varionen E., Kekki O. M., Klemola T., Kalkkinen N., Alenius H., Reunala T. 2001. Wheat ω -5 gliadin is a major allergen in children with immediate allergy to ingested wheat. *J. Allergy Clin. Immunol.* Vol.108, No.4:634 — 638.
- Rujner J. 1993. Celiakia — postacie kliniczne i rozpoznawanie. *Klinika*, Vol. 2, No. 4 (8): 24 — 26.
- Shou-Wang Q., Bergseng E., Molberg Q., Jung G., Fleckenstein B., Sollid L. M. 2005. Refining the rules of gliadin T cell epitope binding to the disease-associated DQ-2 molecule in coeliac disease: importance of proline spacing and glutamine deamidation. *J. Immunol.* 175: 254 — 261.
- Wong J. H., Kobrehel K., Nimbona C., Yee B. C., Balogh A., Kiss F., Buchanan B. B. 1993. Thioredoxin and bread wheat. *Cereal Chem.* Vol. 70, No. 1: 113 — 114.

- Vissers M., Doekes G., Heederik D. 2001. Exposure to wheat allergen and fungal α -amylase in the homes of bakers. *Clin. Exp. Allergy* Vol. 31: 1577 — 1582.
- Zwolińska-Wcisło M., Galicka-Latała D. 2004. Celiakia u dorosłych: rozpoznanie, obraz kliniczny, leczenie. *Alergologia, Immunologia*. 2, 2/3: 44 — 47.

KATARZYNA PANKIEWICZ**TADEUSZ ADAMSKI****ZYGMUNT KACZMAREK****MARIA SURMA****MICHAŁ RĘBARZ**

Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu

Molekularne i fenotypowe różnicowanie odmian i linii podwojonych haploidów pszenicy (*Triticum aestivum* L.)

Molecular and phenotypic differentiation of wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties and their doubled haploid lines

Celem badań było stwierdzenie, czy odmiany pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum* L.) uprawiane w Polsce, są homogenne pod względem genetycznym. Badanie jednorodności odmian prowadzono poprzez porównanie linii podwojonych haploidów z odmianami wyjściowymi pod względem fenotypowym i molekularnym. Analizowano 7 odmian pszenicy ozimej (Batis, Changer, Elena, Kobra, Kornett, Kris i Mikon) oraz uzyskane z nich linie podwojonych haploidów (DH). Polimorfizm DNA u badanych form określono metodą RAPD-PCR dla 20 10-nukleotydowych starterów. Uzyskano 145 produktów amplifikacji, z których 107 było polimorficznych. Ponadto dokonano porównania linii DH z odmianami wyjściowymi pod względem wybranych cech morfologicznych. Żadna z badanych odmian nie była homogenna, przy czym najbardziej zróżnicowanymi odmianami zarówno pod względem genetycznym, jak i fenotypowym okazały się Kobra, Elena.

Słowa kluczowe: fenotyp, podobieństwo genetyczne, pszenica, RAPD

The aim of this study was to examine homogeneity of several wheat varieties (*Triticum aestivum* L.) cultivated in Poland. RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) polymorphism was studied in seven wheat cultivars: Batis, Changer, Elena, Kobra, Kornett, Kris and Mikon, and doubled haploid (DH) lines derived from them. Twenty decamer primers were used. Totally, 145 amplification products were observed 107 ones were polymorphic. Genetic similarity between each variety and its DH lines was estimated. Besides, the phenotypic differences between DHs and their initial varieties were examined in respect of yield-related traits. The results indicated that none of the studied varieties was homogenous. The most differentiated varieties appeared to be Kobra and Elena.

Key words: genetic similarity, Mahalanobis distance, phenotype, RAPD, wheat varieties

WSTĘP

Odmiany roślin uprawnych są sprawdzane i rejestrowane przez Centralny Ośrodek Badania Odmian Roślin Uprawnych (COBORU). Decyzje o wpisaniu odmiany do rejestru odmian Ośrodek podejmuje na podstawie badań OWT (odrębności, wyrównania, trwałości). Dla roślin samopylnych granice tolerancji dla wyrównania odmian są mniej rygorystyczne, niż dla odmian rozmnażanych wegetatywnie. W ocenie wyrównania pszenicy dopuszcza się istnienie mieszczącej się w pewnych granicach niejednorodności, zwłaszcza w przypadku cech uwarunkowanych wieloma genami, do których należy większość cech agronomicznych, między innymi masa tysiąca ziaren, plon, wysokość roślin, wielkość kłosa. Tym samym zakłada się możliwość istnienia zróżnicowania genetycznego roślin w obrębie badanej odmiany.

Celem badań było stwierdzenie, czy odmiany pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum* L.) uprawiane w Polsce, są homogenne pod względem genetycznym i fenotypowym. Informacje te mogą być pomocne w doborze form rodzicielskich przeznaczonych zarówno do badań naukowych, jak i prac hodowlanych. Przyjęto założenie, że w przypadku odmian jednorodnych wyprowadzone z nich linie podwojonych haploidów (DH) nie powinny się istotnie różnić od form wyjściowych zarówno pod względem wybranych cech fenotypowych, jak i na poziomie DNA. Linie DH jako formy całkowicie homozygotyczne stanowią dobry materiał do badań genetycznych, w szczególności do analizy cech ilościowych, z uwagi na możliwość powtarzania obserwacji dla poszczególnych genotypów, a tym samym zwiększenia precyzji eksperymentu. Linie DH pszenicy otrzymuje się między innymi poprzez krzyżowanie z kukurydzą. Metoda ta została opisana roku 1986 przez Laurie i Bennet. Obecnie jest ona z powodzeniem stosowana w produkcji podwojonych haploidów pszenicy na skalę komercyjną. Badania dotyczące zróżnicowania genetycznego odmian prowadzono z wykorzystaniem metody opartej na polimorfizmie losowo amplifikowanych fragmentów DNA (RAPD). Metoda ta została opracowana przez Williamsa i wsp. w 1990 roku. Znalazła szerokie zastosowanie, między innymi w badaniach ewolucyjnych, w identyfikacji odmian, przy badaniu sprzężeń markerów z cechami użytkowymi oraz do oceny podobieństwa genetycznego (Devos i Gale, 1992; Joshi i Nguyen, 1993; Kato i in., 2000; Kuczyńska i in., 2003; Chen, 2004).

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiło 7 odmian pszenicy ozimej: Batis, Changer, Elena, Kobra, Kornett, Kris i Mikon. Z każdej odmiany wyprowadzono 10 linii podwojonych haploidów metodą krzyżowania pszenicy z kukurydzą (Wędzony, 2003). Zarówno odmiany wyjściowe pszenicy, jak i linie DH badano na polu doświadczalnym w Cerekwicy stosując standardowe warunki uprawy i nawożenia. Nasiona wysiewano na poletkach o powierzchni 2 m² w rozstawie 10 × 3 cm (około 330 nasion na m²), w układzie bloków losowanych kompletnych w trzech powtórzeniach. Na podstawie 50 losowo wybranych roślin z każdego poletka określano: długość kłosa, liczbę i masę ziarna z kłosa, masę tysiąca ziaren, wysokość roślin oraz plon z poletka. Ocenę zróżnicowania linii DH

pochodzących z tej samej odmiany pod względem analizowanych cech struktury plonu przeprowadzono stosując wielowymiarowe metody statystyczne (Morrison, 1976). Podstawą tych metod jest ogólny model obserwacji wielocechowych i oparta na nim wielozmienna analiza wariancji MANOVA (Caliński i Kaczmarek, 1973). Jako miarę wielowymiarowego podobieństwa badanych linii DH przyjęto odległości Mahalanobisa.

Analizę polimorfizmu DNA odmian i linii DH przeprowadzono z użyciem markerów RAPD na ośmiu losowo wybranych roślinach. DNA izolowano z 15-dniowych siewek metodą krążkową (Thompson i Henry, 1995) z modyfikacjami. Z każdej rośliny wycinano pięć krążków liściowych o powierzchni 2 mm², a następnie umieszczano w buforze TPS na 15 minut w temperaturze 95°C. Reakcje RAPD-PCR przeprowadzano przy użyciu dziesięcionukleotydowych starterów według następującego schematu: 93°C przez 30 s, 40 cykli: 93°C — 60 s, 36°C — 60 s i 72°C — 90 s, a następnie 90 s w 72°C. Produkty amplifikacji rozdzielano w 1,5% żelu agarozowym zawierającym bromek etydyny w stężeniu 0,5 mg/L przy napięciu 110 V przez 100 minut. Obecność produktu amplifikacji oznaczono symbolem 1, a jego brak symbolem 0. Wyniki analizowane były przy użyciu programu UVIMAP w funkcji Nei i Li (1979).

WYNIKI I DYSKUSJA

Badanie zróżnicowania fenotypowego wewnątrz odmian prowadzono poprzez porównanie linii DH z odmianą wyjściową. W tabeli 1 zamieszczono średnie wartości cech struktury plonu dla badanych odmian oraz zakres wartości tych cech u wyprowadzonych z każdej odmiany linii DH. Spośród analizowanych cech największe zróżnicowanie stwierdzono w odniesieniu do wysokości roślin oraz masy 1000 ziaren. Porównanie linii DH z odmianą wyjściową pod względem wszystkich cech łącznie (odległości Mahalanobisa), zakres i wartości statystyki F dla różnic między odmianą wyjściową a liniami DH, jak również procent linii DH istotnie różniący się od odmiany wyjściowej przedstawiono w tabeli 2. Jak można zauważyć, istotne różnice między liniami DH a formą wyjściową wystąpiły w przypadku odmian Elena, Kobra Kornett i Kris. Wartości odległości Mahalanobisa oraz statystyki F dla porównań linii DH z ich odmianami wyjściowymi wskazują, że najbardziej zróżnicowane były odmiany Kobra i Elena. W przypadku odmian Changer, Batis i Mikon nie stwierdzono żadnej linii istotnie różniącej się od formy wyjściowej. Wskazuje to, że odmiany te są wyrównane pod względem fenotypowym.

Zróżnicowanie genetyczne badano techniką RAPD. Przy użyciu 20 starterów, wyselekcjonowanych na podstawie wcześniejszych badań (Rębarz i in., 2003) uzyskano 145 produktów amplifikacji, z których 107 (73,8%) było polimorficznych. Średnia liczba produktów amplifikacji uzyskanych przy użyciu jednego startera wynosiła 7,2, a średnia liczba polimorficznych produktów amplifikacji generowanych przez jeden starter — 5,3. Obserwowany stosunkowo wysoki stopień polimorfizmu był wynikiem kierunkowego doboru starterów. Podobną metodykę przyjął Marić i wsp. (2004), co pozwoliło autorom uzyskać 93,2% polimorficznych produktów amplifikacji.

Tabela 1

Średnie wartości badanych cech u odmian pszenicy oraz zakresy wartości cech u wyprowadzonych linii DH*
Mean values of the studied traits for wheat varieties and ranges of means for DH lines derived from the varieties*

Odmiana Variety	Długość kłosa Spike length (cm)	Liczba ziaren z kłosa Grain number per spike	Masa ziarna z kłosa Grain weight per spike (g)	Masa tysiąca ziaren 1000-grain weight (g)	Wysokość roślin Plant height (cm)	Plon ziarna z poletka Grain yield per plot (kg)
Batis	9,5	52,2	2,6	52,1	104,3	2,9
DH	9,4-10,4	50,1-56,3	2,6-3,0	52,1-55,5	99,7-105,7	2,9-3,0
Changer	7,8	54,6	2,5	45,2	70,0	2,6
DH	7,4-8,1	46,7-61,0	2,1-2,7	43,1-46,7	67,3-78,0	2,7-3,1
Elena	9,9	58,6	2,8	50,7	96,7	2,7
DH	8,2-11,0	54,4-64,1	2,5-3,2	45,7-50,7	82,0-94,7	2,3-3,0
Kobra	9,1	66,7	3,7	55,8	85,7	2,5
DH	8,0-9,1	44,1-66,7	2,3-3,7	48,2-60,0	78,0-107,0	2,3-2,8
Kornett	7,7	56,4	2,5	44,9	81,0	2,9
DH	7,3-8,1	52,3-59,9	2,4-2,6	43,3-48,5	77,3-85,3	2,5-3,1
Kris	7,8	48,7	2,2	50,5	77,7	2,8
DH	7,5-8,5	48,4-59,8	2,4-3,0	48,5-51,7	76,7-81,7	2,6-3,0
Mikon	9,6	46,7	2,3	51,1	100,0	2,5
DH	9,1-9,9	42,3-49,1	2,3-2,6	48,5-54,0	92,0-97,7	2,4-2,7

*Analizowano po 10 linii DH wyprowadzonych z każdej odmiany

*10 DH lines derived from each variety were analyzed

Tabela 2

Współczynniki podobieństwa fenotypowego i genetycznego linii DH wyprowadzonych z odmian pszenicy

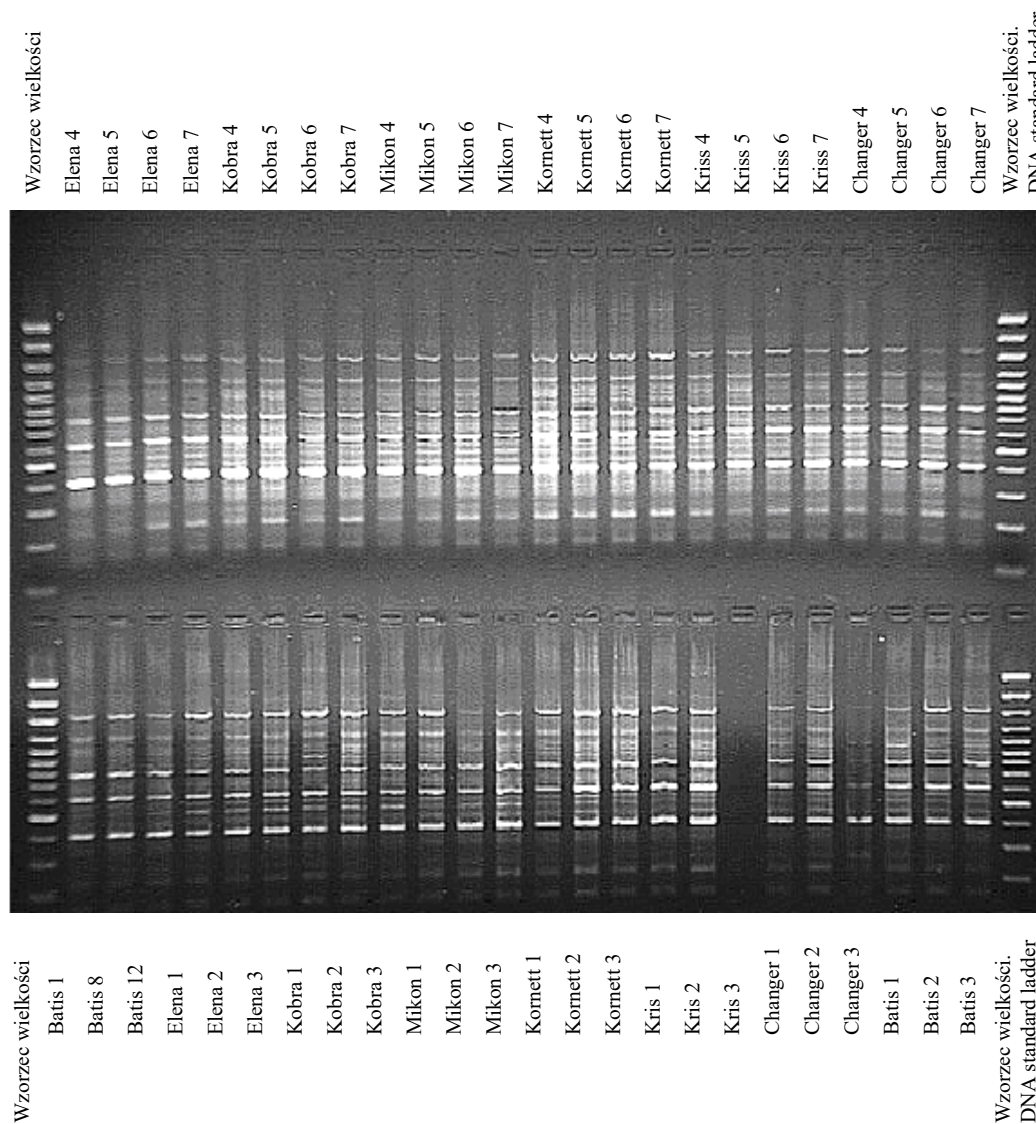
Phenotypic and genetic similarity coefficients of DH lines derived from wheat varieties

Odmiana Variety	Zakres odległości Mahalanobisa między odmianą wyjściową a liniami DH Range of Mahalanobis distance between varieties and DH lines	Zakres wartości statystyki F dla różnic między liniami DH a formą wyjściową Range of F value for differences between varieties and DH lines	Wartość krytyczna statystyki $F_{0,05}$ dla różnic między liniami DH a formą wyjściową Critical $F_{0,05}$ value for differences between varieties and DH lines	% linii DH istotnie różniących się od odmiany wyjściowej % DH lines significantly different from cultivar	Zakres współczynników podobieństwa genetycznego między odmianą wyjściową a liniami DH Range of genetic similarity coefficients between varieties and DH lines
Batis	1,92-4,31	0,21-1,86	4,95	0	0,76-0,91
Changer	0,72-4,02	0,43-1,55	2,79	0	0,80-0,91
Elena	1,77-12,96	0,05-19,34	3,37	43	0,76-0,91
Kobra	4,82-13,00	0,11-18,55	4,95	60	0,77-0,90
Kornett	0,96-4,54	2,64-4,88	2,79	70	0,79-0,92
Kris	1,28-4,58	2,36-4,88	2,79	80	0,81-0,95
Mikon	1,03-5,62	0,42-1,81	3,37	0	0,78-0,92

Na rysunku 1 pokazano przykładowy obraz rozdziału zamplifikowanych fragmentów DNA dla startera 5'-GGTGATCAGG-3'.

Zakres współczynników podobieństwa genetycznego badanych form zamieszczono w tabeli 2. Można zauważyć, że badane rodziny linii DH pochodzące z różnych odmian

odznaczały się podobnym polimorfizmem DNA. Różnice w zakresie wartości współczynników podobieństwa genetycznego między liniami o tym samym pochodzeniu wynosiły od 0,11 do 0,15. Współczynniki podobieństwa genetycznego między liniami tej samej odmiany najmniej zróżnicowane były w przypadku odm. Changer (0,80–0,91), największe natomiast u odmian Batis i Elena (0,76–0,91).



Rys. 1. Wyniki rozdziału fragmentów RAPD dla badanych odmian pszenicy i ich linii DH dla startera GGTGATCAGG

Fig. 1. Results of RAPD analysis for the studied wheat cultivars with the primer GGTGATCAGG

Z definicji markerów RAPD wynika, iż obserwowana zmienność genetyczna nie musi iść w parze ze zmiennością fenotypową. Stąd też zastosowano w pracy dwa podejścia: badanie zróżnicowania na poziomie fenotypowym i genotypowym. Miarą zróżnicowania linii DH na poziomie molekularnym są obliczone współczynniki podobieństwa genetycznego. Odpowiednikiem tej oceny, przeprowadzonej na podstawie zróżnicowania fenotypowego linii DH z uwzględnieniem wszystkich cech łącznie, są odległości Mahalanobisa. Oszacowanie w pracy obu tych parametrów pozwoliło na porównanie występującej u badanych form zmienności fenotypowej i genetycznej na podstawie oszacowanego dla każdego z tych podejść jednego parametru.

Obserwowany polimorfizm genetyczny u linii DH pochodzących z jednej odmiany, jak i ich zróżnicowanie pod względem badanych cech morfologicznych może wskazywać na wieloliniowość badanych odmian. Stwierdzony w pracy brak istotnego zróżnicowania fenotypowego wewnątrz danej odmiany przy jednocześnie występującym zróżnicowaniu genetycznym (np. odm. Batis) może być wynikiem starannie przeprowadzanej selekcji hodowlanej pod względem wybranej grupy cech.

W hodowli pszenic jakościowych szczególną uwagę zwraca się na wyrównanie odmian pod względem składu podjednostek gluteninowych. Homozygotyczność większości uprawianych na świecie odmian pod względem tej cechy sprawia, że na podstawie występowania określonych podjednostek gluteninowych w ziarnie dokonuje się identyfikacji odmian. Nie oznacza to jednak, że odmiany te są jednoliniowe. Pewność co pełnej homogenności danej odmiany można mieć tylko w przypadku, gdy została wyprowadzona z jednej linii DH lub daleko zaawansowaną techniką pojedynczego ziarna (SSD — single-seed descent).

WNIOSKI

1. Wszystkie badane odmiany pszenicy ozimej, to jest Batis, Changer, Elena, Kobra, Kornett, Kris i Mikon, są zróżnicowane pod względem genetycznym.
2. Odmianami najbardziej wyrównanymi w odniesieniu do badanych cech agronomicznych były Batis, Changer i Mikon.
3. Brak występowania zróżnicowania wewnątrz-odmianowego pod względem cech struktury plonu może być wynikiem starannie prowadzonej selekcji. Nie oznacza to, iż badana odmiana jest jednoliniowa.

LITERATURA

- Caliński T., Kaczmarek Z. 1973. Metody kompleksowej analizy doświadczenia wielocechowego. Trzecie Colloquium Metodologiczne z Agrobiometrii, PAN i PTB Warszawa 258 — 320.
- Chen X. H., Niu Y. C., Hu B. Z. 2004. Identification of RAPD markers linked to the resistance gene Yr5 against wheat stripe rust with denaturing PAGE-silver staining. Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing, China.
- Devos K. M., Gale M. D. 1992. The use of random amplified polymorphic DNA markers in wheat. *Theor Appl Genet* 84:567 — 572.
- Joshi Ch. P., Nguyen H. T. 1993. Application of the random amplified polymorphic DNA techniques for the detection of polymorphism among wild and cultivated tetraploid wheats. *Genome* 36: 602 — 609.

- Kato K., Miura H., Sawada S. 2000. Mapping QTLs controlling grain yield and its components on chromosome 5A of wheat. *Theor. Appl. Genet.* 101: 1114 — 1121.
- Kuczyńska A., Bocianowski J., Masojć P., Surma M., Adamski T. 2003. Zastosowanie markerów RAPD do określania podobieństwa genetycznego odmian jęczmienia ozimego (*Hordeum vulgare* L.). *Biul. IHAR* 226/227: 81 — 85.
- Laurie D. A., Bennett M. D. 1986. Wheat × maize hybridization. *Can. J. Genet. Cytol.* 28: 313 — 316.
- Marić S., Bolarić S., Martinčić J., Pejić I., Kozumplik V. 2004. Genetic diversity of hexaploid wheat cultivars estimated by RAPD markers, morphological traits and coefficients of parentage. *Plant Breeding* 123 (4): 366 — 369.
- Morrison D. F. 1976. *Multivariate Statistical Methods*. McGraw-Hill; New York.
- Rębarz M., Kuczyńska A., Krystkowiak K., Bocianowski J., Adamski T., Surma M. 2003. Intra- and intervarietal polymorphism in wheat detected by RAPD primers. In: *Application of novel cytogenetic and molecular techniques in genetics and breeding of the grasses. PAGEN Series Vol. 1*. Eds.: Zwierzykowski Z., Surma M., Kachlicki P. Institute of Plant Genetics PAN, Poznań: 143 — 149.
- Nei M., Li W. H. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction end nucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1979 October; 76 (10): 5269–5273.
- Thomson D. Henry R. 1995 Single-Step Protocol for Preparation of plant tissue for analysis by PCR *BioTechniques* Vol. 19, No. 3: 394 — 400.
- Wędzony M. 2003. Protocol for doubled haploid production in hexaploid Triticale (*Triticosecale* Wittm.) by crossing it with maize. In: *Doubled haploid production in crop plants. A manual*. Eds: M. Maluszynski, K. J. Kasha, B. P. Forster, I. Szalejko. Kluwer Academic Publishers Dordrecht/ Boston/ London: 129 — 134.
- Williams J. G. K., Kubelik A. R., Livak K. J., Rafalski J. A., Tingey S. V. 1990. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acid Research* 18 (22): 6531 — 6535.

PRZEMYSŁAW MATYSIK**ZYGMUNT NITA****EWELINA MATYSIK**

Hodowla Roślin Strzelce Sp. z o.o. Grupa IHAR, Zakład Główny w Strzelcach

Skuteczność kryteriów selekcji pszenicy ozimej w pokoleniu F₄ na podstawie komponentów plonu

Effectiveness of selection criteria applied in F₄ progeny of winter wheat on the basis of yield components

Przedstawiono schemat hodowli pszenicy ozimej stosowany w latach 1992–1999 w Strzelcach dzisiejszej Hodowli Roślin Strzelce Sp. z o.o. Grupa IHAR. W ujęciu historycznym, pod względem cech struktury plonu, w programie hodowlanym pszenicy ozimej w Strzelcach wykorzystywano masę ziaren z kłosa i liczbę ziaren z kłosa jako marker selekcyjny wyboru odpowiednich pojedynków w pokoleniu F₄. Dla rozważań punktem wyjściowym było określenie 61 zawansowanych rodów hodowlanych pochodzących z doświadczenia międzyzakładowego z sezonu 1994/1995. Następnie ustalenie rodowodu wybranych linii od pokolenia F₄ (1991/1992) do doświadczeń wstępnych (1996/1997 i 1997/1998). Masa ziaren z kłosa (MZK) w wyjściowym pokoleniu F₄ wahała się od 2,1 do 3,4 grama, natomiast liczba ziaren z kłosa (LZK) od 39 do 60. Zakres MTZ oszacowanej z pojedynków wyniósł od 39 do 71 gram. Najmniejsze zróżnicowanie w oparciu o współczynnik zmienności wykazano dla MTZ (masy tysiąca ziaren), a większe dla MZK i LZK. Pokazano także poziom plonowania wybranych rodów na różnych etapach doświadczeń hodowlanych w odniesieniu do obowiązujących wzorców. Określono korelacje pomiędzy poziomem plonowania a cechami struktury plonu (MZK, LZK, MTZ) określonymi w pokoleniu F₄. Najwyższą korelację zaobserwowano pomiędzy LZK a MZK, niższe dla MTZ i MZK. Wartości współczynnika korelacji pomiędzy plonem określonym w doświadczeniach a cechami struktury plonu były różne w zależności od sezonu wegetacyjnego. Celem pracy było określenie skuteczności selekcji na podstawie wybranych cech struktury plonu, masy ziarna z kłosa (MZK) i liczby ziaren z kłosa (LZK) oraz masy tysiąca ziaren (MTZ) oznaczonych w pojedynkach F₄ dla wybranych linii hodowlanych w doświadczeniach w latach 1994–1998. Należy wyjaśnić, czy ww. parametry są wystarczające do dokonania selekcji w kierunku potencjału plonotwórczego. Warto zaznaczyć, że w tym okresie wyhodowano 4 odmiany pszenicy ozimej, które zarejestrowano w 1999–Zyta i 2001 — Sukces, Tonacja, Nutka.

Słowa kluczowe: cechy struktury plonu, hodowla twórcza, plon, pszenica ozima

Winter wheat breeding scheme applied in the Strzelce plant breeding station (current: Hodowla Roślin Strzelce) in the years 1992–1999 has been described. During this period, weight and number of kernels per spike were used as selection criteria in the F₄ generation. Assessment of effectiveness of

this selection was the main purpose of the study. Starting point for the elaboration was choice of 61 advanced breeding lines from the inter-station trials of the years 1994 and 1995, followed by tracing them back to the F₄ generation (1991–1992) and tracing forth to the pre-registration two-steps experiments. In the initial generation (F₄), kernels weight per spike (KWS) varied from 2.1 to 3.4 g and number of kernels per spike (KNS) ranged from 39 to 60. Thousand kernels weight (TKW) extreme values were 39 and 71 g. The lowest variation, expressed as the variation coefficient, was recorded for the TKW. Yielding of the selected strains is also presented, in relation to the obligatory standards. Correlation coefficients between yield level and the studied indices have been calculated, as well as those between the indices, for the most successful cross combination C9. The highest correlation was recorded between the KNS and KWS, lower for the TKW and KNS. Values of correlation coefficients between the yields in trials and the analyzed yield components differed depending on a vegetation season. It is worth to emphasize, that we bred from this material four winter wheat cultivars: Zyta (registered in 1999), Sukces, Tonacja and Nutka (registered in 2001).

Key words: breeding, winter wheat, yield components, yield

WSTĘP

Głównym celem praktycznej hodowli roślin jest otrzymanie odmiany o jak najlepszych cechach użytkowych, zależnych od kierunku wykorzystania, odpornej na możliwie szeroką grupę patogenów, a także niekorzystnych czynników abiotycznych i co najważniejsze o jak największym potencjale plonotwórczym. Potencjał plonotwórczy pszenicy jest zwykle definiowany jako plon ziarna w warunkach, gdy rośliny nie cierpią z powodu braku wody czy składników odżywczych, nie ma żadnych ograniczeń wynikających z występowania chorób, szkodników, chwastów czy wylegania.

Plon rolniczy w około 70% zależy od właściwości odmiany, a na pozostałe 30% składają się takie czynniki jak nawożenie, ochrona, gleba, klimat, technologia uprawy (). Wzrost plonów ziarna można osiągnąć głównie poprzez zwiększenie wartości jego bezpośrednich komponentów tzw. elementów struktury plonu. Są to: liczba kłosów z rośliny lub z jednostki powierzchni, liczba ziarniaków w kłosie oraz wynikająca z tego liczba ziarniaków na metr kwadratowy, waga ziarniaków z kłosa oraz masa 1000 ziarniaków (MTZ). Jak wiadomo o skuteczności selekcji w pracach hodowlanych decyduje odziedziczalność cechy, tj. im wyższy współczynnik odziedziczalności, tym skuteczniejsza selekcja w kierunku ustabilizowania danej cechy.

Hodowla w celu podwyższenia potencjału plonowania jest koniecznym, aczkolwiek niewystarczającym, warunkiem u pszenicy, aby osiągnąć lepsze plony na plantacjach rolników w dużo mniej korzystnych warunkach wzrostu, gdzie niedostatek wody czy azotu może zredukować plon do 30% potencjału plonotwórczego (Reynolds, 2001).

Aby osiągnąć wyznaczone cele w procesie hodowlanym wykorzystuje się kilka metod. Wybór metody zależy od natury wybranej cechy, jej odziedziczalności i obszaru zmienności genetycznej dostępnej w materiałach krzyżówkowych.

Stacja hodowli roślin w Strzelcach w swoim programie hodowlanym pszenicy ozimej na przestrzeni ponad 60 lat wykorzystuje metodę rodowodową z kilkoma modyfikacjami. Wymiernym efektem tej pracy było wyhodowanie kilku znaczących odmian pszenicy ozimej: 1995 — Elena, 1996 — Sakwa, 1999 — Soraja, 1999 — Zyta, 2001 — Sukces, Tonacja, Nutka, 2003 — Rywalka, 2004 — Fregata, 2006 — Ostka Strzelecka.

Celem pracy było określenie skuteczności selekcji na podstawie wybranych cech struktury plonu — masy ziarna z kłosa (MZK) i liczby ziaren z kłosa (LZK) oraz masy tysiąca ziaren (MTZ) oznaczonych w pojedynkach F_4 dla wybranych linii hodowlanych w doświadczeniach na przestrzeni lat 1994–1998, ponadto znalezienie odpowiedzi czy na podstawie wyżej wymienionych parametrów można dokonywać selekcji w kierunku potencjału plonotwórczego.

MATERIAŁ I METODY

Rozpatrywana populacja pszenicy ozimej pokolenia F_4 była zasiana w siewie punktowym na poletkach o powierzchni 5 m^2 w sezonie 1991–1992 w Strzelcach. Nasiona pokolenia F_3 pochodziły ze zbioru tzw. kęp (tzn. wysadzony kłos bez omłotu), które zostały wyselekcjonowane po ocenie zdrowotności, pokroju, masy zebranej kępy oraz wypełnienia ziarna. W okresie wegetacji poletka pokolenia F_4 zostały poddane ocenie na występowanie chorób grzybowych, odrzucono rodziny najbardziej porażone. W okresie zbioru wybierano pojedynki na podstawie pokroju rośliny i kłosa, stopnia rozkrzewienia oraz wyrównania. Z zaznaczonych pojedynków zbierano 10 najdorodniejszych kłosów. Masę i liczbę ziarna z kłosa określano poprzez ważenie i policzenie wymłóconego ziarna z wybranego pojedynka, uzyskany wynik dzielono przez liczbę zebranych kłosów. Masę tysiąca ziaren wyliczono na podstawie masy i liczby ziarna z pojedynka.

Dla oceny kryteriów selekcyjnych punktem wyjściowym było wytypowanie plennych, zaawansowanych rodów hodowlanych pochodzących z doświadczenia międzyzakładowego z sezonu 1994–1995. Następnie znalezienie rodowodu wybranych linii od pokolenia F_4 (1991–1992) poprzez F_5 (675 wybranych linii), MZ (61), DP (16) do doświadczeń wstępnych z lat 1996–1997 i 1997–1998 (8 rodów). Kombinacje krzyżówkowe rodów wybranych do pracy zamieszczono w tabeli 1.

Określono rozstęp, średnie ($\bar{x}$), odchylenie standardowe (S) oraz współczynnik zmienności (V) dla masy i liczby ziaren z kłosa oraz masy tysiąca ziaren ocenionych w pokoleniu F_4 w obrębie danych kombinacji krzyżówkowych. Prześledzono także dalsze zmiany tych parametrów w miarę ograniczania liczebności określonej populacji w dalszych etapach hodowlanych. Dla wybranych 5 najplenniejszych rodów pochodzących z najliczniej reprezentowanej kombinacji krzyżówkowej C9 — (Jubilatka $\times$ SMH 2182) obliczono współczynniki korelacji między plonem (średni plon określony w doświadczeniach międzyzakładowych 7 miejscowości — 1 powtórzenie 1994–1995, przedwstępnych 8 miejscowości 4 powtórzenia 1995/1996 i doświadczeń wstępnych 1996–1997 i 1997–1998 — 14 punktów — 4 powtórzenia) a masą ziaren z kłosa (MZK), liczbą ziarna z kłosa (LZK) oraz masą tysiąca ziaren (MTZ). Ponadto dla tych samych genotypów określono współczynniki korelacji pomiędzy rozpatrywanymi komponentami plonu w różnych etapach hodowli (tab. 6).

Tabela 1

Pochodzenie populacji z pokolenia F₄ wybranych do dalszych etapów hodowli
Origin of the F₄ populations chosen for the further breeding stages

Populacja Population	Krzyżówka Cross
C1	CHD 508 × STH 279
C2	(STH 1621 × Almari) × (STH 1663 × LAD4)
C3	NS 79235 × Arina
C4	NS 76027 × STH 1109
C5	STH 71 × POB 11068/80
C6	(STH 1621 × SMH 1833) × Miras
C7	OLH 2916 × STH 338
C8	Jubilatka × Obelisk
C9	Jubilatka × SMH 2182
C10	(NS 76027 × Arkos) × (CWW 3615 × OLH 3014)
C11	OLH 2916 × SMH 2020
C12	STH 224 × CHD 508
C13	SOD 179/84 × STH 208
C14	TAW 21819 × M. Marksman
C15	MIB 286 × TAW 112651/81
C16	(STH 1663 × SMH 2033) × (STH 1623 × AND 363)
C17	NS79207 × STH 286
C18	(WW 1499 × Obelisk) × (STH 1663 × FI 7)
C19	(STH 1663 × SMH 1769) × (STH 1663 × STH 279)
C20	STH 1663 × Miras
C21	STH 16 × Kazacka
C22	OLH 2926 × Obelisk
C23	[(J.50 × M.H.) × (Mamut × Gr) × M.H.] × P61-48
C24	STH 1623 × OLH 17267
C25	[STH 1623 × (M.Ploug. × STH 826)]
C26	STH 1262 × SMH 1320
C27	(M.Marksman × Jawa) × [(STH 47×CHD 756) ×TAW 21100]

WYNIKI I DYSKUSJA

Ocenę masy ziarna z kłosa (MZK) przedstawiono w tabeli 2, liczby ziarna z kłosa (LZK) w tabeli 3 oraz masy tysiąca ziaren (MTZ) w tabeli 4. Cechy: MZK, LZK i MTZ określono z pojedynków w pokoleniu F₄. W tabelach 2, 3, 4 zamieszczono również te same parametry statystyczne, co w dalszych etapach hodowli w doświadczeniach międzyzakładowych (MZ), przedwstępnych (DP) i wstępnych (DW).

Nasze rozważania celowe są przy założeniu wysokiej odziedziczalności badanych cech. Wartość odziedziczalności dla masy ziaren z kłosa w ujęciu literaturowym jest zróżnicowana. Wysokie wartości odziedziczalności w szerokim sensie otrzymali w pokoleniu F₂ (88,4%–91,0%) Kumbhar i Larik (1989) oraz Lonc i wsp. (1989) (82,0%). Podobne wyniki dla masy ziarna z kłosa (0,79 i 0,73) otrzymali Goldringer i wsp. (1997) oraz Nawracała i wsp. (2004). Natomiast niski współczynnik odziedziczalności dla tej cechy (20,7%) uzyskał Jedyński (1987). Liczba ziaren w kłosie charakteryzuje się dość wysoką odziedziczalnością w szerokim sensie i niską w wąskim sensie, odpowiednio (0,87 i 0,71) i (0,25 i 0,28) (Nawracała, 2004).

Tabela 2

Zmiany wartości wskaźników statystycznych masy ziarna z kłosa (MZK) w obrębie populacji mieszańcowej pokolenia F₄ i kolejnych latach procesu hodowlanego

Changes of statistical indicators values of grain weight per ear within the cross population in F₄ and following generations of breeding process

Populacja Population	Doświadczenia Trials																							
	F ₄						międzyzakładowe inter-stations						przedwstępne pre-registration I						wstępne pre-registration II					
	I.	min.	maks.	$\bar{x}$	S	V	I.	min.	maks.	$\bar{x}$	S	V	I.	min.	maks.	$\bar{x}$	S	V	I.	min.	maks.	$\bar{x}$	S	V
C1	4	2,5	3,8	3,1	0,60	0,18	2	2,5	3,8	3,2	0,91	0,29	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C2	8	1,6	2,8	2,3	0,40	0,18	2	1,6	2,4	2,0	0,56	0,28	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C3	36	1,8	3,1	2,5	0,34	0,13	1	3,0	3,0	3,0	0	0	1	3,0	3,0	3,0	0	0	0	—	—	—	—	—
C4	29	1,6	3,2	2,3	0,47	0,20	4	1,7	2,2	2,0	0,20	0,10	2	2,0	2,2	2,1	0,14	0,07	1*	2,0	2,0	2,0	0	0
C5	77	2	3,4	2,7	0,38	0,14	4	2,1	2,6	2,4	0,22	0,09	1	2,6	2,6	2,6	0	0	0	—	—	—	—	—
C6	46	1,9	3,6	2,8	0,43	0,15	5	2,5	3,0	2,8	0,19	0,06	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C7	73	2,0	3,4	2,4	0,34	0,14	4	2,5	2,6	2,6	0,06	0,02	1	2,5	2,5	2,5	0	0	1**	2,5	2,5	2,5	0	0
C8	53	1,7	3,8	2,6	0,57	0,22	2	2,0	2,4	2,2	0,28	0,13	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C9	83	1,7	3,6	2,6	0,46	0,17	11	2,2	3,6	2,7	0,42	0,15	7	2,2	3,6	2,7	0,38	0,13	5***	2,5	3,6	2,9	0,43	0,15
C10	50	1,9	3,6	2,6	0,38	0,14	2	2,8	3,3	3,1	0,35	0,12	1	2,8	2,8	2,8	0	0	1****	2,8	2,8	2,8	0	0
C11	4	2,0	2,1	2,1	0,05	0,02	1	2,0	2,0	2,0	0	0	1	2,0	2,0	2,0	0	0	0	—	—	—	—	—
C12	17	1,9	2,9	2,5	0,31	0,12	1	2,6	2,6	2,6	0	0	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C13	1	3,4	3,4	3,4	0	0	1	3,4	3,4	3,4	0	0	1	3,4	3,4	3,4	0	0	0	—	—	—	—	—
C14	8	2,1	3,3	2,5	0,43	0,17	1	3,3	3,3	3,3	0	0	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C15	4	2,3	2,8	2,5	0,22	0,08	2	2,4	2,8	2,6	0,28	0,11	1	2,4	2,4	2,4	0	0	0	—	—	—	—	—
C16	9	1,8	2,6	2,2	0,26	0,11	1	2,0	2,0	2,0	0	0	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C17	6	1,9	3,1	2,6	0,43	0,16	1	3,1	3,1	3,1	0	0	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C18	15	2,2	3,6	2,8	0,45	0,16	1	2,2	2,2	2,2	0	0	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C19	33	2,0	3,9	3,0	0,43	0,14	2	2,0	2,9	2,5	0,64	0,26	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C20	31	2,3	4,2	2,9	0,47	0,16	1	2,5	2,5	2,5	0	0	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C21	20	2,7	4,3	3,3	0,46	0,14	3	3,0	3,8	3,5	0,42	0,12	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C22	18	1,7	3,3	2,3	0,49	0,21	2	2,6	2,6	2,6	0,00	0,00	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C23	5	1,8	3,2	2,5	0,60	0,24	1	2,5	2,5	2,5	0	0	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C24	9	2,5	2,6	2,6	0,08	0,03	2	2,5	2,6	2,6	0,07	0,03	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C25	5	1,7	2,6	2,2	0,39	0,18	1	2,2	2,2	2,2	0	0	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C26	25	2,6	3,2	2,8	0,22	0,08	2	2,7	2,8	2,8	0,07	0,03	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C27	6	2,5	3,2	2,7	0,30	0,11	1	2,5	2,5	2,5	0	0	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
Suma Total	675						61						16						8					

I. — ilość linii; No. of strains

S — Odchylenie standardowe; Standard deviations

V — Współczynnik zmienności; Variability coefficient

Rody; Strains — * STH 107; ** STH 120; *** STH 124, STH 128, STH 129, STH 132, STH 133; **** STH 135

Tabela 3

Zmiany wartości wskaźników statystycznych liczby ziaren z kłosa (LZK) w obrębie populacji mieszańcowej pokolenia F₄ i kolejnych latach procesu hodowlanego

Changes of statistical indicator values of grain number per spike within the cross population in F₄ and following generations of breeding process

Populacja Population	Doświadczenia Trials																							
	F ₄						międzyzakładowe inter-stations						przedwstępne pre-registration I						wstępne pre-registration II					
	I.	min	maks	$\bar{x}$	S	V	I.	min.	maks	$\bar{x}$	S	V	I.	min.	maks	$\bar{x}$	S	V	I.	min.	maks.	$\bar{x}$	S	V
C1	4	50	71	59	9,01	0,15	2	50	71	60	14,80	0,25	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C2	8	35	55	46	6,44	0,14	2	35	45	40	7,1	0,18	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C3	36	43	67	55	6,07	0,11	1	64	64	64	0	0	1	64	64	64	0	0	0	—	—	—	—	—
C4	29	35	69	50	10,04	0,21	4	37	45	42	3,56	0,08	2	44	45	45	0,71	0,02	1*	44	44	44	0	0
C5	77	36	59	48	5,83	0,12	4	39	48	44	3,70	0,08	1	48	48	48	0	0	0	—	—	—	—	—
C6	46	38	73	53	8,62	0,16	5	43	56	52	5,03	0,10	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C7	73	40	61	49	6,31	0,13	4	47	52	50	2,89	0,06	1	52	52	52	0	0	1**	52	52	52	0	0
C8	53	40	78	54	8,75	0,16	2	48	53	51	3,54	0,07	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C9	83	33	66	48	8,17	0,17	11	41	66	51	6,95	0,15	7	49	66	54	5,98	0,11	5***	49	66	51	6,88	0,14
C10	50	35	75	52	8,37	0,16	2	61	65	63	2,83	0,04	1	61	61	61	0	0	1****	61	61	61	0	0
C11	4	37	41	39	1,70	0,04	1	38	38	38	0	0	1	38	38	38	0	0	0	—	—	—	—	—
C12	17	37	64	51	7,47	0,15	1	53	53	53	0	0	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C13	1	56	56	56	0	0	1	56	56	56	0	0	1	56	56	56	0	0	0	—	—	—	—	—
C14	8	46	65	54	6,73	0,12	1	65	65	65	0	0	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C15	4	40	48	43	3,64	0,08	2	40	48	44	5,66	0,13	1	40	40	40	0	0	0	—	—	—	—	—
C16	9	42	57	49	4,97	0,10	1	47	47	47	0	0	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C17	6	44	64	56	7,33	0,13	1	64	64	64	0	0	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C18	15	44	68	54	7,29	0,14	1	44	44	44	0	0	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C19	33	42	75	58	9,45	0,16	2	42	55	49	9,19	0,19	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C20	31	40	69	52	7,17	0,14	1	47	47	47	0	0	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C21	20	45	69	60	7,16	0,12	3	59	68	64	4,73	0,07	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C22	18	42	67	49	7,58	0,15	2	50	54	52	2,83	0,05	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C23	5	38	44	41	2,30	0,04	1	41	41	41	0	0	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C24	9	45	48	47	1,17	0,02	2	45	48	47	2,12	0,05	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C25	5	42	46	44	1,50	0,03	1	43	43	43	0	0	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C26	25	50	63	56	4,47	0,08	2	50	60	55	7,07	0,13	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C27	6	42	51	48	3,78	0,08	1	47	47	47	0	0	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
Suma Total	675						61						16						8					

I. — ilość linii; No. of strains

S — Odchylenie standardowe; Standard deviations

V — Współczynnik zmienności; Variability coefficient

Rody; Strains — I — * STH 107; ** STH 120; *** STH 124, STH 128, STH 129, STH 132, STH 133; **** STH 135

Tabela 4

Zmiany wartości wskaźników statystycznych masy tysiąca ziaren (MTZ) w obrębie populacji mieszańcowej pokolenia F₄ i kolejnych latach procesu hodowlanego

Changes of statistical indicators values of thousand kernel weight within a cross population in F₄ and following generations of breeding process

Populacja Population	Doświadczenia Trials																							
	F ₄						międzyzakładowe inter-stations						przedwstępne pre-registration I						wstępne pre-registration II					
	I.	min	maks	$\bar{x}$	S	V	I.	min.	maks	$\bar{x}$	S	V	I.	min.	maks	$\bar{x}$	S	V	I.	min.	maks.	$\bar{x}$	S	V
C1	4	50	54	52	2,00	0,03	2	50	54	52	2,48	0,04	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C2	8	44	53	50	4,00	0,07	2	46	53	50	5,38	0,10	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C3	36	38	55	45	4,10	0,09	1	47	47	47	0	0	1	47	47	47	0	0	0	—	—	—	—	—
C4	29	42	50	46	1,95	0,04	4	45	49	47	1,57	0,03	2	45	49	47	0,43	0,05	1*	45	45	45	0	0
C5	77	49	67	56	4,84	0,08	4	49	64	56	6,35	0,11	1	54	54	54	0	0	0	—	—	—	—	—
C6	46	41	65	54	5,41	0,10	5	52	58	55	2,53	0,04	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C7	73	43	57	50	3,40	0,06	4	48	55	52	3,23	0,06	1	48	48	48	0	0	1**	48	48	48	0	0
C8	53	39	71	48	6,60	0,13	2	42	45	44	2,55	0,05	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C9	83	48	60	53	2,89	0,08	11	49	58	53	2,67	0,05	7	49	58	53	3,04	0,06	5***	49	58	53	3,63	0,07
C10	50	42	58	50	3,83	0,07	2	46	51	49	3,44	0,07	1	46	46	46	0	0	1****	46	46	46	0	0
C11	4	51	61	55	3,40	0,06	1	53	53	53	0	0	1	53	53	53	0	0	0	—	—	—	—	—
C12	17	45	54	50	2,64	0,06	1	49	49	49	0	0	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C13	1	61	61	61	0	0	1	61	61	61	0	0	1	61	61	61	0	0	0	—	—	—	—	—
C14	8	42	51	47	3,48	0,07	1	51	51	51	0	0	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C15	4	53	60	57	2,79	0,04	2	58	60	59	1,18	0,02	1	60	60	60	0	0	0	—	—	—	—	—
C16	9	43	49	45	2,34	0,05	1	43	43	43	0	0	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C17	6	43	48	46	2,32	0,05	1	48	48	48	0	0	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C18	15	44	59	51	4,47	0,08	1	50	50	50	0	0	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C19	33	43	66	51	5,46	0,10	2	48	53	51	3,61	0,07	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C20	31	46	71	56	5,75	0,10	1	53	53	53	0	0	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C21	20	43	71	55	7,26	0,13	3	51	56	54	2,61	0,04	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C22	18	40	54	48	4,36	0,09	2	48	52	50	2,72	0,05	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C23	5	39	61	48	9,18	0,19	1	61	61	61	0	0	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C24	9	54	58	56	1,47	0,02	2	54	56	55	0,98	0,02	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C25	5	39	57	49	7,90	0,16	1	51	51	51	0	0	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C26	25	47	57	51	3,55	0,06	2	47	54	51	5,19	0,10	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
C27	6	49	63	56	5,90	0,11	1	53	53	53	0	0	0	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—
Suma Total	675						61						16						8					

I. — ilość linii; No. of strains

S — Odchylenie standardowe; Standard deviations

V — Współczynnik zmienności; Variability coefficient

Rody; Strains — * STH 107; ** STH 120; *** STH 124, STH 128, STH 129, STH 132, STH 133; **** STH 135

Pawar i wsp. (1989) w pokoleniach F_2 i F_3 ustalili, że odziedziczalność w wąskim sensie dla LZK w zależności od kombinacji krzyżówkowej wahała się od 31,2 do 56,4%. Wartość współczynnika odziedziczalności dla MTZ zależy od danej kombinacji krzyżówkowej, a także od metody hodowli, jednak większość autorów wskazuje na wysoką odziedziczalność tej cechy.

Wartości masy ziarna z kłosa w wyjściowym pokoleniu F_4 zawierały się w przedziale od 1,6 do 4,3 g, ze średnią 2,6 g; w doświadczeniu wstępnym wynosiły odpowiednio od 2,0 do 3,6 g, przy zachowaniu takiej samej wartości średniej (tab. 2). Stosunkowo niskie wartości odchylenia standardowego oznaczają bliskie skupienie wartości masy ziarna z kłosa wokół średnich populacji. Wartość współczynnika zmienności dla tej cechy w pokoleniu F_4 wahała się od 0,02 do 0,24, w doświadczeniu: międzyzakładowym od 0 do 0,29, przedwstępnym od 0,07 do 0,13.

Liczba ziaren z kłosa mieściła się w zakresie od 33 do 78 ziaren (tab. 3). Średnia ogólna ze wszystkich kombinacji wynosiła 51 ziaren w pokoleniu F_4 , w doświadczeniu międzyzakładowym i przedwstępnym, natomiast w doświadczeniu wstępnym 52. Wartość współczynnika zmienności w pokoleniu F_4 wahała się od 0,02 do 0,21, w doświadczeniu: międzyzakładowym od 0,04 do 0,25 i przedwstępnym od 0,02 do 0,11.

Występowało stosunkowo niewielkie zróżnicowanie masy tysiąca ziarniaków w obrębie danych kombinacji, ale można zaobserwować duże różnice pomiędzy rodzinami od 39 do 71 gram (tab. 4). Rozstęp średniej masy tysiąca ziaren oszacowanej spośród wszystkich kombinacji wyniósł od 45 do 61 gram. Współczynnik zmienności V w tej populacji wyniósł od 0,00 do 0,16 w pokoleniu F_4 , natomiast w doświadczeniach: MZ od 0,02 do 0,11 i DP od 0,05 do 0,06.

Współczynnik zmienności jako wielkość niewymiarowa pozwala na porównanie populacji pod względem kilku cech. Im mniejsza wartość współczynnika zmienności tym dana cecha jest bardziej stabilna. Średnie współczynniki zmienności dla masy ziarna z kłosa (0,14) i liczby ziarna z kłosa (0,12) były wyższe niż dla masy tysiąca ziarniaków (0,08).

Wyniki plonowania 8 najlepszych rodów pochodzących z rozpatrywanej populacji przedstawiono w tabeli 5. Na podstawie wyników średniej wieloletniej z doświadczeń 5 rodów plonowało powyżej wzorca. Współczynniki korelacji (r) pomiędzy średnim plonem najplenniejszych rodów pochodzących z kombinacji C9 Jubilatka $\times$ SMH 2182 a MZK, LZK i MTZ oraz wzajemne korelacje pomiędzy cechami struktury plonu przedstawiono w tabeli 6. W tej populacji wykazano silną korelację pomiędzy LZK a MZK wynoszącą w pokoleniu F_4 $r = 0,958$, natomiast w doświadczeniach: MZ $r = 0,945$, DP $r = 0,908$, DW $r = 0,895$, (poziom istotności $\alpha = 0,01$), oprócz tego stwierdzono dość wysoki stopień korelacji pomiędzy MTZ a MZK wynoszący $r = 0,375$ w pokoleniu F_4 ; MZ $r = 0,49$; DP $r = 0,53$; DW $r = 0,49$, (poziom istotności $\alpha = 0,05$). Korelacja pomiędzy MTZ a LZK była niska. Współczynnik korelacji pomiędzy poziomem plonowania określonego w doświadczeniach międzyzakładowych a masą i liczbą ziaren z kłosa był niski, a dla MTZ wyniósł $r = 0,41$.

Tabela 5

Plonowanie wybranych rodów w doświadczeniach
Yielding of selected lines in breeding trials

Ród Strain	%wzorca — % of standard					średnia mean
	MZ 94/95	DP 95/96	DP 96/97	DW 96/97	DW 97/98	
C3-STH 107	102,2	100,6		98,0		100,2
C7-STH 120	109,3	103,6		101,0		104,8
C9-STH 124 (Nutka)	103,1	102,4	97,2		102,0	101,4
C9-STH 128	104,8	100,9	104,7		98,0	101,9
C9-STH 129 (Tonacja)	109,1	104,5		95,0	101,0	102,5
C9-STH 132	101,8	98,7		83,0		94,9
C9-STH 133	103,0	100,2		93,0		98,9
C10-STH 135	103,2	97,6			96,0	98,8
Plon wzorca dt/ha	80,2	77,3	63,2	72,2	82,69	—
Check yield						

Wzorcowe; — 1995 odmiana Almari; Almari; 1996–1998 odmiana Elena

Checks: — 1995 — cv. Almari; 1996–1998 — cv. Elena

MZ — Doświadczenie międzyzakładowe; Inter-stations trial

DP — Doświadczenie przedwstępne; Pre-registration trial I

DW — Doświadczenie wstępne; Pre-registration trial II (final)

Natomiast plon z doświadczeń przedwstępnych okazał się być pozytywnie skorelowany z MZK $r = 0,56$ oraz MTZ, gdzie $r = 0,49$, dla LZK korelacja wyniosła $r = -0,07$. Dla pięciu najplenniejszych rodów testowanych w doświadczeniach wstępnych w sezonach 1996/1997 oraz 1997/1998 poziom plonowania okazał się być skorelowany z MZK i LZK, gdzie wynosił odpowiednio $r = 0,60$ i $r = 0,66$ (poziom istotności $\alpha = 0,05$). Takie różnice w oddziaływaniu różnych komponentów struktury plonu na plon ziarna można wyjaśnić różnym przebiegiem warunków pogodowych, środowiskowych, głównie dostępnością wody oraz temperaturą w okresie wypełniania ziarna w różnych sezonach doświadczeń. Według Garcia i wsp. (2003) u pszenicy twardej (*Triticum turgidum* L. var. durum) w latach o dużych opadach i chłodnej temperaturze plon przede wszystkim determinowany jest przez masę ziarna z kłosa, a liczba ziarna z kłosa ma znaczący wpływ w siedliskach o zmniejszonych opadach. Podobne wyniki otrzymał Moragues i wsp. (2005), który wykazał, że w dogodnych warunkach wzrostu plon ziarna zależy w równych proporcjach od trzech głównych komponentów plonu (liczba kłosów na m^2 , liczbę ziaren na kłos i średnią masę ziarna z kłosa), podczas gdy w doświadczeniach nawadnianych, zmienność w plonie ziarna była głównie spowodowana liczbą kłosów na m^2 i w mniejszym stopniu LZK. Także na podstawie wieloletnich doświadczeń hodowlanych prowadzonych w Strzelcach można zaobserwować różny wpływ poszczególnych cech struktury plonu na masę zebranego ziarna. Jak wiadomo na plon wpływa wiele cech o kompleksowym charakterze. Cechy bezpośrednio warunkujące komponenty plonu, takie jak np. liczba roślin i kłosów na m^2 , liczba kłosek w kłosie, masa i stopień wypełnienia ziarniaka, liczba ziaren w kłosie oraz kłosku, pojedynczo bez wzajemnego powiązania wywierają niewielki wpływ na potencjał plonotwórczy (Reynolds, 2001). Oprócz wyżej wymienionych cech, na produktywność rośliny wpływają geny warunkujące cechy o podłożu fizjologicznym (np. długość okresu wegetacji, reakcja na jarowizację, odporność na choroby, fotoperiod, aktywność fotosyntetyczną itd.) oraz morfologicznym (wysokość

rośliny, powierzchnia i ułożenie liści, morfologia i rozgałęzienie systemu korzeniowego) (Worland, 2000).

Tabela 6

Współczynniki korelacji pomiędzy plonem, liczbą i masą ziaren z kłosa oraz masą tysiąca ziaren dla rodów z kombinacji krzyżówkowej C9
Coefficients of correlations between yield, number and weight of kernels per ear and thousand kernel weight for lines derived from the C9 cross population

	Cechy Traits	LZK	MTZ	Plon Yield
F4	MZK	0,958**	0,375	*
	LZK	*	0,107	*
MZ	MZK	0,945**	0,499*	0,113
	LZK	*	0,19	-0,075
	MTZ	*	*	0,416
DP	MZK	0,908**	0,534*	0,559*
	LZK	*	0,133	-0,075
	MTZ	*	*	0,499*
DW	MZK	0,895**	0,498*	0,606*
	LZK	*	0,061	0,665*
	MTZ	*	*	0,066

MZK — Masa ziarna z kłosa; Grain mass per ear

LZK — Liczba ziaren w kłosie; No. of grains per ear

MTZ — Masa tysiąca ziaren; Thousand grains mass

** Poziom istotności $\alpha = 0,01$; Significant at $\alpha = 0.01$

*Poziom istotności $\alpha = 0,05$; Significant at $\alpha = 0.05$;

Oprócz dużej liczby czynników genetycznych i skomplikowanej natury dziedziczenia cech warunkujących plonowanie w selekcji należy uwzględnić modyfikujący wpływ środowiska. Według Tarkowskiego (1984) selekcja na plon pojedynczych roślin jest mało skuteczna, dlatego też ocenę plonowania rodów czy linii należy prowadzić na poletkach w warunkach normalnego zagęszczenia, gdyż jedynie wtedy można mieć poprawną ocenę zdolności plonowania. W pracy hodowlanej pojedynki pokolenia F₄ wybierane były z siewu rozrzedzonego i miarodajna ocena cech struktury plonu w takich warunkach jest bardzo utrudniona. Oddziaływanie warunków środowiskowych, a w szczególności dostęp składników mineralnych, wody, stopnia nasłonecznienia, wpływu roślin sąsiednich, na cechy struktury plonu w warunkach siewu rzadkiego i gęstego są zupełnie różne.

Najbardziej udaną kombinacją z punktu widzenia hodowlanego była krzyżówka C9 Jubilatka × SMH 2182. Z pokolenia F₄ na F₅ z tej populacji wybrano 83 pojedynki, do MZ zakwalifikowano 11 linii, do DP 7, do DW 5. Z niej pochodzą najbardziej plenne i co może ważniejsze wierne w plonowaniu odmiany Nutka STH 124 oraz Tonacja STH 129, a także Zyta i Sukces. Spośród rodów będących w tym czasie w DW średnia masa ziarna z kłosa dla tej kombinacji wynosiła 2,9 grama; min. 2,5g; maks. 3,6 g, natomiast liczba ziaren z kłosa wahała się od 44 do 66 dając średnią wartość równą 51 ziarniaków na kłos. Warto zaznaczyć, że w procesie wyboru rodów do doświadczeń, bardzo ważną rolę odgrywają cechy jakościowe odmiany, na podstawie których wybiera się formy mniej plenne, ale o znacznie lepszych cechach użytkowych.

PODSUMOWANIE

Wybór pojedynków w pokoleniu F₄, w obrębie rozpatrywanej populacji, o najlepszych cechach struktury plonu (LZK, MZK, MTZ) nie zapewniało wysokiego plonowania w doświadczeniach hodowlanych. Po części wynika to z natury heterozygotycznej F₄ (12,5% loci heterozygotycznych) oraz modyfikującego wpływu warunków środowiskowych m.in. rozrzedzonego siewu pojedynków.

LITERATURA

- Garcia del Moral L. F., Rharrabti Y., Villegas D., Royo C. 2003. Evaluation of grain yield and its components in durum wheat under Mediterranean conditions: an ontogenic approach. *Agron. J.* 95: 266 — 274.
- Goldringer I., Brabant P., Gallais A. A. 1997. Estimation of additive and epistatic genetic variance for agronomic traits in population of doubled haploid lines of wheat. *Heredity* 79: 60 — 71.
- Grzesik H., S. Węgrzyn. 2003. Odziedziczalność elementów struktury plonu pszenżyta ozimego. *Biul. IHAR* 226/227: 191 — 196.
- Jedyński S. 1987. Zmienność i odziedziczalność cech użytkowych pszenicy ozimej. *Zeszyty Naukowe AR we Wrocławiu* Nr 165: 27 — 42.
- Kumbhar M. B., Larik A. S. 1989. Genetic analysis of some yield parameters in *Triticum aestivum* L. *Wheat Information Service* 68: 29 — 32.
- Lonc W., Białowas S., Choma K., Krupa F. 1989. Zastosowanie taksonomii wrocławskiej do oceny wartości hodowlanej kilku odmian pszenicy ozimej. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych* Z. 382: 119 — 125.
- Moragues M., Garcia del Moral L. F., Moralejo M., Royo C. 2006. Yield formation strategies of durum wheat landraces with distinct pattern of dispersal within the Mediterranean basin. I. Yield components. *Field Crops Res.* 95: 194 — 205.
- Nawracała J., Łuczkiwicz T., Dyba S., Boberska K. 2004. Zmienność i odziedziczalność wybranych cech w potomstwach krzyżówek diallelicznych pszenicy ozimej. *PTPN „Prace z zakresu nauk rolniczych”* T97: 127 — 132.
- Nawracała J. 2004. *Zarys genetyki zbóż. Tom 1. Jęczmień, pszenica i żyto* (red. A. G. Górny), wyd. IGR PAN, Poznań: 181 — 327.
- Pawar I. S., Paroda R. S., Singh S. 1989. Heritability estimation by parent progeny regression vis-avis standard unit method in four wheat crosses. *Wheat Information Service* 68: 33 — 36.
- Reynolds, M. P., J. I. Ortiz-Monasterio, McNab (eds.). 2001. *Application of physiology in wheat breeding*. Mexico, D.F.: CIMMYT.
- Ruebenbauer T. 1964. *Hodowla roślin. Państw. Wyd. Rolnicze i Leśne*, Warszawa.
- Szwed-Urbaś K., Z. Segit. 2004. Charakterystyka wybranych cech ilościowych u mieszańców pszenicy twardej. *Ann. UMCS, E, LIX*, 1: 101 — 113.
- Tarkowski Cz. 1984. *Genetyka. Hodowla roślin. Nasiennictwo*. Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa.
- Weber W. E. 1979. Number and size of cross progenies from a constant total number of plants manageable in a breeding program. *Euphytica* 28: 453 — 456.
- Worland A., Snape J. W. 2000. *Genetic basic of worldwide wheat varietal improvement*. The World Wheat Book. Bonjean A. P., Angus W. J. Eds. Lavoisier Publishing. Editions TEC and DOC Paris.

ROMAN PRAŻAKWydział Nauk Rolniczych w Zamościu
Akademia Rolnicza w Lublinie

Zmienność i współzależność niektórych cech ilościowych oraz zawartość białka ogółem w ziarnie mieszańców *Aegilops juvenalis* (Thell.) Eig. i *Aegilops ventricosa* Tausch. z wybranymi gatunkami (4×, 6×) *Triticum* L.

Variability and interrelationship of some quantitative traits and total protein content in kernels of hybrids *Aegilops juvenalis* (Thell.) Eig. and *Aegilops ventricosa* Tausch. with tetraploid and hexaploid wheat *Triticum* L. cultivars

Przedstawiono ocenę zmienności i współzależności niektórych cech ilościowych oraz analizę zawartości białka ogółem w ziarnie czterech linii F₅–F₉ pochodzących z krzyżowań *Aegilops juvenalis* (Thell.) Eig. i *Aegilops ventricosa* Tausch. z *Triticum durum* Desf. cv. Grandur i *Triticum aestivum* L. (cvs. Arda, Begra, Panda, linia CZR 1406). Linie F₅–F₉ porównywano z wybranymi pszenicznymi komponentami rodzicielskimi — odmianami Arda, Begra, Panda i linią CZR 1406. Analizowano następujące cechy: liczbę pędów produkcyjnych, długość pędu głównego, średnicę 2-go od dołu międzywęźla, długość osadki kłosowej, liczbę kłosek w kłosie głównym, zbitość kłosa głównego, liczbę ziarniaków w kłosie głównym, masę ziarniaków z kłosa głównego, płodność kłosa głównego i masę 1000 ziarniaków. W pierwszych latach badań liczba i masa ziarniaków z kłosa, płodność kłosa i masa 1000 ziarniaków mieszańców były niższe niż u analizowanych komponentów rodzicielskich. W kolejnych latach w wyniku prowadzonej selekcji średnia wysokość roślin uległa zmniejszeniu, natomiast zwiększyły się średnica 2-go od dołu międzywęźla, liczba i masa ziarniaków z kłosa, płodność kłosa oraz masa 1000 ziarniaków. Średnie wartości takich cech jak liczba pędów produkcyjnych, długość pędu głównego, średnica 2-go od dołu międzywęźla, długość osadki kłosowej, liczba kłosek w kłosie głównym i zbitość kłosa głównego linii F₅–F₉ były najczęściej zbliżone do pszenicznych komponentów rodzicielskich. Wartość współczynników zmienności analizowanych cech była zróżnicowana zarówno u linii F₅–F₉ (2,0–65,4%) jak i u pszenic (2,3–49,6%). W badanych liniach i odmianach stwierdzono istotne dodatnie korelacje pomiędzy liczbą pędów produkcyjnych, długością pędu głównego i długością osadki kłosowej a liczbą kłosek w kłosie głównym, liczbą i masą ziarniaków w kłosie głównym oraz płodnością. Istotne ujemne korelacje odnotowano pomiędzy długością pędu głównego a średnicą 2-go od dołu międzywęźla i masą 1000 ziarniaków oraz pomiędzy długością osadki kłosowej a zbitością kłosa głównego. Jedynie w liniach F₅–F₉ występowały ujemne korelacje pomiędzy długością pędu głównego a długością osadki kłosowej oraz pomiędzy zbitością

kłosa głównego a liczbą i masą ziarniaków z kłosa głównego. Linie F₅–F₉ zawierały więcej białka ogółem w ziarnie (13,1–22,0%) od pszenic (12,8–15,9%).

Słowa kluczowe: *Aegilops*, cechy ilościowe, *Triticum*, zawartość białka

The investigation was undertaken to analyze the variability and interrelationships of some quantitative traits and total protein content in kernels of four F₅–F₉ lines derived from crosses between *Aegilops juvenalis* (Thell.) Eig. and *Aegilops ventricosa* Tausch. with *Triticum durum* Desf. cv. Grandur and *Triticum aestivum* L. (cvs. Arda, Begra, Panda, CZR 1406 line). The F₅–F₉ lines were compared with their parental wheat components — Arda, Begra, Panda cultivars and CZR 1406 line. The following characters were analyzed: productive shoots number, length of main shoot, diameter of the 2nd bottom internode, length of spike rachis, number of spikelets in main spike, main spike density, kernel number and weight per main spike, fertility of main spike and weight of 1000 kernels. In the first year's number and weight of kernels per main spike, fertility and weight of 1000 kernels were significantly lower in the F₅–F₉ lines in comparison with the wheat cultivars. In the following years, as a result of the selection, height of the plants was decreased, but diameter of the 2nd bottom internode, the number and weight of kernels per main spike, fertility of main spike and weight of 1000 kernels increased. The productive shoot number, length of main shoot, diameter of the 2nd bottom internode, length of spike rachis, number of spikelets in main spike and main spike density in the F₅–F₉ lines and wheat's were mostly similar. The values of variability coefficients for the analyzed traits were differentiated and varied from 2.0 to 65.4% in the hybrid lines and from 2.3 to 49.6% in the cultivars. Significant positive correlations were found for lines and cultivars between productive shoot number, length of main shoot, length of spike rachis and number of spikelets in main spike, kernel number and weight per main spike, fertility of main spike. Significant negative correlations were noted between the length of main shoot, and diameter of the 2nd bottom internode or weight of 1000 kernels and between length of spike rachis and spike density. The negative correlations between length of the main shoot and length of spike rachis as well as between spike density and kernel number and weight per main spike were specific for the F₅–F₉ lines only. The F₅–F₉ lines were characterized by higher total protein content in kernels (13.1–22.0%) than the wheat cultivars (12.8–15.9%).

Key words: *Aegilops*, protein content, quantitative traits, *Triticum*

WSTĘP

W ostatnich dekadach znacznemu zubożeniu uległa bioróżnorodność odmian pszenicy uprawnej. Można ją zwiększyć przez wprowadzenie do genomu pszenicy translokacji z gatunków dzikich — włączając tym samym do nowych odmian szereg cennych genów odpornościowych (Chełkowski i in., 2004). Krzyżowania oddalone mają na celu nie tylko zwiększenie odporności na stresy biotyczne i abiotyczne form uprawnych, ale i poprawienie ich niektórych parametrów plonotwórczych i wskaźników jakościowych (Pilch, 1997, 2002). Według Pilcha (2002, 2003) i Sulewskiej i wsp. (2005) gatunki obce mogą okazać się efektywnymi źródłami genetycznymi wysokiej zawartości białka dla pszenicy heksaploidalnej. Zmienność pomiędzy liniami pszenicy można badać analizując, między innymi, cechy morfologiczne i jakościowe (Gruszecka, 1997; Pilch i Głowacz, 1997; Węgrzyn i Waga, 1999; Tyrka i Stefanowska, 2001; Wojas i Węgrzyn, 2001).

Celem przeprowadzonych badań była ocena zmienności i współzależności niektórych cech ilościowych oraz analiza zawartości białka w ziarnie linii F₅–F₉ pochodzących z krzyżowań 2 kozińców *Ae. ventricosa* Tausch. i *Ae. juvenalis* (Thell.) Eig. z 5 odmianami pszenicy *T. aestivum* L. i *T. durum* Desf.

MATERIAŁ I METODY

Obiektem badań były cztery linie generacji F₅–F₉ otrzymane w wyniku krzyżowania *Ae. juvenalis* (Thell.) Eig. (DDMMUU) i *Ae. ventricosa* Tausch. (genomy UnUnDD) z *T. durum* Desf. (AABB) cv. Grandur, *T. aestivum* L. (AABBDD) cvs. Arda, Begra, Panda oraz linią CZR 1406 pszenicy heksaploidalnej (rys. 3, 4) (Stefanowska, 1995; Prażak, 1997). Linia CZR 1406 o translokowanym chromosomie *IBL/IRS* została wytworzona przez Tarkowskiego w wyniku krzyżowania (Lanca × *S. cereale* L. 506) × Lanca (Tarkowski i in., 1994). Analizowane linie F₅–F₉ to: [(*Ae. ventricosa* Tausch. × Grandur) × Panda] × Panda (oznaczenie symboliczne — VGPP), {[(*Ae. ventricosa* Tausch. × Grandur) × Panda] × Arda} × Arda (VGPA), (*Ae. juvenalis* (Thell.) Eig. × CZR 1406) × Begra (JCB), {[(*Ae. juvenalis* (Thell.) Eig. × CZR 1406) × CZR 1406] × Panda} × CZR 1406 (JCCPC). Oceniane linie porównywano do odmian *T. aestivum* L. — Arda, Begra, Panda i linii CZR 1406. Skład genomowy podano za Kimber i Feldman (1987).

W latach 2000–2004 linie i odmiany pszenicy zwyczajnej wysiewano ręcznie na polu doświadczalnym Wydziału Nauk Rolniczych w Zamościu, Akademii Rolniczej w Lublinie, na glebie brunatnej wytworzonej z pyłów wodnego pochodzenia, dobrego kompleksu pszennego. Rośliny poszczególnych linii i odmian rosły na oddzielnych poletkach długości 2,0 m i szerokości 1,0 m, w rozstawie 20 × 10 cm. Wykonano podstawowe zabiegi agrotechniczne, nawożenie NPK = 60–90–110 kg/ha. W okresie wegetacji na poletkach zwalczano chwasty poprzez ręczne plewienie. Corocznie na wybranych 20 najniższych roślinach każdej linii i odmiany, zebranych fazy dojrzałości pełnej, analizowano 10 cech ilościowych: liczbę pędów produkcyjnych, długość pędu głównego, średnicę 2-go od dołu międzywęzła, długość osadki kłosowej, liczbę kłosek w kłosie głównym, zbiorność kłosa głównego, liczbę ziarniaków w kłosie głównym, masę ziarniaków z kłosa głównego, plodność kłosa głównego i masę 1000 ziarniaków. Pomiarów dokonano według metodyki stosowanej przy analizie laboratoryjnej pojedynków (Tarkowski, 1994). W kolejnych latach wysiewano ziarno pojedynków charakteryzujących się największą masą 1000 ziarniaków i największą zawartością białka ogółem. Wyniki opracowano statystycznie i przedstawiono w tabelach 1–2 i na rysunku 1. Istotność różnic oceniono za pomocą testu Tukeya przy $p \leq 0,05$. Wyliczono także współczynniki zmienności i korelacji fenotypowych.

Zawartość białka ogółem w ziarniakach mieszańców oraz ich komponentów rodzicielskich oznaczono w Centralnym Laboratorium Analitycznym Akademii Rolniczej w Lublinie metodą Kjeldahla stosując przelicznik białkowy 5,7. Wyniki analizy białka przedstawiono na rysunku 2.

WYNIKI I DYSKUSJA

Dzikie gatunki rodzicielskie *Ae. ventricosa* Tausch. i *Ae. juvenalis* (Thell.) Eig. charakteryzują się silnym krzewieniem (Prażak, 1992). W ciągu 5 lat badań średnia liczba pędów produkcyjnych, czyli pędów zakończonych normalnie rozwiniętym kłosem, u linii F₅–F₉ wahała się od 8,5 do 19,2, a u odmian pszenicy od 8,0 do 20,1 (tab. 1). Istotne różnice pomiędzy liniami i niektórymi pszenicami wystąpiły w roku 2001. Wtedy to linie F₆ VGPP, VGPA i JCCPC wytworzyły istotnie mniej pędów produkcyjnych od pszenicy Panda, a JCB istotnie więcej od pszenicy Begra. W roku 2003 odnotowano w przypadku większości linii i odmian słabsze krzewienie produkcyjne spowodowane wystąpieniem ostrej zimy 2002–2003. W liniach pokolenia F₈ odnotowano wówczas największe wartości współczynników zmienności dla tej cechy (36,5–65,4%) (tab. 1). W pozostałych latach wartość współczynników zmienności rodów mieszańcowych była zbliżona do pszenic (tab. 1). Przyczyną wysokiej zmienności wśród badanych linii były prawdopodobnie wprowadzone geny dzikich gatunków *Aegilops*. Nawet w generacji F₉ występowała duża zmienność wewnątrzliniowa.

Wykazano istotną dodatnią korelację pomiędzy liczbą pędów produkcyjnych i długością pędu u roślin linii VGPP, JCCPC oraz pszenic CZR 1406 i Panda (tab. 2). Podobne korelacje pomiędzy tymi cechami wystąpiły w badaniach Gruszeckiej (1997) u mieszańców pszenżyta. W badaniach własnych w przypadku większości analizowanych form wystąpiły również istotne dodatnie korelacje pomiędzy liczbą pędów produkcyjnych a długością osadki kłosowej, liczbą kłosek w kłosie głównym i liczbą ziarniaków w kłosie głównym (tab. 2).

W roku 2000 najdłuższe źdźbła wytworzyła linia F₅ VGPA (111,5 cm). Były one istotnie dłuższe od źdźbeł pszenicy Panda. Wśród linii najkrótsze źdźbła w pierwszym roku badań wytworzyła linia F₅ VGPP (90,4 cm) (tab. 1). Były one istotnie krótsze od źdźbeł pszenicy Panda. W wyniku prowadzonej selekcji i wyboru najniższych roślin, w pokoleniu F₉ (rok 2004) średnia wysokość linii uległa zmniejszeniu i wyniosła u VGPP — 77,0 cm, VGPA — 98,4 cm, JCB — 94,2 cm i JCCPC — 73,3 cm (tab. 1). W badaniach Stefanowskiej (1995) długość pędu głównego u mieszańców F₁–F₃ pszenicy z *Ae. ventricosa* Tausch. i *Ae. juvenalis* (Thell.) Eig. wahała się od 44,4 do 92,0 cm. Tyrka i Stefanowska (2001) odnotowali znaczne zróżnicowanie długości pędów głównych wśród mieszańców z *Ae. ventricosa* Tausch. i *Ae. juvenalis* (Thell.) Eig. (65,4–118,8 cm). Mieszańce pszenicy Chinese Spring z innym kozieńcem — *Ae. sharonensis* Eig. miały krótsze źdźbła od pszenicy (Miller i in., 1982). Wartość współczynnika zmienności długości pędu dla linii i pszenic była zróżnicowana. Największa zmienność tej cechy wystąpiła w 2004 roku u mieszańca F₉ VGPP — 27,4% (tab. 1). W przypadku większości badanych linii i odmian stwierdzono istotne dodatnie korelacje pomiędzy długością pędu głównego a liczbą kłosek w kłosie głównym, zbitością kłosa głównego i liczbą ziarniaków w kłosie głównym (tab. 2). Natomiast istotne ujemne korelacje odnotowano pomiędzy długością pędu głównego a średnicą 2-go od dołu międzywęźla i masą 1000 ziarniaków (tab. 2).

Tabela 1

Średnie wartości (x) i współczynnik zmienności (v%) niektórych cech ilościowych w liniach F₅–F₉ *Ae. ventricosa* Tausch. × *Triticum* L. i *Ae. juvenalis* (Thell.) Eig. × *Triticum* L. oraz w *T. aestivum* L.
Means (x) and variability coefficients (v%) of some quantitative traits in F₅–F₉ *Ae. ventricosa* Tausch. × *Triticum* L. and *Ae. juvenalis* (Thell.) Eig. × *Triticum* L. lines and in *T. aestivum* L.

Formy Forms	Lata Years	Liczba pędów produkcyjnych Number of productive shoots		Długość pędu głównego (cm) Length of main shoot (cm)		Średnica 2-go od dołu międzywęzła (mm) Diameter of 2nd bottom internode (mm)		Długość osadki kłosowej (dm) Length of spike rachis (dm)		Liczba kłosek w kłosie głównym Number of spikelets in main spike		Zbitość kłosa głównego ¹ Main spike density ¹		Liczba ziaren. z kłosa głównego Number of kernels per main spike		Masa ziaren. z kłosa głównego (g) Weight of kernels per main spike (g)		Płodność kłosa głównego ² Fertility of main spike ²		Masa tysiąca ziaren. (g) Weight of 1000 kernels (g)	
		x	v	x	v	x	v	x	v	x	v	x	v	x	v	x	v	x	v	x	v
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
F ₅ VGPP	2000	19,2	31,3	90,4 ^P	13,2	3,9	7,3	1,0 ^P	2,7	21,1 ^P	4,7	20,1 ^P	7,2	37,3 ^P	26,7	1,2 ^P	38,2	1,8 ^P	23,9	32,5	16,8
F ₆ VGPP	2001	15,6 ^P	18,8	100,8	7,6	4,1	8,3	0,9	9,1	23,7	4,8	25,0 ^P	6,4	45,1 ^P	29,7	1,2 ^P	40,8	1,9 ^P	28,1	22,9 ^P	15,7
F ₇ VGPP	2002	10,4	27,3	81,7 ^P	5,4	3,7	6,5	0,8	6,7	21,5	5,9	25,4	8,6	30,4	33,5	0,7 ^P	35,2	1,4	27,6	31,4	16,8
F ₈ VGPP	2003	9,0	65,4	75,8	15,1	4,0	11,6	0,9	9,4	18,6 ^P	10,0	19,0	7,9	39,7	23,8	1,1	32,5	2,1	21,1	28,0	23,0
F ₉ VGPP	2004	14,4	36,8	77,0	27,4	5,1	10,6	1,0	14,2	22,1	8,0	21,6	15,4	43,8	10,3	1,7	28,5	2,0	7,9	34,7	12,8
F ₅ VGPAA	2000	13,8	33,3	111,5 ^P	5,6	4,1	12,5	0,8	16,0	19,8 ^{AP}	6,5	23,4 ^A	14,7	32,8 ^{AP}	34,2	1,0 ^{AP}	54,0	1,6 ^{AP}	31,2	23,9	19,6
F ₆ VGPAA	2001	14,1 ^P	35,3	110,4	13,9	4,4	8,2	0,7 ^A	11,5	21,6	5,3	28,8 ^P	8,2	34,2 ^P	43,8	0,6 ^{AP}	44,4	1,6 ^{AP}	42,2	22,3 ^{AP}	19,3
F ₇ VGPAA	2002	10,8	27,1	106,8	4,6	3,8 ^A	9,7	0,9	8,6	21,0	9,2	22,3	8,9	32,6 ^A	26,0	0,9 ^{AP}	56,8	1,6	23,2	28,1	17,7
F ₈ VGPAA	2003	11,5	46,5	91,5	5,3	4,2	6,7	0,9	6,5	20,0 ^P	7,2	21,9	5,9	32,4 ^P	34,4	1,0 ^P	24,0	1,6	32,7	29,3	16,1
F ₉ VGPAA	2004	11,3	30,1	98,4	5,6	5,4	11,8	1,0	10,7	20,8	12,5	20,5 ^A	8,6	38,2	24,2	1,6	28,7	1,8	22,2	39,8 ^P	16,8
F ₅ JCB	2000	11,7	24,4	105,0	3,7	3,9	12,0	1,0	8,9	19,8	4,5	19,0	9,9	31,3 ^C	19,5	0,9 ^C	26,5	1,6 ^C	18,4	26,9	12,0
F ₆ JCB	2001	12,7 ^B	31,3	109,3	6,4	4,1 ^{BC}	9,1	1,0	11,4	22,2	4,2	22,3	10,0	34,2	39,9	1,0 ^C	46,1	1,5	38,5	24,4 ^{BC}	12,5
F ₇ JCB	2002	10,2	29,7	99,1 ^{BC}	5,4	3,8	8,2	0,9 ^C	4,9	20,5	5,1	21,4 ^{BC}	7,5	23,9	25,5	0,8	40,5	1,2	25,8	30,8	14,6
F ₈ JCB	2003	9,5	41,0	94,9 ^{BC}	8,3	4,1	12,5	0,8 ^B	14,9	19,2 ^B	9,9	22,0 ^{BC}	12,0	24,3	40,6	0,7	50,9	1,3 ^C	35,4	30,7 ^{BC}	23,4
F ₉ JCB	2004	12,1	31,3	94,2	4,5	4,9	14,9	1,0	7,2	20,1	14,2	18,1	22,6	36,4 ^B	23,9	1,7 ^B	24,5	1,8 ^B	18,8	43,8	15,9
F ₅ JCCPC	2000	14,4	22,9	92,2	9,3	4,1	8,8	0,8 ^{CP}	6,3	20,5	4,3	23,6 ^{CP}	4,8	30,7 ^{CP}	27,2	0,9 ^{CP}	43,1	1,5 ^{CP}	25,7	29,3	13,1
F ₆ JCCPC	2001	13,6 ^P	29,8	89,9	3,6	4,2 ^{CP}	9,2	0,8 ^{CP}	6,3	22,7	2,9	27,3 ^{CP}	7,1	26,4 ^{CP}	35,1	0,6 ^{CP}	29,6	1,2 ^{CP}	35,6	23,0 ^{CP}	20,8
F ₇ JCCPC	2002	10,4	23,4	86,0 ^{CP}	2,0	3,4 ^{CP}	6,1	0,8 ^{CP}	5,8	20,6	4,6	23,9 ^P	8,6	26,9	39,0	0,8 ^P	58,9	1,3	41,1	32,9	15,4
F ₈ JCCPC	2003	8,5	36,5	79,8 ^P	11,1	4,3	10,4	0,8	9,6	20,6	6,6	25,6 ^P	6,5	26,2	36,1	0,7 ^{CP}	47,0	1,3	31,1	24,9 ^C	22,5
F ₉ JCCPC	2004	14,3	28,9	73,3 ^{CP}	3,1	4,7	16,0	1,0	5,0	21,5	6,1	21,5	6,4	38,2	12,1	1,5	25,8	1,8	18,5	39,1	12,9

c.d. Tabela 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
Arda	2000	10,6	30,1	89,7	4,4	4,7	11,5	0,9	5,6	21,4	7,5	22,1	5,1	52,2	26,9	2,1	29,2	2,5	28,4	39,4	11,6
	2001	10,5	21,8	100,2	8,5	4,7	10,4	1,0	6,1	21,5	5,6	21,3	3,3	44,6	23,8	1,9	29,7	2,1	25,8	33,6	10,6
	2002	10,2	19,0	99,0	10,4	4,3	11,5	1,0	5,0	20,9	4,2	20,7	2,3	39,0	33,7	1,5	44,6	1,9	34,7	32,0	18,0
	2003	8,3	25,4	91,1	5,7	4,5	9,1	0,8	8,6	18,8	6,9	21,8	9,6	27,5	35,2	1,1	42,9	1,5	34,0	37,0	23,4
	2004	10,5	37,2	86,7	8,7	5,1	13,7	0,9	4,2	21,4	9,0	21,9	8,4	32,4	29,5	1,3	39,8	1,5	29,3	38,5	13,4
Begra	2000	9,2	41,2	86,5	6,4	4,1	18,5	0,9	6,8	20,7	6,7	21,1	3,8	34,3	18,0	1,2	26,7	1,7	15,7	34,1	13,1
	2001	10,8	26,6	110,9	10,4	4,4	6,8	0,9	6,1	23,7	4,2	24,4	4,7	45,5	23,0	1,6	21,6	1,9	21,1	27,2	15,4
	2002	8,9	36,1	97,5	1,6	4,1	3,2	0,9	10,8	20,3	6,6	22,2	8,6	29,3	34,0	0,9	38,5	1,4	33,1	30,5	16,1
	2003	8,0	23,3	94,4	3,3	4,2	12,4	0,8	5,2	20,6	4,0	25,2	4,7	36,7	34,0	1,5	43,7	1,8	33,3	41,9	17,3
	2004	13,6	22,7	88,5	9,2	5,5	8,1	1,0	7,1	20,9	7,9	20,3	7,4	32,5	24,9	1,1	28,7	1,6	23,3	35,8	14,6
CZR 1406	2000	9,3	16,3	97,1	5,2	4,0	8,5	0,9	4,3	20,8	4,8	21,2	4,1	51,0	25,6	1,8	23,1	2,5	14,6	29,7	11,2
	2001	16,0	25,1	116,0	6,5	4,3	9,9	0,9	8,2	22,7	4,5	23,8	4,7	46,9	23,3	1,6	29,4	2,1	21,9	33,2	10,3
	2002	9,9	22,9	98,4	4,6	4,0	9,8	0,9	4,9	21,0	6,6	21,9	6,5	31,1	24,7	0,9	34,7	1,5	25,4	30,6	19,1
	2003	10,2	23,6	88,9	9,8	4,4	5,6	0,8	9,2	20,2	8,9	24,1	7,0	30,9	39,1	1,1	39,9	1,5	34,2	36,3	23,1
	2004	11,2	21,0	87,5	6,4	4,8	15,4	0,9	6,1	20,1	9,9	20,2	8,5	37,1	21,6	1,4	28,1	1,9	25,2	38,0	8,8
Panda	2000	13,0	31,8	95,3	2,3	4,1	9,9	1,1	7,5	21,4	4,1	19,6	5,4	50,2	29,9	1,8	35,4	2,3	28,8	35,6	6,8
	2001	20,1	29,7	118,8	5,6	4,3	8,4	0,9	6,5	23,2	4,6	25,1	3,6	53,2	22,5	1,5	33,5	2,2	20,6	30,6	9,3
	2002	11,0	26,9	99,6	3,2	4,0	13,2	1,0	7,1	21,4	7,9	21,4	5,6	30,4	26,9	1,7	35,6	1,4	43,9	31,7	16,6
	2003	11,3	30,9	95,9	5,9	4,1	10,8	0,9	12,8	21,2	8,6	23,1	6,8	35,7	29,7	1,1	49,6	1,7	26,2	32,6	12,0
	2004	11,1	33,8	89,7	9,4	5,1	15,3	1,0	9,6	21,5	7,3	21,1	8,0	34,0	32,7	1,2	27,4	1,6	30,1	32,7	19,4
NIR _{0,05} LSD _{0,05}	2000	13,31		7,72		0,51		0,09		1,30		1,83		9,28		0,42		0,49		18,43	
	2001	4,45		9,52		0,45		0,10		1,65		1,85		11,34		0,41		0,49		4,10	
	2002	5,38		6,95		0,45		0,08		1,63		1,97		9,03		0,44		0,86		6,12	
	2003	3,49		8,90		0,48		0,12		1,76		2,14		9,09		0,37		0,43		7,42	
	2004	r.n		9,77		0,56		0,10		1,74		1,92		8,30		0,40		0,43		6,20	

¹Liczba kłosek na 1 dm osadki kłosowej, ²Liczba ziarniaków na 1 kłosek, r.n. – Różnica nieistotna, ^{ABCP} Wynik istotnie różny od pszenicy Arda, Begra, CZR 1406, Panda przy p = 0,05

¹ Number of spikelets per 1dm of the spike rachis, ²Number of kernels per 1 spikelet, r.n. – Difference not significant, ^{ABCP} Result significantly different in relation to the wheat Arda, Begra, CZR 1406, Panda at p = 0.05

Tabela 2

Wartości istotnych współczynników korelacji liniowej dla badanych cech ilościowych linii F₅-F₉ *Ae. ventricosa* Tausch. × *Triticum* L. i *Ae. juvenalis* (Thell.) Eig. × *Triticum* L. oraz *Triticum aestivum* L. w latach 2000–2004

Significant values of correlation coefficients of the investigated quantitative traits of F₅-F₉ *Ae. ventricosa* Tausch. × *Triticum* L. and *Ae. juvenalis* (Thell.) Eig. × *Triticum* L. lines and *Triticum aestivum* L. for the years 2000–2004

Cechy Traits	Formy Forms	X ₂ Długość pędu głównego Length of main shoot (cm)	X ₃ Średnica 2-go międzywęzła Diameter of 2 nd bottom internode (mm)	X ₄ Długość osadki kłosowej (dm) Length of spike rachis (dm)	X ₅ Liczba kłosek w kłosie głównym Number of spikelets per main spike	X ₆ Zbitość kłosa głównego ¹ Density of spike ¹	X ₇ Liczba ziaren. w kłosie głównym Number of kernels in main spike	X ₈ Masa ziaren. z kłosa głównego Weight of kernels per main spike (g)	X ₉ Płodność kłosa głównego ² Fertility of main spike ²	X ₁₀ Masa tysiąca ziaren Weight of 1000 kernels (g)
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
X ₁	VGPP	0,320**		0,471**	0,239*	-0,207*				
	VGPA				0,208*					
	JCB			0,219*			0,342**	0,282**	0,333**	
	JCCPC	0,240*	0,262**	0,308**	0,363**		0,291**	0,224*	0,204*	
	Arda			0,287**	0,247*					
	Begra		0,488**	0,423**		-0,296**				
	CZR 1406	0,526**			0,309**	0,215*	0,276**	0,290**		
X ₂	Panda	0,653**			0,471**	0,372**	0,324**		0,234*	
	VGPP				0,519**	0,300**	0,284**	0,321**		
	VGPA			-0,207*		0,323**	0,235*		0,206*	-0,292**
	JCB		-0,200*	0,237*	0,211*					-0,466**
	JCCPC		-0,399**	-0,270**		0,275**		-0,265**		-0,267**
	Arda		-0,209*							-0,210*
	Begra				0,533**	0,424**	0,377**	0,246*	0,239*	-0,298**
X ₃	CZR 1406				0,499**	0,309**	0,289**			-0,216*
	Panda				0,542**	0,596**	0,397**		0,290**	
	VGPP			0,368**			0,268**	0,507**	0,203*	0,289**
	VGPA			0,231*		-0,199*	0,197*	0,401**	0,212*	0,496**
	JCB			0,420**	0,272**		0,396**	0,582**	0,336**	0,406**
	JCCPC			0,351**	0,314**		0,229*	0,232*		
	Arda				0,221*					0,209*
X ₄	Begra			0,352**		-0,339**				
	CZR 1406									0,317**
	Panda									
	VGPP				0,292**	-0,678**	0,346**	0,380**	0,252*	
	VGPA				0,344**	-0,782**	0,231*	0,524**		0,535**
	JCB				0,354**	-0,681**	0,593**	0,545**	0,541**	
	JCCPC				0,271**	-0,777**	0,571**	0,645**	0,515**	0,551**
X ₅	Arda				0,713**	-0,291**		0,200*		
	Begra				0,458**	-0,692**				-0,411**
	CZR 1406				0,522**	-0,507**	0,436**	0,410**	0,348**	
	Panda				0,403**	-0,707**	0,223*	0,257**		

c.d. Tabela 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
x ₅	VGPP					0,483**	0,427**	0,359**		
	VGPA					0,296**	0,407**	0,224*		
	JCB					0,432**	0,429**	0,258**		
	JCCPC					0,386**				
	Arda					0,444**	0,254*	0,285**		
	Begra					0,308**	0,529**	0,405**	0,281**	-0,416**
	CZR 1406					0,422**	0,332**	0,272**		
	Panda					0,351**	0,415**		0,222*	
x ₆	VGPP									
	VGPA							-0,367**		-0,488**
	JCB						-0,243*	-0,339**	-0,413**	-0,318**
	JCCPC						-0,508**	-0,619**	-0,575**	-0,589**
	Arda									0,381**
	Begra						0,286**	0,348**	0,208*	
	CZR 1406								-0,280**	
	Panda									-0,235*
x ₇	VGPP							0,678**	0,909**	
	VGPA							0,594**	0,960**	
	JCB							0,831**	0,949**	
	JCCPC							0,834**	0,976**	0,319**
	Arda							0,890**	0,976**	
	Begra							0,887**	0,960**	
	CZR 1406							0,865**	0,961**	
	Panda							0,673**	0,977**	
x ₈	VGPP								0,591**	0,413**
	VGPA								0,589**	0,614**
	JCB								0,826**	0,522**
	JCCPC								0,843**	0,632**
	Arda								0,863**	
	Begra								0,882**	
	CZR 1406								0,848**	
	Panda								0,691**	0,253*
x ₉	VGPP									
	VGPA									0,214*
	JCB									0,205*
	JCCPC									0,342**
	Arda									
	Begra									
	CZR 1406									
	Panda									0,208*

x₁ — Liczba pędów produkcyjnych, ¹ liczba kłosek na 1 dm osadki kłosowej, ² liczba ziarniaków na 1 kłosek, * p≤0,05, ** p≤0,01

x₁ — Number of productive shoots, ¹ number of spikelets per 1 dm of spike rachis, ² number of kernels per 1 spikelet, * p≤0,05, ** p≤0,01

Odmiany pszenicy heksaploidalnej odporne na wyleganie wyróżniają się większą średnicą 2. od dołu międzywęźla (Doliński, 1986). Grubość międzywęźli u pszenic i ich mieszańców badanych przez Dolińskiego (1995) wahała się od 3,0 do 4,1 mm. W badaniach własnych, w kolejnych pokoleniach F₅–F₉ wraz ze zmniejszeniem średniej długości pędów poszczególnych linii stwierdzono zwiększenie średnicy ich międzywęźli, a to dzięki ujemnej korelacji tych cech (tab. 2). Linia VGPP zwiększył średnicę 2-go od

dołu międzywęźla z 3,9 do 5,1 mm, VGPAA — z 4,1 do 5,4 mm, JCB — z 3,9 do 4,9 mm, JCCPC — z 4,1 do 4,7 mm (tab. 1). Zmienność tej cechy u linii i odmian pszenicy była podobna i wahała się od kilku do kilkunastu procent (tab. 1). Poza tym, głównie u linii, wystąpiły istotne dodatnie korelacje pomiędzy średnicą 2. od dołu międzywęźla a długością osadki kłosowej, liczbą i masą ziarniaków w kłosie głównym, płodnością i masą 1000 ziarniaków (tab. 2). Stefanowska (1995) odnotowała największą średnicę 2. od dołu międzywęźla u mieszańca F_1 [*Ae. ventricosa* Tausch. $\times$ Grandur) $\times$ Panda] $\times$ Panda (4,4 mm). Pozostałe mieszańce F_1 – F_3 pszenicy z *Ae. ventricosa* Tausch. i *Ae. juvenalis* (Thell.) Eig. charakteryzowały się mniejszą średnicą 2. od dołu międzywęźla (od 2,5 do 3,8 mm).

Długość osadek kłosowych linii *Aegilops* L. $\times$ *Triticum* L. była zróżnicowana (rys. 3). Z dokonanych pomiarów wynikało, że osadki kłosowe linii osiągały długość 1,0 dm (tab. 1). Osadki kłosowe niektórych linii były istotnie krótsze od osadek pszenic, np. osadki JCCPC od pszenic CZR 1406 i Panda, osadki VGPP od pszenicy Panda (tab. 1). Po 5 latach średnia długość osadek kłosowych linii VGPP i JCB prawie się nie zmieniła, natomiast wzrosła w przypadku linii VGPAA i JCCPC — z 0,8 do 1,0 dm (tab. 1). Zmienność tej cechy wahała się od kilku do kilkunastu procent i była u linii nieco większa niż u pszenic (tab. 1). W badaniach Stefanowskiej (1995) mieszańiec F_1 [*Ae. ventricosa* Tausch. $\times$ Grandur) $\times$ Panda] $\times$ Panda miał osadki kłosowe długości 1,16 dm, a pozostałe mieszańce F_1 – F_3 pszenicy z *Ae. ventricosa* Tausch. i *Ae. juvenalis* (Thell.) Eig. charakteryzowały się osadkami długości 0,69–0,90 dm. Pilch i Głowacz (1997) wyselekcjonowali mieszańce pszenicy z *Ae. speltoides* Tausch. i *Ae. triumvidis* L. o bardzo długich kłosach. Długość osadki kłosowej jest uwarunkowana przez wiele genów, z których największy wpływ mają geny położone na chromosomach genomów A i B, tj. 1AL, 1BS, 4AL, 7AL i 7BL. Występuje sprzężenie z genami wysokiej liczby kłosek w kłosie zlokalizowanymi na chromosomie 7AL (Li i in., 2002). U *T. aestivum* L. na krótkim ramieniu chromosomu 3D znajduje się gen łamliwości osadki kłosowej Br_1 podobny do Br^f *Ae. tauschii* (Coss.) Schmal., kozińca, który był dawcą genomu D dla pszenicy (Watanabe i in., 2006). W przypadku wszystkich badanych linii i odmian odnotowano istotną dodatnią korelację pomiędzy długością osadki kłosowej a liczbą kłosek w kłosie głównym oraz ujemną pomiędzy długością osadki a zbitością kłosa głównego (tab. 2). Głównie u linii wystąpiła istotna dodatnia korelacja pomiędzy długością osadki kłosowej a liczbą ziarniaków w kłosie głównym, ich masą, płodnością kłosa głównego i masą 1000 ziarniaków. Podobna zależność wystąpiła w badaniach Gruszeckiej (1997) u mieszańców pszenżyta.

Najczęściej liczba kłosek w kłosie głównym linii F_5 – F_9 nie różniła się istotnie od liczby kłosek pszenic. Takie istotne różnice wystąpiły w pokoleniu F_5 , wówczas linie VGPP i VGPAA miały istotnie mniejszą liczbę kłosek od pszenicy Panda oraz w pokoleniu F_8 , gdy z powodu ostrej zimy, linie VGPP, VGPAA i JCB wytworzyły istotnie mniej kłosek od pszenic Panda i Begra (tab. 1). Średnia liczba kłosek w kłosach poszczególnych linii wahała się od 18,6 do 23,7 (tab. 1). Zmienność tej cechy wynosiła najczęściej kilka procent. Jedynie w pokoleniu F_9 u linii VGPAA i JCB wyniosła 12,5 i 14,2% (tab. 1). W badaniach Stefanowskiej (1995) liczba kłosek w kłosach mieszańców F_1 – F_3 pszenicy z *Ae. ventricosa* Tausch. wahała się od 9,85 do 23,00, a w kłosach

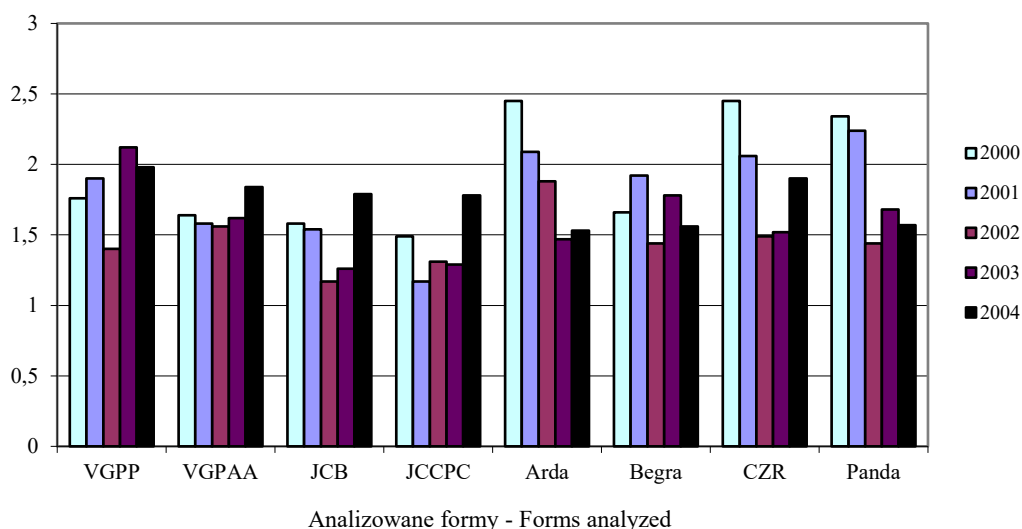
mieszańców pszenicy z *Ae. juvenalis* (Thell.) Eig. od 13,10 do 15,60. Pilch (1997) odnotował 28 kłosek w kłosie głównym mieszańców pszenicy z *Ae. speltoides* Tausch., według niego liczba kłosek w kłosie jest dodatnio skorelowana z jego długością. Podobna korelacja wystąpiła w badaniach własnych (tab. 2). Duża liczba kłosek w kłosie związana jest z chromosomami *2DS* i *7DL* i dominującym efektem genu *Ppd-D1* niewrażliwości fotoperiodycznej położonym również na chromosomie *2DS* (Li i in., 2002). W przypadku większości badanych linii i odmian liczba kłosek w kłosie była dodatnio skorelowana również ze zbitością kłosa, liczbą i masą ziarniaków z kłosa głównego (tab. 2).

Cechą wpływającą na plonowanie, oprócz długości osadki kłosowej, jest zbitość kłosa (Tarkowski, 1995). U pszenicy istnieje ujemna korelacja między zbitością kłosa a masą ziarniaków. Ujemną korelację pomiędzy tymi cechami odnotowano również w badaniach własnych (tab. 2). Odmiany o zbitym kłosie mają często drobne ziarniaki i odwrotnie o kłosie luźnym — grube, dorodne (Tarkowski, 1995). W roku 2000 najbardziej zbite kłosy miały linie F₅ JCCPC — 23,6 i VGPA — 23,4. Odmiany Begra, Panda i linia CZR 1406 oraz pozostałe linie pokolenia F₅ miały kłosy średnio zbite (19,0–22,1) (tab. 1). Według Stefanowskiej (1995) kłosy mieszańców F₁–F₃ pszenicy z *Ae. ventricosa* Tausch. i *Ae. juvenalis* (Thell.) Eig. były nieco luźniejsze niż kłosy pszenic. W badaniach własnych niektóre linie miały kłosy istotnie bardziej zbite od pszenic. W kolejnych latach badań zbitość kłosa linii wahała się od 18,1 do 28,8, a pszenic od 19,6 do 25,2 (tab. 1). Współczynnik zmienności tej cechy u pszenic nie przekroczył 9,6%, natomiast u linii F₅–F₉ wahał się od 4,8 do 22,6% (tab. 1).

Liczba ziarniaków w kłosie głównym uzależniona jest od długości kłosa, jego zbitości i płodności. Jest to cecha, która ulega dość dużym wahaniom pod wpływem warunków środowiska (Stefanowska, 1995). Z badań Pilcha (1997) wynika, że u niektórych form mieszańcowych pszenicy z gatunkami *Aegilops* L. masa ziarna z kłosa sięgała 4,6 g, a ich liczba dochodziła do 135. Duże ziarniaki występowały u mieszańców pszenicy z *Ae. speltoides* Tausch., natomiast znacznie mniejsze — u mieszańców pszenicy z *Ae. triumvidis* L. i *Ae. squarrosa* L. W badaniach Tyrki i Stefanowskiej (2001) liczba ziarniaków w kłosie głównym mieszańców z *Ae. ventricosa* Tausch. była zbliżona do liczby ziarniaków pszenic, natomiast w przypadku mieszańców z *Ae. juvenalis* (Thell.) Eig. — była mniejsza od pszenic. W badaniach własnych linie F₅ miały istotnie mniej ziarniaków z kłosa głównego (30,7–37,3) od pszenic Arda, Panda i CZR 1406 (50,2–52,2) (tab. 1). W pokoleniu F₉ liczba ziarniaków w kłosie głównym linii nieco się zwiększyła i wyniosła 36,4–43,8, a w kłosie pszenic — spadła do 32,4–37,1 (tab. 1). Współczynnik zmienności dla tej cechy w liniach wahał się od 10,3 do 43,8%, a w pszenicach od 18,0 do 39,1% (tab. 1). Odnotowano istotne dodatnie korelacje pomiędzy liczbą ziarniaków z kłosa głównego a masą ziarniaków z kłosa i płodnością. W przypadku linii JCCPC istotna dodatnia korelacja wystąpiła również pomiędzy liczbą ziarniaków z kłosa głównego a masą 1000 ziarniaków (tab. 2). W badaniach przeprowadzonych przez Dolińskiego (1995) liczba ziarniaków w kłosach pszenic i ich mieszańców wahała się od 37,0 do 60,2, przy czym u mieszańców było ich mniej niż u form rodzicielskich.

W liniach F₅ masa ziarniaków z kłosa głównego była istotnie mniejsza od pszenic i wahała się od 0,9 do 1,2 g (tab. 1). W kolejnych pokoleniach masa ziarniaków linii była najczęściej istotnie mniejsza od masy ziarniaków pszenic. W pokoleniu F₉ średnia wartość tej cechy u mieszańców znacznie wzrosła do 1,5–1,7 g przewyższając średnią masę ziarniaków pszenic (1,1–1,4 g). Współczynnik zmienności dla tej cechy w liniach wahał się od 24,0 do 58,9%, a w pszenicach od 21,6 do 49,6%. Masa ziarniaków z kłosa głównego linii i odmian pszenicy była istotnie dodatnio skorelowana z płodnością kłosa głównego, a u linii i pszenicy Panda — również z masą 1000 ziarniaków (tab. 2).

U analizowanych we wcześniejszych badaniach (Prażak, 1992) dziewiętnastu gatunków *Aegilops* L. masa ziarniaków z kłosa wynosiła od 0,09 do 0,41 g. Niekorzystne dzikie cechy początkowych pokoleń mieszańców pszenicy z gatunkami *Ae. ventricosa* Tausch. i *Ae. juvenalis* (Thell.) Eig. (łamliwość osadki kłosowej, brunatna barwa plew i źdźbeł po dojrzeniu) były stopniowo eliminowane (Stefanowska, 1995; Stefanowska i in., 1995; Prażak, 1997). Jak pokazały badania Tyrki i Stefanowskiej (2001) pokolenia F₄–F₆ mieszańców pszenicy z gatunkami *Ae. ventricosa* Tausch. i *Ae. juvenalis* (Thell.) Eig. zbliżały się pod względem masy ziarniaków z kłosa do odmian pszenicy. W badaniach własnych płodność linii F₅ była istotnie mniejsza od płodności pszenic (tab. 1, rys. 1). W kolejnych pokoleniach odnotowano wzrost płodności linii z 1,5–1,8 do 1,8–2,0 (tab. 1, rys. 1).

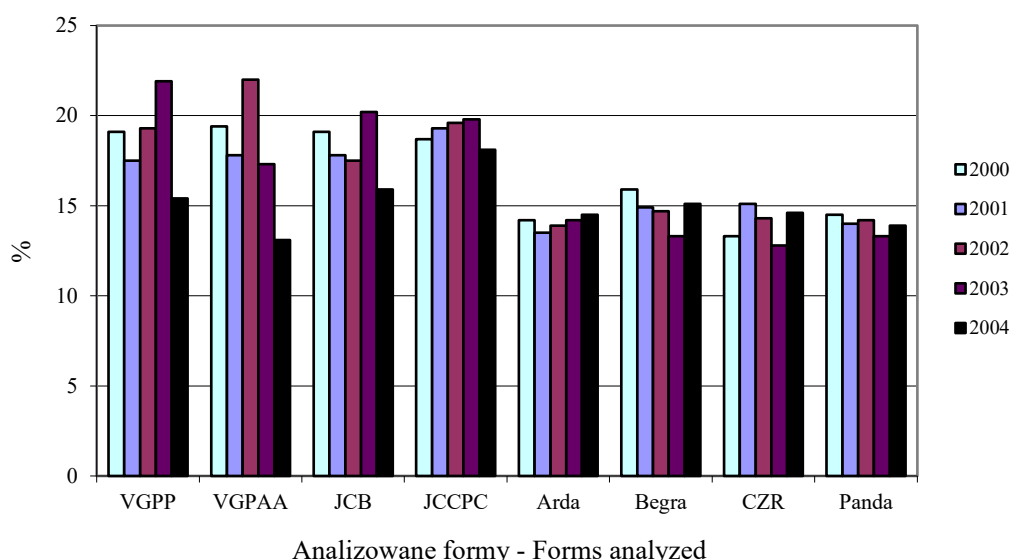


Rys. 1. Płodność kłosa głównego linii F₅–F₉ *Ae. ventricosa* Tausch. × *Triticum* L. i *Ae. juvenalis* (Thell.) Eig. × *Triticum* L. oraz pszenic *T. aestivum* L. w latach 2000–2004
 Fig. 1. Main spike fertility of F₅–F₉ *Ae. ventricosa* Tausch. × *Triticum* L. and *Ae. juvenalis* (Thell.) Eig. × *Triticum* L. lines and *T. aestivum* L. wheats for the years 2000–2004

Płodność linii F₉ JCB była nawet istotnie większa od pszenicy Begra (tab. 1). Wartość współczynnika zmienności dla tej cechy wahała się w liniach od 7,9 do 42,2%, a

w pszenicach od 14,6 do 43,9% (tab. 1). U linii VGPA, JCB, JCCPC i pszenicy Panda odnotowano istotną dodatnią korelację pomiędzy płodnością a masą 1000 ziarniaków (tab. 2).

Duże znaczenie dla dobrego plonowania zbóż ma masa 1000 ziarniaków. W hodowli zbóż prowadzi się selekcję w kierunku otrzymania odmian o kłosie długim, zbitym i dużej masie ziarniaków (Tarkowski, 1995). Według Tarkowskiego (1978) i Dolińskiego (1995) masa 1000 ziarniaków należy u zbóż do cech najbardziej skorelowanych z plonem ziarna i jest w wysokim stopniu odziedziczalna. Węgrzyn i wsp. (2002) zaliczają masę 1000 ziarniaków, podobnie jak długość pędu głównego, do cech o odziedziczalności od średnio wysokiej (0,47) do wysokiej (0,93). Drozd i Jedyński (1997) oszacowali wartość współczynnika odziedziczalności dla masy 1000 ziarniaków na 0,49–0,60. Z badań Tyrki i Stefanowskiej (2001) wynika, że rośliny mieszańcowe pszenicy z *Ae. ventricosa* Tausch. i *Ae. juvenalis* (Thell.) Eig. charakteryzowały się większym zakresem zmienności masy 1000 ziarniaków od pszenic ozimych. Według autorów masa 1000 ziarniaków mieszańców wyniosła 21,6–52,1 g, a pszenic 32,6–42,7 g. W badaniach własnych w okresie 5 lat wartość masy 1000 ziarniaków wzrosła u badanych linii z 23,9–32,5 g do 34,7–43,8 g (tab. 1). Współczynnik zmienności tej cechy w liniach F₅–F₉ wahał się od 12,0 do 23,4%, a w pszenicach od 6,8 do 23,4%.



Rys. 2. Zawartość białka ogółem w ziarnie linii F₅–F₉ *Ae. ventricosa* Tausch. × *Triticum* L. i *Ae. juvenalis* (Thell.) Eig. × *Triticum* L. oraz pszenic *T. aestivum* L. w latach 2000–2004
 Fig. 2. Total protein contents in grain of F₅–F₉ *Ae. ventricosa* Tausch. × *Triticum* L. and *Ae. juvenalis* (Thell.) Eig. × *Triticum* L. lines and *T. aestivum* L. wheats for the years 2000–2004



Rys. 3. Kłosy linii *Aegilops* L. × *Triticum* L. i ich komponentów rodzicielskich (od lewej): JCB, JCCPC, VGPP, VGPAA, *Ae. juvenalis* (Thell.) Eig., *Ae. ventricosa* Tausch., *T. durum* Desf. cv. Grandur, *T. aestivum* L. cv. Arda, *T. aestivum* L. cv. Begra, *T. aestivum* L. CZR 1406, *T. aestivum* L. cv. Panda

Fig. 3. Spikes of *Aegilops* L. × *Triticum* L. lines and their parental components (from the left): JCB, JCCPC, VGPP, VGPAA, *Ae. juvenalis* (Thell.) Eig., *Ae. ventricosa* Tausch., *T. durum* Desf. cv. Grandur, *T. aestivum* L. cv. Arda, *T. aestivum* L. cv. Begra, *T. aestivum* L. CZR 1406, *T. aestivum* L. cv. Panda



Rys. 4. Ziarniaki linii *Aegilops* L. × *Triticum* L. i ich komponentów rodzicielskich: górny rząd (od lewej) - JCB, JCCPC, VGPP, VGPAA, dolny rząd (od lewej) - *T. durum* Desf. cv. Grandur, *T. aestivum* L. cv. Arda, *T. aestivum* L. cv. Begra, *T. aestivum* L. CZR 1406, *T. aestivum* L. cv. Panda

Fig. 4. Kernels of *Aegilops* L. × *Triticum* L. lines and their parental components: upper row (from the left) - JCB, JCCPC, VGPP, VGPAA, lower row (from the left) - *T. durum* Desf. cv. Grandur, *T. aestivum* L. cv. Arda, *T. aestivum* L. cv. Begra, *T. aestivum* L. CZR 1406, *T. aestivum* L. cv. Panda

Zawartość białka ogółem w ziarnie linii F₅–F₉ wahała się od 13,1 do 22,0%, a w ziarnie pszenic od 12,8 (CZR 1406) do 15,9% (Begra) (rys. 2). Średnia zawartość białka ogółem w ziarnie z 5 lat badań wyniosła dla linii F₅–F₉ 18,44%, a dla pszenic 14,21%. W badaniach Subdy i wsp. (2002) średnia zawartość białka ogółem w ziarnie pszenicy Begra wyniosła 14,2%. Stefanowska i wsp. (1995) określili zawartość białka ogółem w ziarniakach pszenicy CZR 1406 na 13,42%. Gatunki *Aegilops* L. wykorzystane jako formy mateczne analizowanych mieszańców charakteryzowały się wysoką zawartością białka ogółem (*Ae. juvenalis* (Thell.) Eig. — 25,79%, *Ae. ventricosa* Tausch. — 22,30%) (Prażak, 2004).

W pokoleniach F₅–F₈ zawartość białka ogółem w ziarnie linii VGPP, VGPA, JCB i JCCPC wyniosła 17,3–22,0%. Natomiast w pokoleniu F₉ wartość tej cechy u linii obniżyła się do 13,1–18,1%, mimo wzrostu masy 1000 ziarniaków (tab. 1, rys. 2). Prawdopodobnie jest to związane z ujemną korelacją pomiędzy masą 1000 ziarniaków a zawartością białka w ziarnie. Czasami udaje się przełamać tę ujemną korelację, np. uzyskano wydajne odmiany pszenicy o wysokiej zawartości białka w ziarnie dzięki wprowadzonym genom z *T. dicoccoides* L. (Levy i Feldman, 1987; Vallega, 1992). Potwierdzeniem tego, może być również wysoka zawartość białka ogółem w ziarnie linii F₉ JCCPC — 18,1% (rys. 2), przy jednocześnie wyższej od pszenic masie 1000 ziarniaków (tab. 1).

WNIOSKI

1. Pod względem liczby pędów produkcyjnych, długości pędu głównego, średnicy 2-go od dołu międzywęźla, długości osadki kłosowej, liczby kłosek w kłosie głównym i zbitości linii F₅–F₉ *Aegilops* L. × *Triticum* L. najczęściej nie różniły się istotnie od pszenic, co może świadczyć o eliminacji większości dzikich genów kozieńców z ich genomów. Odnotowano jednak jeszcze dużą zmienność cech ilościowych badanych linii wyrażającą się poprzez wysokie wartości współczynników zmienności wewnątrzliniowej nawet w pokoleniu F₉.
2. Selekcja linii F₅–F₉ *Aegilops* L. × *Triticum* L. na takie cechy jak niski wzrost i wysoka masa 1000 ziarniaków, wpłynęła na zmniejszenie się wysokości roślin mieszańcowych i na zwiększenie się średnicy 2. od dołu międzywęźla, liczby i masy ziarniaków z rośliny, płodności kłosa głównego oraz masy 1000 ziarniaków.
3. W liniach F₅–F₉ *Aegilops* L. × *Triticum* L. występowały najczęściej podobne korelacje fenotypowe jak w pszenicach. Do wyjątków należały odnotowane w liniach, a niewystępujące w pszenicach, ujemne korelacje pomiędzy długością pędu głównego a długością osadki kłosowej oraz pomiędzy zbitością kłosa głównego a liczbą i masą ziarniaków z kłosa głównego.
4. Wyższa w porównaniu do pszenic zawartość białka w ziarniakach linii F₅–F₉ *Aegilops* L. × *Triticum* L. świadczy o obecności w nich genów wysokiej zawartości białka przeniesionych z dzikich gatunków kozieńców.

LITERATURA

- Chełkowski J., Stepień Ł., Błaszczyk L. 2004. Możliwości wykorzystania markerów DNA w hodowli odpornościowej pszenicy. *Hod. Rośl. Nasien.* 2: 8 — 13.
- Doliński R. 1986. Wpływ środowiska na parametry mechaniczne i cechy geometryczne źdźbła 14 odmian pszenicy ozimej. *Hodowla pszenicy. Prace Grupy Problemowej w 1984 r. IHAR Radzików*: 47 — 69.
- Doliński R. 1995. Zmienność, odziedziczalność i współzależność właściwości mechanicznych i cech morfologicznych źdźbła pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum* L.) warunkujących odporność na wyleganie. *Rozprawy Naukowe. Wyd. AR w Lublinie*.
- Drozd D., Jedyński S. 1997. Porównanie kilku metod szacowania odziedziczalności cech użytkowych pszenicy jarej. *Biul. IHAR* 203: 37 — 40.
- Gruszecka D. 1997. Zmienność i współzależność między niektórymi cechami ilościowymi mieszańców pszenżyta (8× x 6×) oraz form rodzicielskich. *Biul. IHAR* 203: 105 — 121.
- Kimber G., Feldman M. 1987. *Wild Wheat: An Introduction*. College of Agriculture, University of Missouri, Columbia, Special Report 353: 1 — 146.
- Levy A. A., Feldman M. 1987. Increase in grain protein percentage in high-yielding common wheat breeding lines by genes from wild tetraploid wheat. *Euphytica* 36: 353 — 359.
- Li W. L., Nelson J. C., Chu C. Y., Shi L. H., Huang S. H., Liu D. J. 2002. Chromosomal locations and genetic relationships of tiller and spike characters in wheat. *Euphytica* 125: 357 — 366.
- Miller T., Hutchinson E., Chapman V. 1982. Investigation of a preferentially transmitted *Aegilops sharonensis* chromosome in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 61: 27 — 33.
- Prażak R. 1992. Cechy morfologiczne gatunków rodzaju *Aegilops* oraz pszenicy ozimej odmiany Rusalka. *Biul. IHAR* 183: 107 — 117.
- Prażak R. 1997. Charakterystyka morfologiczna mieszańców F₁ *Triticum aestivum* L. i *Triticum durum* Desf. z wybranymi gatunkami *Aegilops* sp. *Biul. IHAR* 204: 33 — 42.
- Prażak R. 2004. Porównanie zawartości białka w ziarnie gatunków *Aegilops* i *Triticum*. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 497: 509 — 516.
- Pilch J. 1997. Performance of interspecific and intergeneric hybrids of *Triticum aestivum* L. for wheat improvements. *Plant Breeding and Seed Sci.* 41/1: 3 — 15.
- Pilch J. 2002. Wartość technologiczna introgresywnych form pszenicy ozimej (*Triticum aestivum* L.). *Biul. IHAR* 223/224: 95 — 109.
- Pilch J. 2003. Wpływ genomów A, B *Triticum durum* Desf. na wartość technologiczną ziarna pszenicy ozimej *Triticum aestivum* L. *Biul. IHAR* 230: 43 — 54.
- Pilch J., Głowacz E. 1997. Międzygatunkowe i międzyrodzajowe krzyżowania jako sposób ulepszania cech kłosa w hodowli pszenicy heksaploidalnej *Triticum aestivum* L. *Biul. IHAR* 204: 15 — 31.
- Stefanowska G. 1995. Charakterystyka niektórych cech morfologicznych i plonotwórczych mieszańców *Triticum aestivum* L. z *Aegilops juvenalis* (Thell.) Eig. i z *Aegilops ventricosa* Tausch. *Biul. IHAR* 194: 35 — 43.
- Stefanowska G., Prażak R., Strzembicka A., Masłowski J. 1995. Transfer genów z *Aegilops ventricosa* Tausch. i *Aegilops juvenalis* (Thell.) Eig. do *Triticum aestivum* L. *Biul. IHAR* 194: 45 — 52.
- Subda H., Jarosławska A., Unton A., Karolini-Skaradzińska Z. 2002. Ocena wpływu wybranych cech chemicznych pszenicy ozimej na jakość ciasta i chleba. *Biul. IHAR* 223/224: 111 — 119.
- Sulewska H., Nita Z., Kruczek A. 2005. Zróżnicowanie cech jakościowych wybranych genotypów orkiszu (*Triticum aestivum* ssp. *spelta* L.). *Biul. IHAR* 235: 65 — 74.
- Tarkowski Cz. 1978. Czynniki warunkujące produktywność roślin. PWN, Warszawa.
- Tarkowski Cz. 1994. Przewodnik do ćwiczeń z genetyki, hodowli roślin i nasiennictwa. Wyd. AR w Lublinie.
- Tarkowski Cz. 1995. Genetyka, hodowla roślin i nasiennictwo. Wyd. AR w Lublinie.
- Tarkowski Cz., Masłowski J., Gruszecka D. 1994. The influence of wheat chromosome 1B1/IRS on toxic activity of aluminium ions. First Intern. Sem. "Cereals-Pathogen and Stress Factors Interactions". Poznań: 80.
- Tyrka M., Stefanowska G. 2001. Ocena zróżnicowania cech plonotwórczych mieszańców *Aegilops juvenalis* i *Aegilops ventricosa* z pszenicą. *Biul. IHAR* 218/219: 57 — 68.

- Vallega V. 1992. Agronomic performance and breeding value of selected strains of diploid wheat *Triticum monococcum*. Euphytica 16: 13 — 23.
- Watanabe N., Fuji Y., Kato N., Ban T., Martinek P. 2006. Microsatellite mapping of the genes for brittle rachis on homoeologous group 3 chromosomes in tetraploid and hexaploid wheats. J. Appl. Genet. 47 (2): 93 — 98.
- Węgrzyn S., Waga J. 1999. Powiązanie białek gluteninowych ze zmiennością ważniejszych cech użytkowych odmian i rodów pszenicy ozimej. Biul. IHAR 211: 55 — 69.
- Węgrzyn S., Wojas T., Śmiałowski T. 2002. Uwarunkowania genetyczne oraz współzależność plonu i wybranych cech użytkowych pszenicy ozimej (*Triticum aestivum* L.). Biul. IHAR 223/224: 77 — 86.
- Wojas T., Węgrzyn S. 2001. Źródła genetyczne cech użytkowych pszenicy ozimej (*Triticum aestivum* L.) w kolekcji roboczej Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin. Biul. IHAR 218/219: 39 — 48.

WIESŁAW MĄDRY ¹
DARIUSZ GOZDOWSKI ¹
JAN ROZBICKI ²
MIROSŁAW POJMAJ ³
STANISŁAW SAMBORSKI ²

¹ Katedra Biometrii, SGGW, Warszawa

² Katedra Agronomii, SGGW, Warszawa

³ Hodowla Roślin Danko Sp. z o.o., z/s w Choryni, Oddział Laski

Formowanie się plonu ziarna przez jego składowe u rodów hodowlanych pszenżyta ozimego w różnych warunkach środowiskowych

Grain yield formation strategies in advanced lines of winter triticales grown in different environments

W pracy przedstawiono ocenę 40 rodów hodowlanych pszenżyta ozimego pod względem plonu ziarna i trzech jego składowych (liczby kłosów na jednostce powierzchni, liczby ziaren w kłosie oraz średniej masy ziarniaka, MTZ) na podstawie serii doświadczeń przedrejestranych w trzech miejscowościach: Dębinie Laskach i Sobiejuchach w jednym sezonie wegetacyjnym. Badania były ukierunkowane na wielocechową charakterystykę różnych rodzajów architektury składowych plonu u rodów, określających ich strategię formowania się plonu ziarna. W środowisku każdej miejscowości wydzielono grupy (skupienia) rodów o podobnych wartościach składowych plonu. Układy wartości tych składowych u rodów w każdej grupie w danym środowisku opisują ilościowe strategię formowania się plonu ziarna przez rozpatrywane składowe. Różnorodność strategii formowania się plonu przedstawiono za pomocą analizy składowych głównych, jako metody do wielocechowej oceny podobieństwa i niepodobieństwa badanych obiektów. W każdym środowisku rody różniły się znacząco pod względem składowych plonu, natomiast ich zmienność plonu ziarna była relatywnie niewielka, z powodu kompensacji liczby kłosów na m² i liczby ziaren w kłosie. Ilościowe strategię formowania się plonu ziarna pszenżyta ozimego przez składowe plonu podlegają interakcji GE, która może utrudniać wybór kryteriów selekcji, uwzględniających jednocześnie trzy składowe plonu. Najwyższe plony ziarna rodów były zwykle uwarunkowane przez relatywnie wysokie wartości jednocześnie dwóch składowych plonu, przy niezbyt dużej redukcji trzeciej składowej, nie zaś przez zrównoważony układ poziomów wszystkich trzech składowych.

Słowa kluczowe: analiza składowych głównych, analiza skupień, plon ziarna, pszenżyto ozime, rody hodowlane, składowe plonu, stacje doświadczalne, wielocechowa różnorodność

The studies were focused on the evaluation of 40 advanced lines of winter triticales for grain yield (per m²) and its three components (spikes per m², grains per spike and TGW), using the data from pre-

registration yield trials performed at three locations: Dębina, Laski and Sobiejuchy. The investigations were aimed at multivariate assessment of distinct yield component architectures in the lines, describing their quantitative yield formation strategies. At each location, clusters of lines with similar values of the yield components were distinguished. Similar combinations of the all yield component levels in each lines group under an environment describe a distinct quantitative strategy of grain yield formation among the lines, as expressed by the levels of the considered yield-contributing traits under the environment. Diversity of the yield formation strategies among the lines was studied using PCA as an ordination method. In each environment the lines were substantially variable for the yield components, while their variation for grain yield was relatively lesser due to the compensation between spikes per m² and grains per spike. The strategies of grain yield formation in terms of the yield components in the winter triticale genotypes are affected by the genotype × environment interaction. This fact can make rather difficult to determine selection criterions as based on three yield components. The highest grain yields were determined by relatively high values of the two yield components, at not substantially reduced the third yield component, rather than by the balanced system of all the three component levels.

Key words: cluster analysis, grain yield, multivariate diversity, principal component analysis, quantitative yield formation strategy, yield component architecture, test locations, winter triticale

WSTĘP

Plon ziarna zbóż z jednostki powierzchni może być analizowany jako iloczyn trzech podstawowych jego składowych, tj. liczby kłosów na jednostce powierzchni, liczby ziaren w kłosie oraz średniej masy ziarniaka (MTZ). Składowe plonu rozwijają się sekwencyjnie, kształtujące się później składowe są determinowane przez te, które formują się wcześniej (Garcia del Moral i in., 1991, 2003; Dofing i Knight, 1992; Simane i in., 1993; Rozbicki, 1997; Royo i in., 1999; Moragues i in., 2006). Warunki środowiskowe znacząco wpływają na składowe plonu, zmieniając charakter kompensacji między nimi oraz genotypowe zależności plonu ziarna od jego składowych (Yan i Wallace, 1995; Giunta i in., 1999; Garcia del Moral i in., 2005; Allaru i in., 2004; Mądry i in., 2007; Vargas i in., 2007). Bardzo ważna dla kształtowania się składowych plonu zbóż jest dostępność wody dla roślin w glebie. Przy niedoborze wody, stres suszy może powodować znaczną redukcję wszystkich składowych plonu, w proporcjach zależnych od genotypów (Giunta i in., 1993; van Oosterom i in., 1993, 2003; van Ginkel i in., 1998; Abayomi i Wright, 1999; Chmielewski i Koln, 2000; Duggan i in., 2000; Gonzalez i in., 2007).

Wpływ warunków środowiskowych na kształtowanie się plonu różnych genotypów (odmian, rodów hodowlanych itp) jest zwykle zróżnicowany, co objawia się w postaci interakcji genotypowo-środowiskowej (interakcji GE), czyli zróżnicowania kształtu reakcji plonowania genotypów na zmienne warunki środowiskowe (Annicchiarico, 2002; de la Vega i in., 2002; Mądry, 2004). W celu wzbogacenia podstaw efektywniejszego wykorzystania interakcji GE w pracach hodowlanych i uprawie roślin, prowadzi się badania nad uwarunkowaniem tej interakcji przez fizjologiczne cechy plonotwórcze (zwłaszcza składowych plonu) genotypów w obrębie danej puli genowej i rejonie uprawy (van Oosterom i in., 2003; van Ginkel i in., 1998; Khanna-Chopra i Viswanathan, 1999; Yan i Wallace 1995, Epinat-Le Signor i in. 2001, Motzo i in., 2001; de la Vega i in., 2002; Dhungana i in., 2007; Vargas i in., 2007). Jednym z podejść do takich badań jest poznanie genotypowej różnorodności rodzajów architektury składowych plonu u rodów,

określających ilościowe strategie formowania się plonu przez jego składowe w zmiennych warunkach środowiskowych (Grunta, 1993; Yan i Wallace, 1995; Giunta i in., 1999; Yan i Hunt, 2001; de la Vega i in., 2002; Lafitte i Courtois, 2002; van Oosterom i in., 2003, 2006; Allaru i in., 2004; Moragues i in., 2006). Ilościową strategię formowania się plonu przez jego składowe u danego genotypu w jednym środowisku określamy jako układ poziomów trzech podstawowych składowych plonu (kombinację poziomów tych składowych), ukształtowany przez dany genotyp w trakcie ontogenezy (Yan i Wallace, 1995; van Oosterom i in., 2003, 2006).

Analiza porównawcza i grupowanie podobnych ilościowych strategii formowania się plonu genotypów w różnych środowiskach ułatwia szukanie związku między modelem plonowania genotypów, a ich stabilnością plonowania i zdolnością adaptacyjną do zmiennych środowisk. Na tej podstawie można wskazać ideotypy genotypów o szerokiej adaptacji, jak i o wąskiej adaptacji (Bidinger i in., 1987; Giunta i in., 1993; van Oosterom i in., 1993, 2003, 2006; Yan i Wallace, 1995; Van Ginkel i in., 1998; Duggan i in., 2000; Yan i Hunt, 2001; de la Vega i in., 2002; Lafitte i Courtois, 2002; Vargas i in., 2007). Wdrożenie tej wiedzy może poprawić skuteczność hodowli i rejonizacji odmian o szerokiej lub wąskiej adaptacji w rejonie uprawy (van Ginkel i in., 1998; Yan i Wallace, 1995; Duggan i in., 2000; Epinat-Le Signor i in., 2001; Yoshihira i in., 2002, 2004; de la Vega i in., 2002; Dhungana i in., 2007; Vargas i in., 2007).

Grupowanie genotypów o podobnych ilościowych strategiach formowania się plonu w poszczególnych środowiskach oraz charakterystyka różnorodności tych grup mogą być efektywnie przeprowadzone za pomocą wielocechowych metod statystycznych (Motzo i in., 2001; de la Vega i in., 2002; Lafitte i Courtois, 2002; Santiveri i in., 2002; Leilah i Al-Khateeb, 2005; Moragues i in., 2006; van Oosterom i in., 2006; Royo i in., 2007). Cel pracy, stanowiącej kontynuację badań przedstawionych w pracy Mądrego i wsp. (2007), obejmował:

- ocenę 40 rodów hodowlanych pszenżyta ozimego pod względem plonu i trzech jego składowych na podstawie serii doświadczeń przedrejestrów w trzech miejscowościach, ukierunkowaną na wielocechową charakterystykę różnych rodzajów architektury składowych plonu u rodów, określających ich strategie formowania się plonu ziarna,
- wydzielenie, w każdym środowisku, grup rodów o podobnych ilościowych strategiach formowania się plonu przez jego składowe i określenie różnorodności tych strategii, zwłaszcza dla rodów najwyżej plonujących w każdym środowisku.

MATERIAŁ I METODY

Badania obejmowały 40 rodów hodowlanych pszenżyta ozimego (15 krótkosłomych i 25 długosłomych) pochodzących z Hodowli Danko (tab. 1). Doświadczenia z rodami przeprowadzono w sezonie 2004/2005 w trzech miejscowościach: Laskach (Mazowsze, powiat grójecki), Dębinie (Żuławy, powiat malborski), Sobiejuchach (Kujawy, powiat żniński). Szczegółowe informacje o warunkach glebowych i pogodowych w poszczegól-

nych miejscowościach oraz o planowaniu doświadczeń znajdują się w pracy Mądrego i wsp. (2007).

W każdej miejscowości wykonano po dwa doświadczenia w rozkładalnym układzie bloków niekompletnych z trzema powtórzeniami (Oettler i in., 2005). W jednym doświadczeniu badano rody krótkosłome, w drugim zaś, rody długosłome. Na wszystkich poletkach w każdym doświadczeniu pojedynczym wybrano powierzchnie próbne o wielkości 1 m^2 , na których określano plon ziarna i jego składowe, tj. liczbę kłosów na m^2 , średnią liczbę ziaren w kłosie i masę tysiąca ziaren (MTZ). Plon ziarna wyrażono w gm^{-2} przy wilgotności 15%. Liczbę kłosów na m^2 określano bezpośrednio po zbiorze, masę tysiąca ziaren (MTZ) oceniono wg Polskiej Normy PN-68/R-74017. Natomiast, średnią liczbę ziaren w kłosie obliczono pośrednio, dzieląc obserwacje plonu ziarna przez obserwacje dwóch pozostałych składowych plonu oraz mnożąc przez 1000,.

Analiza statystyczna danych

Analizy wariancji dla obserwacji plonu ziarna na m^2 i jego składowych z doświadczeń pojedynczych wykonano za pomocą programu Eksplan (Krajewski i in., 2006). Szczegółowa metodyka opracowania danych z obu doświadczeń jednocześnie, oddzielnie w każdej miejscowości, jest podana w pracy Mądrego i wsp. (2007). Jest ona wzorowana na podejściu Oettlera i wsp. (2005), którzy opracowywali dane z obserwacji plonu ziarna i jego składowych oraz innych cech agronomicznych dla genotypów pszenżyta ozimego z oddzielnych doświadczeń (na tym samym polu) za pomocą jednej, łącznej, analizy porównawczej.

Na średnich poprawionych trzech składowych plonu dla wszystkich 40 rodów zastosowano dwie metody wielocechowe, tj. analizę skupień Warda (Ward, 1963; Mohammadi i Prasanna, 2003) z kwadratem odległości euklidesowej na zmiennych standaryzowanych (standaryzacja Z), w celu wydzielenia grup rodów podobnych pod względem trzech składowych plonu oraz analizę składowych głównych zmiennych standaryzowanych dla przedstawienia graficznej oceny zróżnicowania rodów pod względem składowych plonu wraz z określeniem tych o największej sile dyskryminacyjnej (Mohammadi i Prasanna 2003, Moragues i in., 2006). Analizy wielocechowe wykonano odrębnie dla każdej miejscowości, posługując się procedurami CLUSTER i PRINCOMP w pakiecie SAS (SAS Institute, 2001) oraz arkuszem kalkulacyjnym Excel.

WYNIKI BADAŃ I DYSKUSJA

Na podstawie wyników analizy skupień, zdecydowano się wyodrębnić 5 grup rodów o podobnych wartościach składowych plonu w miejscowościach Dębina i Laski, zaś 6 takich grup w miejscowości Sobiejuchy. Numery rodów (tab. 1) w tych grupach są pokazane na rysunkach 1, 2 i 3. Z racji na podobieństwo wartości trzech składowych plonu rodów w każdej wydzielonej grupie jednorodnej, rody w grupach są także relatywnie podobne pod względem plonu ziarna. Średnie wartości składowych plonu i plonu ziarna rodów w wydzielonych grupach dla poszczególnych miejscowości przedstawiono w tabeli 2. Obrazują one duże zróżnicowanie pomiędzy średnimi grupowymi dla poszczególnych składowych plonu w każdej miejscowości, a jednocześnie mniejsze zróżnicowanie

średnich grupowych dla plonu ziarna. Różnorodność kombinacji poziomów składowych plonu w grupach rodów ilustruje wyraźnie kompensację składowych plonu w każdej miejscowości, która została stwierdzona w badaniach na tych samych danych z użyciem analizy ścieżek (Mądry i in., 2007).

Tabela 1

Nazwy badanych rodów krótkosłomych (K) i długosłomych (D) pszenżyta ozimego
Names of short- straw (K) and long- straw (D) advanced lines of winter triticales studied in the trials

Rody Advanced lines	Forma Form	Nr Number	Rody Advanced lines	Forma Form	Nr Number
LAD267/01	K	1	LAD504/02	D	21
LAD389/01	K	2	LAD505/02	D	22
LAD597/01	K	3	LAD872/02	D	23
LAD662/01	K	4	LAD913/02	D	24
DAD282/00-179/01	K	5	DAD118/02	D	25
CHD224/00-25	K	6	DAD135/02	D	26
DED130/01	K	7	DAD161/02	D	27
DED396/01	K	8	DAD230/02	D	28
DED650/01	K	9	DAD323/02	D	29
DED1115/01	K	10	DAD262/02	D	30
DED4188/01	K	11	DAD310/02	D	31
DED5372/01	K	12	CHD7/02	D	32
DED5685/01	K	13	CHD15/02	D	33
DED6127/01	K	14	CHD16/02	D	34
DED6128/01	K	15	CHD38/02	D	35
DED6232/01	K	16	CHD83/02	D	36
DED2175/00	K	17	CHD88/02	D	37
LAD10/02	D	18	CHD112/02	D	38
LAD297/02	D	19	CHD157/02	D	39
LAD471/02	D	20	DAD151/02	D	40

Relatywnie niskie plony ziarna rodów w poszczególnych środowiskach oraz średnio poprzez środowiska były rezultatem niezrównoważonych poziomów składowych plonu, tzn. ukształtowania się jednej składowej plonu (głównie obsady kłosów) lub dwóch różnych składowych na stosunkowo niskim poziomie i braku wystarczającej ich kompensacji przez wysokie wartości pozostałych składowych. Natomiast, plonowanie rodów powyżej średniej ogólnej następowało według różnej ilościowej strategii tworzenia plonu ziarna. Zwykle wyższe plony były ukształtowane przez relatywnie wyższe wartości jednocześnie dwóch różnych składowych, przy czym trzecia składowa była na relatywnie niskim poziomie. Wysokie plonowanie rodów ukształtowane przez relatywnie wysokie wartości jednocześnie dwóch różnych składowych, obrazuje dobrze konsekwencje podobnego stopnia bezpośredniego wpływu wszystkich trzech składowych na plon ziarna, stwierdzone za pomocą analizy ścieżek (Mądry i in., 2007).

Tabela 2

Średnie wartości plonu ziarna i trzech jego składowych dla jednorodnych grup rodów pszenżyta ozimego w poszczególnych miejscowościach

Means for grain yield and its three components in homogenous groups of winter triticale advanced lines in particular locations

Grupy jednorodne Homogenous groups	Liczebność grup Size of group	Plon ziarna Grain yield (g/m ²)	Liczba kłosów na m ² Spikes per m ²	Średnia liczba ziaren w kłosie Grains per spike	MTZ TGW (g)
Dębina					
III	6	1149	690	38,7	43,1
II	13	1208	636	39,0	48,8
I	8	1237⁺	619	44,0	45,6
IV	7	1241	723	34,3	49,9
V	6	1305	819	36,4	44,0
średnie++ means++		1225	683	38,7	46,8
Laski					
V	11	878	840	28,9	36,4
I	14	942	686	37,0	37,2
III	8	953	783	32,5	37,7
II	5	1005	718	33,9	41,6
IV	2	1061	898	36,7	32,4
średnie++ means++		940	762	33,5	37,4
Sobiejuchy					
V	11	934	661	35,1	40,3
VI	5	946	725	36,9	35,4
III	8	946	786	28,3	42,3
I	8	951	864	28,0	38,9
II	6	1021	729	29,5	47,5
IV	2	1127	912	36,3	33,9
średnie++ means++		964	758	31,8	40,6

+ liczby pogrubione oznaczają średnie grupowe powyżej średniej ogólnej dla danej zmiennej

+ numbers in bolded characters denote group means exceeding general mean for a trait

++ średnie ogólne ++ general means

Niektóre rody plonowały wysoko w wyniku jednocześnie umiarkowanie wysokiego poziomu wszystkich trzech składowych, co jest zgodne z teorią Yana i Wallace'a (1995). Teoria ta wskazuje, że warunkiem wysokiego plonowania genotypów zbóż jest zrównoważone (na umiarkowanym poziomie) ukształtowanie się trzech składowych plonu, rozważanych w niniejszej pracy.

Różne ilościowe strategie tworzenia podobnego plonu ziarna przez rody w zmiennych środowiskach ilustruje szczegółowa analiza układów trzech podstawowych składowych plonu (kombinacji poziomów tych składowych) u rodów o podobnie wysokim plonie (tab. 2).

W Dębnie najwyższe plony ziarna osiągnęły rody, należące do trzech grup, tj. I, IV i V. Średnie rodów w tych grupach były powyżej średniej ogólnej dla całego zbioru rodów. Grupa I zawiera większość rodów o długich pędach, zaś grupy IV i V zawierają genotypy przeważnie o krótkich pędach. Układ składowych plonu rodów w każdej z tych grup był

inny. Rody w grupie I plonowały wysoko dzięki relatywnie bardzo dużej średniej liczbie ziaren w kłosie i MTZ bliskiej średniej ogólnej, przy relatywnie niskiej obsadzie kłosów. Rody w grupie IV, plonujące podobnie wysoko, jak te z grupy I, wytworzyły taki plon, kształtując jednocześnie relatywnie dużą obsadę kłosów i MTZ, jednak znacznie redukując średnią liczbę ziaren w kłosie. Jeszcze inną strategię tworzenia najwyższego plonu ziarna w rozpatrywanym środowisku, okazały rody w grupie V, które osiągnęły ten plon poprzez dominację poziomu obsady kłosów i tylko umiarkowanej redukcji dwóch pozostałych składowych plonu.

W Laskach relatywnie wysoko plonowały rody w grupach II i IV, były one przeważnie o długich pędach. Układ składowych plonu rodów w każdej z tych grup nie był jednakowy. Rody w grupie II ukształtowały wysoki plon ziarna przez wytworzenie jednocześnie relatywnie dużej średniej liczby ziaren w kłosie i MTZ oraz relatywnie zredukowanej obsady kłosów. Rody w grupie IV plonowały wysoko dzięki dużym poziomom dwóch innych składowych plonu, tj. obsady kłosów i średniej liczby ziaren w kłosie, co współistniało ze stosunkowo znaczną redukcją MTZ, jako trzeciej składowej plonu.

W Sobiejuchach, podobnie jak w Laskach, także rody tylko z dwóch grup (II i IV) plonowały powyżej średniej ogólnej. Do grupy IV zaliczono te same rody DAD230/02 (nr 28) i DAD323/02 (nr 29) o długich pędach, co w grupie IV, wydzielonej w Laskach (tab. 1 oraz rys. 2 i 3). Strategie wytworzenia wysokich plonów przez rody z każdej grupy były odmienne. Układ składowych plonu u rodów, zarówno o krótkich, jak i długich pędach w grupie II obejmował znaczną dominację wartości MTZ, przy jednocześnie umiarkowanie zredukowanych poziomach dwóch pozostałych składowych plonu. Natomiast, strategia tworzenia wysokiego plonu przez rody DAD230/02 i DAD323/02 w grupie IV w Sobiejuchach była taka sama, jak w Laskach, a więc wyrażająca się dużym poziomem obsady kłosów i średniej liczby ziaren w kłosie, przy jednoczesnej znacznej redukcji MTZ.

W rezultacie stwierdzonej interakcji genotypowo-środowiskowej dla plonu (Mądry i in., 2007), w każdej z trzech miejscowości inne rody plonowały najwyżej, czyli były relatywnie najlepiej zaadaptowane do tych środowisk (tab. 2). Podana różnorodność kombinacji poziomów składowych plonów u najwyżej plonujących rodów pszenżyta ozimego w każdej miejscowości (tab. 2), wskazuje, że więcej, niż jeden układ składowych plonu u rodów, zapewniał im najlepszą adaptację do warunków środowiskowych danej miejscowości. Podobne wyniki otrzymali Ceccarelli i wsp. (1991) dla jęczmienia, Annicchiarico i Pecetti (1995) dla pszenicy twardej, van Ginkel i wsp. (1998) i Duggan i wsp. (2000) dla pszenicy chlebowej oraz Allaru i wsp. (2004) dla pszenżyta ozimego. Jednakże, te rody pszenżyta ozimego, które warunkowały genetycznie efektywny (dla relatywnie wysokiego plonowania) układ składowych plonu w jednym środowisku, nie były w stanie wytworzyć równie wysoko produktywnej kombinacji poziomów składowych plonu w innych środowiskach, zapewniającej im tamże również relatywnie wysoki plon ziarna. Wyjątek stanowiły dwa rody, DAD230/02 i DAD323/02, które plonowały najwyżej w Laskach i Sobiejuchach, w rezultacie relatywnie dużej obsady kłosów i średniej liczby ziaren w kłosie, przy jednoczesnej znacznej redukcji MTZ w każdej z tych miejscowości.

Wysokie plonowanie rodów w poszczególnych miejscowościach zapewniały im relatywnie wysokie wartości jednej lub dwóch składowych plonu, przy jednoczesnej redukcji lub umiarkowanym poziomie pozostałych składowych plonu. Żaden z tych układów składowych plonu, o dużej zdolności adaptacyjnej w danym środowisku, nie obejmował wartości jednocześnie wszystkich składowych powyżej ich średnich w środowisku. Stwierdzono jednak takie kombinacje poziomów składowych plonu u niektórych rodów, gdzie wartości dwóch składowych były znacznie powyżej ich średniej. W takich przypadkach para tych dominujących składowych były różne w obrębie badanych rodów i zawsze trzecia składowa miała wartości znacząco zredukowane, co było oznaką kompensacji składowych plonu.

Przedstawiane wyniki wskazują, że w ocenianym materiale hodowlanym pszenżyta ozimego udało się hodowcom przełamać ujemne korelacje genetyczne dla dwóch spośród trzech składowych plonu i ograniczyć zjawisko ujemnej kompensacji pomiędzy składowymi tylko do jednej z nich. W ten sposób uzyskano wysoko produktywne genotypy w określonych środowiskach, dzięki wysokim wartościom tych dwóch składowych plonu, mimo redukcji trzeciej z nich. Te wyniki są także ilustracją praktycznych konsekwencji zależności między plonem ziarna, a dodatnimi genotypowymi efektami bezpośrednimi i ujemnymi pośrednimi jego trzech składowych, stwierdzonej za pomocą analizy ścieżek (Mądry i in., 2007). Podobne, w każdym środowisku, genotypowe efekty bezpośrednie wszystkich składowych na plon ziarna, są źródłem takich faktów, że wysokie poziomy różnych par składowych plonu u niektórych rodów okazywały się najefektywniejsze dla ich plonowania w danym środowisku. Obrazuje to znane zjawisko, polegające na tym, że każdy rodzaj reakcji plonu ziarna genotypu roślin uprawnych na zmienne warunki środowiskowe, jest kształtowany w trakcie ontogenezy przez genetycznie kontrolowany mechanizm formowania się plonu ziarna (Annicchiarico i Pecetti, 1995; Yan i Wallace, 1995; Dhungana i in., 2007; Vargas i in., 2007). Mechanizm ten sprawia, że dany genotyp w każdym środowisku kształtuje pewien układ trzech składowych plonu, który może okazać się najbardziej produktywny w tym środowisku (van Ginkel i in., 1998). Przedstawiane wyniki badań dla polskiej puli genowej pszenżyta ozimego, dokumentują znane fakty, że rzadko zdarza się genotyp rośliny uprawnej o szerokiej adaptacji, czyli kształtujący takie układy składowych plonu w różnych środowiskach, które byłyby relatywnie najefektywniejsze (wśród badanych genotypów) dla jego plonowania w większości środowisk (Anderson, 1986; Bidinger i in., 1987; Giunta i in., 1993; Yan i Wallace, 1995; Khanna-Chopra i Viswanathan, 1999; Motzo i in., 2001; de la Vega i in., 2002).

W analizie składowych głównych stwierdzono, że ponad 90% wariancji całkowitej trzech składowych plonu w obrębie badanych rodów w każdej miejscowości zostało wyjaśnione przez 2 pierwsze składowe główne (tab. 3).

Zatem wartości dwóch pierwszych składowych głównych dla badanych rodów na wykresach dwuwymiarowych (rys. 1–3) dobrze (wiernie w stosunku do wyjściowych informacji, wynikających z pierwotnych parametrów statystycznych, tj. średnich poprawionych badanych cech dla rodów) odzwierciedlają zróżnicowanie (relacje) tych genotypów pod względem jednocześnie trzech składowych plonu. Pierwsza składowa

główna wyjaśniała od 51,45% (Dębina) do 56,5% (Laski), natomiast druga nieco mniej, od 34,55% (Laski) do 39,53% (Dębina). Podobne wyniki uzyskano również w analizie składowych głównych przeprowadzonej na średnich dla rodów z trzech miejscowości (wyniki nie prezentowane).

Tabela 3

Wartości współczynników korelacji składowych plonu rodów pszenżyta ozimego z trzema składowymi głównymi (PC1, PC2, PC3)
Correlation coefficients between yield components in winter triticale advanced lines and the three first principal components (PC1, PC2, PC3)

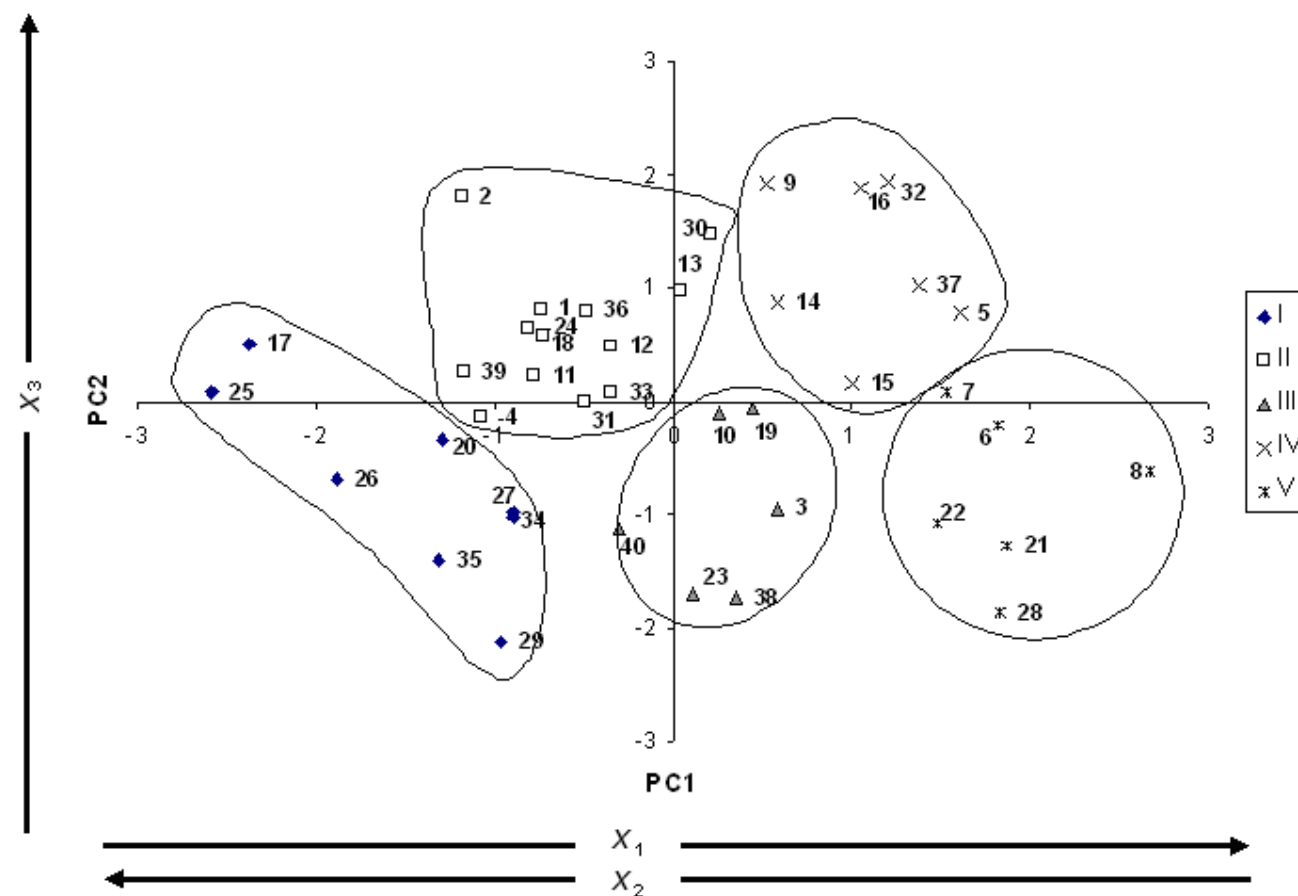
Składowe plonu Yield components	PC1	PC2	PC3
	Dębina		
Liczba kłosów na m ² Spikes per m ² (X_1)	0,91	-0,23	0,34
Średnia liczba ziaren w kłosie Grains per spike (X_2)	-0,82	-0,47	0,32
MTZ TGW (X_3)	-0,19	0,95	0,24
% wyjaśnionej wariancji całkowitej % explained overall variability	51,45	39,53	9,02
	Laski		
Liczba kłosów na m ² Spikes per m ² (X_1)	0,93	-0,02	0,36
Średnia liczba ziaren w kłosie Grains per spike (X_2)	-0,73	-0,62	0,29
MTZ TGW (X_3)	-0,54	0,81	0,23
% wyjaśnionej wariancji całkowitej % explained overall variability	56,50	34,55	8,95
	Sobiejuchoy		
Liczba kłosów na m ² Spikes per m ² (X_1)	0,60	-0,76	0,24
Średnia liczba ziaren w kłosie Grains per spike (X_2)	-0,95	0,000	0,31
MTZ TGW (X_3)	0,60	0,76	0,24
% wyjaśnionej wariancji całkowitej % explained overall variability	54,10	38,79	7,11

Struktura udziału składowych plonu w dwóch pierwszych (najważniejszych) składowych głównych była bardzo podobna w Dębinie i Laskach, odmienna zaś w Sobiejuchach. Wartości współczynników korelacji w tabeli 3 wskazują, że w miejscowości Dębina i Laski z pierwszą składową główną (PC1) najsilniej były skorelowane dwie składowe plonu, tj. liczba kłosów na m² oraz średnia liczba ziaren w kłosie, przy czym pierwsza składowa plonu była skorelowana dodatnio a druga składowa plonu ujemnie. Zgodnie z interpretacją znaczenia składowych głównych, można uznać, że te dwie składowe plonu miały największy udział w łącznej zmienności genotypowej wszystkich trzech składowych plonu, czyli relatywnie największą moc dyskryminacyjną dla rodów w miejscowościach Dębina i Laski. Z drugą składową główną (PC2) silnie dodatnio była skorelowana MTZ, wykazując przez to relatywnie mniejszą moc dyskryminacyjną. W miejscowości Sobiejuchy z pierwszą składową główną (PC1)

najsilniej była skorelowana średnia liczba ziaren w kłosie (o relatywnie największej mocy dyskryminacyjnej dla rodów), a z drugą składową (PC2) silnie skorelowane były liczba kłosów na m² (ujemnie) i MTZ (dodatnio). Jest faktem godnym wyraźnego podkreślenia, że właśnie składowe plonu o relatywnie największej mocy dyskryminacyjnej (liczba kłosów na m² oraz średnia liczba ziaren w kłosie, w Dębinie i Laskach oraz tylko średnia liczba ziaren w kłosie, w Sobiejuchach) były określone za pomocą analizy ścieżek, jako wywierające największe dodatnie efekty bezpośrednie i ujemne efekty pośrednie (kompensacyjne) na genotypową zmienność plonu ziarna, czyli mające największe relatywne znaczenie w uwarunkowaniu zmienności plonu w populacji rodów (Mądry i in., 2007).

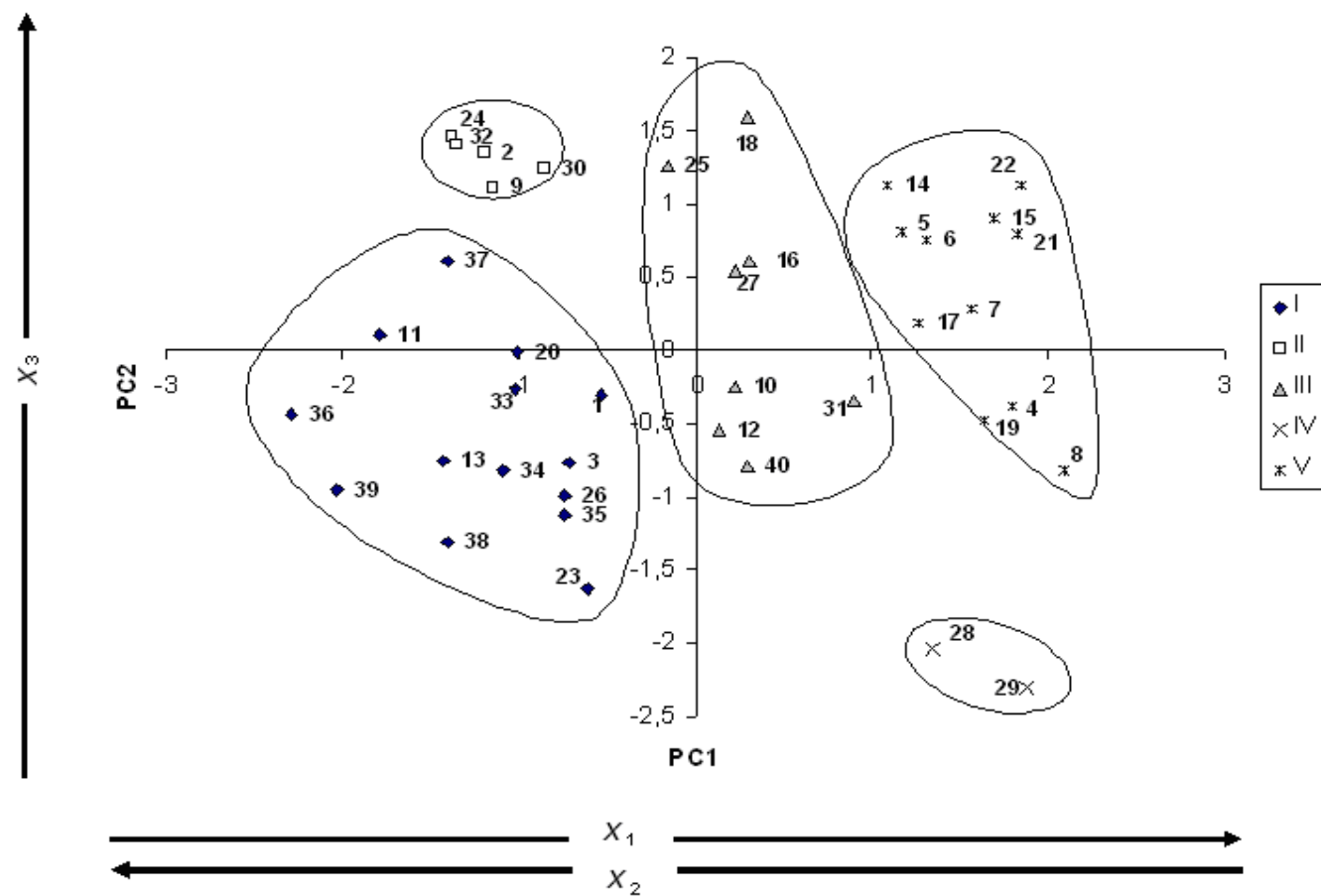
Na rysunkach 1–3 przedstawiono wartości dwóch pierwszych składowych głównych dla badanych rodów (oznaczonych numerami z tabeli 1) oraz zaznaczono ich przynależność do poszczególnych grup w każdej miejscowości. Wartości obu składowych głównych u rodów wskazują na relatywnie małe, umiarkowane lub wysokie wartości każdej ze składowych plonu, zgodnie z kierunkami ich silnego skorelowania z daną składową główną. Kierunki strzałek, pokazanych na rysunkach uwidaczniają rosnące wartości każdej składowej plonu. Ułatwiają one identyfikację relatywnego poziomu tych składowych u każdego rodu. Z powodu korelacji ujemnych (kompensacji) między składowymi plonu (Mądry i in., 2007), rody z relatywnie wyższymi wartościami jednych składowych plonu, odznaczają się jednocześnie relatywnie niższymi wartościami innych składowych (jest to ewidentne dla liczby kłosów na m² oraz średniej liczby ziaren w kłosie, w Dębinie i Laskach oraz dla liczby kłosów na m² i MTZ, w Sobiejuchach).

Informacje przedstawione na rysunkach 1–3 są zgodne z tymi, które podano w postaci średnich grupowych dla składowych plonu. Jednakże, te rysunki zawierają kompletne informacje w formie graficznej, dotyczące różnorodności rodów pod względem składowych plonu (nie tylko średnich grupowych, ale też relatywnego zróżnicowania rodów w obrębie grup jednorodnych) w każdej miejscowości, podobieństwa poszczególnych grup rodów oraz rozkładów częstości różnych kombinacji poziomów składowych plonu rodów, obrazujących mnogość ilościowych strategii formowania się plonu ziarna przez jego składowe u rodów hodowlanych w polskiej puli genowej pszenżyta ozimego, stanowiącej dorobek hodowli twórczej. Relatywnie niewielkie zróżnicowanie rozmieszczenia punktów dla rodów w każdej grupie obrazuje skuteczność analizy skupień w wydzieleniu grup rodów bardzo podobnych pod względem jednocześnie trzech składowych plonu. Skład jednorodnych grup rodów i ich odmienne relacje (relatywne podobieństwo pod względem trzech składowych plonu) w miejscowościach, przejrzyste obrazują charakter interakcji GE dla składowych plonu w obrębie badanych rodów, czyli odmienne zróżnicowania genotypów dla tych cech w różnych środowiskach. Przejawy interakcji GE, czyli nie jednakowe uporządkowanie plonu rodów w środowiskach można skojarzyć z nie jednakowym uporządkowaniem rodów w środowiskach pod względem składowych plonu.



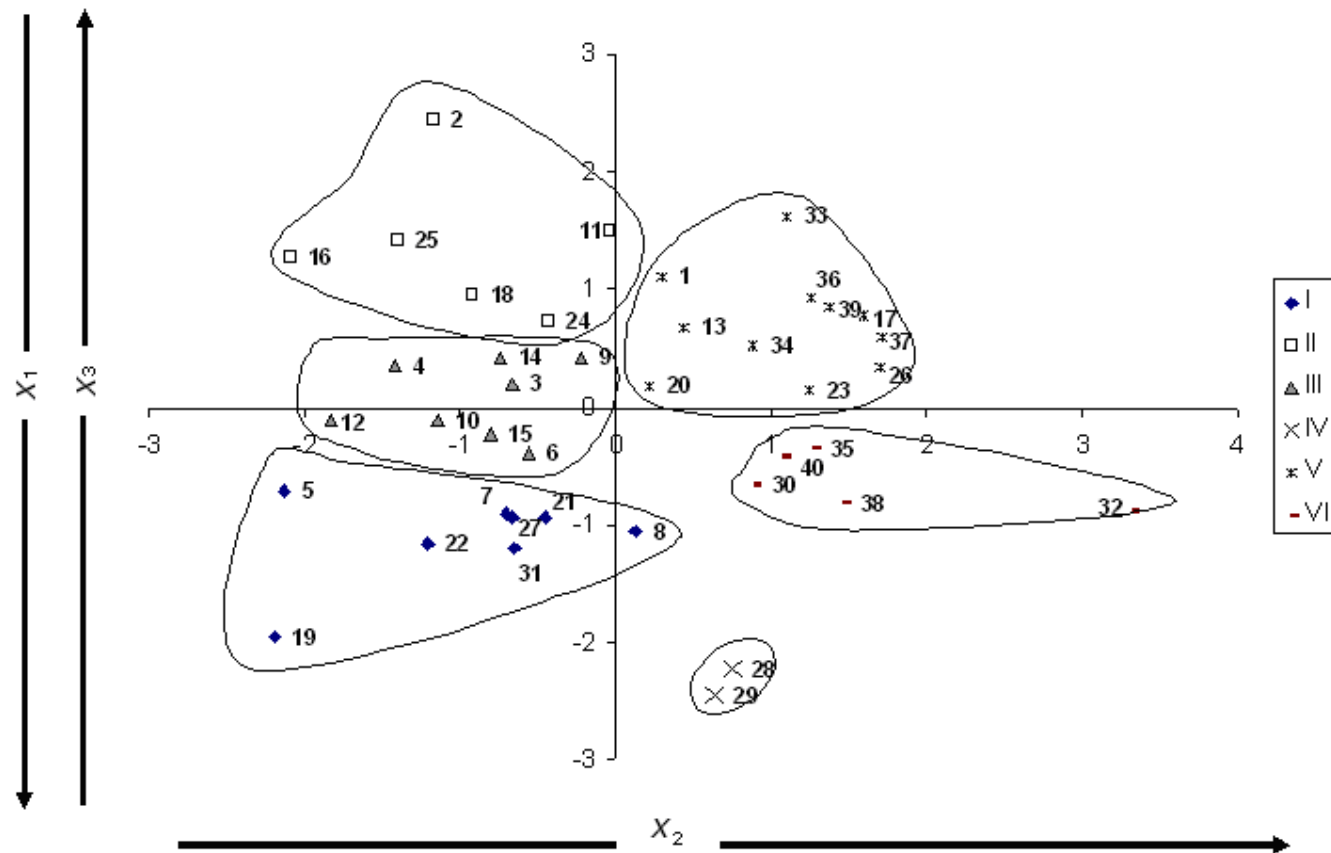
Rys. 1. Wartości dwóch pierwszych składowych głównych (PC1, PC2) dla rodów pszenżyta ozimego z podziałem na grupy wyodrębnione w analizie skupień w miejscowości Dębina

Fig. 1. Scores of the two first principal components (PC1, PC2) regarding winter triticale advanced lines assessed at Dębina, and clusters of similar lines for yield components



Rys. 2. Wartości dwóch pierwszych składowych głównych (PC1, PC2) dla rodów pszenżyta ozimego z podziałem na grupy wyodrębnione w analizie skupień w miejscowości Laski

Fig. 2. Scores of the two first principal components (PC1, PC2) regarding winter triticale advanced lines assessed at Laski, and clusters of similar lines for yield components



Rys. 3. Wartości dwóch pierwszych składowych głównych (PC1, PC2) dla rodów pszenżyta ozimego z podziałem na grupy wyodrębnione w analizie skupień w miejscowości Sobiejuchy

Fig. 3. Scores of the two first principal components (PC1, PC2) regarding winter triticale advanced lines assessed at Sobiejuchy, and clusters of similar lines for yield components

To może sprzyjać lepszemu wyjaśnieniu uwarunkowania interakcji GE dla plonu ziarna pszenżyta ozimego przez ilościową strategię jego formowania się oraz wykorzystaniu tej interakcji w hodowli i uprawie tego zboża (Bidinger i in., 1987; Giunta i in., 1993; van Oosterom i in., 1993, 2003, 2006; Yan i Wallace, 1995; van Ginkel i in., 1998, Duggan i in. 2000, Epinat-Le Signor i in., 2001; Yan i Hunt, 2001; de la Vega i in., 2002; Lafitte i Courtois, 2002; Moragues i in., 2006; Dhungana i in., 2007; Dhungana i in., 2007; Gonzalez i in., 2007; Vargas i in., 2007).

PODSUMOWANIE

Uzyskane wyniki badań wskazują na dużą „plastyczność” trzech podstawowych składowych plonu pszenżyta ozimego, która przejawia się w postaci ujemnych współzależności między składowymi, jako rezultat ich kompensacji w trakcie ontogenezy i ilościowych strategii tworzenia plonu ziarna przez jego składowe. Ta plastyczność i tym samym strategię plonowania pszenżyta, są uwarunkowane zarówno genetycznie, jak i środowiskowo, podlegając równocześnie zjawisku interakcji GE. Może to utrudniać określenie ideotypu (ilościowej strategii formowania się plonu ziarna przez jego składowe) wysokoplonującego stabilnie genotypu pszenżyta ozimego (i innych zbóż), a tym samym przyjęcie jednoznacznych kryteriów selekcji, zwłaszcza w początkowych etapach hodowli, kiedy niemożliwa jest ocena plonu z jednostki powierzchni.

Badane rody pszenżyta ozimego wykazały względnie niewielką zmienność plonu ziarna, natomiast większe zróżnicowanie składowych plonu. Szczegółowa analiza ilościowych strategii plonowania, zwłaszcza rodów o najwyższym plonie, jest ważnym elementem ustalenia kryteriów selekcji dla badanego gatunku roślin. Z powodu kompensacji składowych plonu (Mądry i in., 2007) właściwa ocena zróżnicowania poziomu tych składowych w materiałach hodowlanych powinna być wielowymiarowa.

Stwierdzona w różnych środowiskach, duża różnorodność ilościowej strategii formowania się plonu ziarna pszenżyta ozimego przez jego składowe w obrębie badanych rodów hodowlanych oraz relatywnie wyższe wartości jednocześnie dwóch składowych, ukształtowanych przez wiele wysokoplonujących rodów, przy relatywnie niskim poziomie trzeciej składowej, stanowią empiryczne potwierdzenie hipotezy, że możliwe jest wytworzenie i trafny wybór w obrębie polskiej puli genowej pszenżyta ozimego takich genotypów, które plonują wysoko i stabilnie, nie tylko przez zrównoważony układ poziomów wszystkich trzech jego składowych, zgodnie z poglądami Yana i Wallace’a (1995), ale też przez dominowanie wartości jednocześnie dwóch, spośród trzech składowych. Rzadziej duży plon ziarna rodu był skutkiem wysokiego poziomu tylko jednej ze składowych plonu, przy relatywnie niskim poziomie innych dwóch składowych. Jednakże, takie przypadki były obserwowane w przeprowadzonych badaniach. Na uwagę zasługuje grupa rodów II w miejscowości Sobiejuchy o plonie ziarna znacznie powyżej średniej wszystkich badanych rodów. Rody w tej grupie wysoko plonowały dzięki bardzo wysokiej MTZ, przy jednocześnie relatywnie małej liczbie kłosów na jednostce powierzchni i średniej liczbie ziaren w kłosie, czyli składowych uważanych za kluczowe

dla osiągnięcia wysokiego plonu ziarna pszenżyta ozimego (Rozbicki, 1997; Giunta i in., 1999; Allaru i in., 2004; Mądry i in., 2007).

WNIOSKI

1. W każdym środowisku badane rody różnią się znacząco pod względem wartości składowych plonu, natomiast ich zmienność plonu ziarna jest relatywnie niewielka, z powodu kompensacji (ujemnej korelacji) głównie dwóch najważniejszych składowych plonu, tj. liczby kłosów na m² i średniej liczby ziaren w kłosie.
2. Ilościowe strategie formowania się plonu ziarna pszenżyta ozimego przez składowe plonu są uwarunkowane zarówno genetycznie, jak i środowiskowo, podlegając także interakcji GE, która może utrudniać wybór genotypu o szerokiej adaptacji we wcześniejszych pokoleniach na podstawie jednocześnie trzech składowych plonu.
3. Najwyższe plony ziarna rodów są najczęściej uwarunkowane przez relatywnie wysokie wartości jednocześnie dwóch składowych plonu, przy niezbyt dużej redukcji trzeciej składowej, nie zaś przez zrównoważony układ poziomów wszystkich trzech jego składowych, jak uważają Yan i Wallace (1995).
4. Dalsze badania nad agronomicznym znaczeniem różnorodności ilościowej strategii formowania się plonu ziarna u rodów hodowlanych pszenżyta ozimego i innych zbóż przez składowe plonu powinny być skupione na wykrywaniu związków między rodzajami reakcji plonowania rodów na warunki środowiskowe, a reakcją układu poziomów trzech głównych składowych plonu (ilościowej strategii formowania się plonu) i innych cech plonotwórczych na zmienne środowiska.

LITERATURA

- Abayomi, Y., Wright, D. 1999. Effects of water stress on growth and yield of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Trop. Agric.* 76: 120 — 125.
- Allaru M., Moller B., Hansen A. 2004. Triticale yield formation and quality influenced by different N fertilization regimes. *Agronomy Research* 2: 3 — 12.
- Anderson W. 1986. Some relationships between plant population, yield components and grain yield of wheat in a Mediterranean environment. *Aust. J. Agric. Res.* 37: 219 — 233.
- Annicchiarico P. 2002. Genotype × environment interactions: Challenges and opportunities for plant breeding and cultivar recommendations. *FAO Plant Production Protection Paper* 174. FAO, Rome.
- Annicchiarico P., Pecetti P. 1995. Morpho-physiological traits to complement grain yield selection under semi-arid Mediterranean conditions in each of the durum wheat types Mediterranean typical and syriacum. *Euphytica* 86: 191 — 198.
- Bidinger F. R., Mahalakshmi V., Rao G. D. P. 1987. Assessment of drought resistance in pearl millet [*Pennisetum americanum* (L.) Leke]. I. Factors affecting yields under stress. *Aust. J. Agric. Res.* 38: 37 — 48.
- Ceccarelli S., Acevedo E., Grando S. 1991. Breeding for yield stability in unpredictable environments: single traits, interaction between traits, and architecture of genotypes. *Euphytica* 56: 169 — 185.
- Chmielewski F., Kohn W. 2000. Impact of weather on yield components of winter rye over 30 years. *Agric. Forest Meteorol.* 102: 253 — 261.
- Dhungana P., Eskridge K. M., Baenziger P. S., Campbell B. T., Gill K. S., Dweikat I. 2007. Analysis of genotype-by-environment interaction in wheat using a structural equation model and chromosome substitution lines. *Crop Sci.* 47: 477 — 484.

- de la Vega A. J., Hall A. J., Kroonenberg P. M. 2002. Investigating the physiological bases of predictable and unpredictable genotype by environment interactions using three-mode pattern analysis. *Field Crops Research* 78: 165 — 183.
- Dofing S. M., Knight C. W. 1992. Alternative model for path analysis of small-grain yield. *Crop Sci.* 32, 487 — 489.
- Duggan B. L., Domitruk D. R., Fowler D. B. 2000. Yield component variation in winter wheat grown under drought stress. *Can. J. Plant Sci.* 80: 739 — 745.
- Epinat-Le Signor C., Dousse S., Lorgeou J., Denis J. B., Bonhomme R., Carolo P., Charcosset A. 2001. Interpretation of genotype $\times$ environment interactions for early maize hybrids over 12 years. *Crop Sci.* 41: 663 — 669.
- García del Moral L. F., Rharrabti Y., Elhani S., Martos V., Royo C. 2005. Yield formation in Mediterranean durum wheats under two contrasting water regimes based on path-coefficient analysis. *Euphytica* 146: 203 — 212.
- García del Moral, L. F., Ramos, J.M., García del Moral, B., Jiménez-Tejada, M.P., 1991. Ontogenic approach to grain production in spring barley based on path-coefficient analysis. *Crop Sci.* 31: 1179 — 1185.
- García del Moral, L. F., Rharrabti, Y., Villegas, D., Royo, C., 2003. Evaluation of grain yield and its components in durum wheat under Mediterranean conditions: an ontogenic approach. *Agron. J.* 95: 266 — 274.
- Giunta F., Motzo R., Deidda M. 1999. Grain yield analysis of a triticale ($\times$ *Triticosecale* Wittmack) collection grown in a Mediterranean environment. *Field Crops Research* 63: 199 — 210.
- Giunta, F., Motzo, R., Deidda, M. 1993. Effect of drought on yield and yield components of durum wheat and triticale in a Mediterranean environment. *Field Crops Res.* 33: 399 — 409.
- Gonzalez A., Martin I., Ayerbe L. 2007. Response of barley genotypes to terminal soil moisture stress: phenology, growth, and yield. *Aust. J. Agric. Res.* 58: 29 — 37.
- Khanna-Chopra R., Viswanathan C. 1999. Evaluation of heat stress tolerance in irrigated environment of *T. aestivum* and related species. I. Stability in yield and yield components. *Euphytica* 106: 169 — 180.
- Krajewski P., Kaczmarek Z., Czajka S. 2006. EKSPLAN wersja 2. Planowanie i analiza statystyczna doświadczeń hodowlanych. Instytut Genetyki Roślin PAN, Poznań.
- Lafitte H.R., Courtois B. 2002. Interpreting cultivar $\times$ environment interactions for yield in upland rice: assigning value to drought-adaptive traits. *Crop Sci.* 42: 1409 — 1420.
- Leilah A. A., Al-Khateeb S. A. 2005. Statistical analysis of wheat yield under drought conditions. *J. Arid Environ.* 61: 483 — 496.
- Mądry W. 2004. Modele i metody statystyczne analizy interakcji genotypowo-środowiskowej, stabilności i adaptacji genotypów. *Post. Nauk Roln.* 2/ 308: 29 — 43.
- Mądry W., Gozdowski D., Rozbicki J., Pojmał M., Samborski S. 2007. Związki między plonem ziarna a jego składowymi w populacji rodów hodowlanych pszenżyta ozimego w trzech stacjach doświadczalnych. *Biul. IHAR* (w druku).
- Mohammadi S.A., Prasanna.M. 2003. Analysis of genetic diversity in crop plants -salient statistical tools and considerations. *Crop Sci.* 43: 1235 — 1248.
- Moragues M., García del Moral L. F., Moralejo M., Royo C. 2006. Yield formation strategies of durum wheat landraces with distinct pattern of dispersal within the Mediterranean basin. I. Yield components. *Field Crops Res.* 95: 194 — 205.
- Motzo R., Giunta F., Deidda M. 2001. Factors affecting the genotype $\times$ environment interaction in spring triticale grown in a Mediterranean condition. *Euphytica* 121: 317 — 324.
- Oettler G., Tams S. H., Utz H. F., Bauer E., Melchinger A. E. 2005. Prospects for hybrid breeding in winter triticale: I. Heterosis and combining ability for agronomic traits in European elite germplasm. *Crop Sci.* 45:1476–1482.
- Royo C., Voltas, J., Romagosa I. 1999. Remobilization of preanthesis assimilates to the grain for grain only and dual purpose (forage and grain) triticale. *Agron. J.* 91:312–316.
- Royo C., Álvaro F., Martos V., Ramdani A., Isidro J., Villegas D., García del Moral L. F. 2007. Genetic changes in durum wheat yield components and associated traits in Italian and Spanish varieties during the 20th century. *Euphytica* 155: 259 — 270.

- Rozbicki J. 1997. Agrotechniczne uwarunkowania wzrostu, rozwoju i plonowania pszenżyta ozimego. Fundacja "Rozwój SGGW".
- Santiveri F., Royo C., Romagosa I. 2002. Patterns of grain filling of spring and winter hexaploid triticales. Eur. J. Agron. 16: 219 — 230.
- SAS Institute. 2001. SAS system for Windows. v. 8.2. SAS Inst., Cary, NC.
- Simane, B., Struik, P. C., Nachit, M., Peacock, J. M., 1993. Ontogenic analysis of yield components and yield stability of durum wheat in water-limited environments. Euphytica 71: 211 — 219.
- van Ginkel M., Calhoun D. S., Gebeyehu G., Miranda A., Tian-you C., Pargas Lara R., Trethowan R. M., Sayre K., Crossa J., Rajaram S. 1998. Plant traits related to yield of wheat in early, late, or continuous drought conditions. Euphytica 100: 109–121.
- van Oosterom E. J., Bidinger F. R., Weltzien E. R. 2003. A yield architecture framework to explain adaptation of pearl millet to environmental stress. Field Crops Research 80: 33 — 56.
- van Oosterom E.J., Kleijn D., Ceccarelli S., Nachit M. M. 1993. Genotype-by-environment interactions of barley in the Mediterranean region. Crop Sci. 33: 669 — 674.
- van Oosterom E.J., Weltzien E., Yadav O. P., Bidinger F. R. 2006. Grain yield components of pearl millet under optimum conditions can be used to identify germplasm with adaptation to arid zones. Field Crops Research 96: 407 — 421.
- Vargas M., Crossa J., Reynolds M. P., Dhungana P., Eskridge K. M. 2007. Structural equation modelling for studying genotype $\times$ environment interactions of physiological traits affecting yield in wheat. J. Agric. Sci. 145:151 — 161.
- Ward J. 1963. Hierarchical grouping to optimize an objective function. Journal of the American Statistical Association, 58, 301, 236 — 244.
- Yan W., Hunt. L. A. 2001. Interpretation of genotype $\times$ environment interaction for winter wheat yield in Ontario. Crop Sci. 41: 19–25.
- Yan W., Wallace D. H. 1995. Breeding for negatively associated traits. Plant Breeding Reviews 13: 141 — 177.
- Yoshihira T., Araki K., Nakatsukasa K. 2004. Growth characteristics of winter triticales in Hokkaido collected from various countries: I. Comparison of yields and related characteristics of promising varieties and low-yielding varieties. Journal of Rakuno Gakuen University. Natural Science. 28:233 — 244.
- Yoshihira T., Karasawa T., Nakatsuka K. 2002. Comparison of growth characteristics and yield components between high-yielding and low-yielding varieties of winter triticales in Hokkaido, Japan. Journal of Rakuno Gakuen University. Natural Science, 26: 327 — 337.

PODZIĘKOWANIE

Serdecznie dziękujemy byłym studentom V roku kierunku rolnictwo Wydziału Rolnictwa i Biologii SGGW w Warszawie i absolwentom Wydziału, Dariuszowi Nowostowskiemu, Krzysztofowi Królowi oraz Przemysławowi Piotrowskiemu za zebranie wyników badań w stacjach doświadczalnych i pomoc w ich opracowaniu.

ZOFIA BANASZAK
PIOTR KAŻMIERCZAK
ARKADIUSZ TRĄBKA
BARBARA APOLINARSKA ¹
JAN BOCIANOWSKI ²

DANKO Hodowla Roślin Sp. z o.o. w Choryni

¹ Instytut Genetyki Roślin, PAN, Poznań

² Katedra Metod Matematycznych i Statystycznych, Akademia Rolnicza w Poznaniu

Wpływ wybranych czynników na wyrównanie odmian pszenżyta

The influence of some factors on uniformity of triticale cultivars

Badano cytologicznie metodą C-prążkową częściowo sterylne („S”) i normalne („N”) kłosa pszenżyta, pochodzące z 14 odmian i rodów DANKO w roku 2005. Biorąc pod uwagę wartości średnie dla obserwowanych grup „N” i „S” można przyjąć, że więcej roślin aneuploidalnych — 38,04% stwierdzono w grupie „S” w stosunku do „N”, gdzie wartość ta wynosiła 25,38%. Podobnie średnio wyższy procent roślin z aberracjami chromosomowymi występował u roślin „S” i wynosił 5,52 natomiast u roślin „N” = 0,52. Skłonność do obcozapylenia stwierdzono u części obiektów w kolekcji 414 form pszenżyta poprzez porównanie zawiązywania ziarniaków w kłosach zaizolowanych w stosunku do nieizolowanych.

Słowa kluczowe: aberracja chromosomowa, aneuploid, obcopylność, pszenżyto, wyrównanie

The semi-sterile (“S”) and normal (“N”) spikes cut in 2005 from 14 triticale varieties and strains, produced by DANKO, were tested using the C-banding method. On average, more aneuploid forms were found in the “S” group (38.04%), than in the “N” one (25.38%). The similar tendency was observed for chromosome aberrations: 5.52% for the “S” group and 0.52% for the “N” one. The tendency to outcrossing was proved in some 414 objects of triticale collection by comparison of seed setting in isolated and non-isolated spikes.

Key words: aneuploid, chromosome aberration, outcrosses, triticale, uniformity

WSTĘP

Pszenżyto jest gatunkiem, który jest traktowany jako zboże samopylne, chociaż znane są pewne skłonności do obcozapylenia. W badaniach OWT przyjęto normy wyrównania większe niż dla pszenicy. Zgodnie z protokołem technicznym CPVO = TP/121/1 liczba roślin nietypowych dla pszenżyta jest podwójna w stosunku do pszenicy. W gatunkach samopylnych, takich jak pszenica standard populacyjny wynosi 1% dla zasiewów

rzędowych (2000 roślin) i 0,1% dla zasiewów kłosowych (100 rzędów) przy prawdopodobieństwie 95%. W praktyce to znaczy, że w zasiewach kłosowych dopuszczalne jest 6 rzędów nietypowych na 100, w zasiewach rzędowych 10/2000. W ostatnich latach bardzo wzrosła liczba badanych odmian pszenżyta zarówno w Polsce jak i za granicą. W porównaniu jednak z pszenicą zdecydowanie więcej odmian nie spełnia kryteriów wyrównania i nie może być rejestrowana (tab. 1).

Tabela 1

Liczba odmian przekraczająca limity wyrównania w latach 2002–2006
The number of varieties exceeding the uniformity limits in the years 2002–2006

Kraj Country	Rok Year	Liczba testowanych odmian No. of tested cultivars	CPVO-TP/121/1	
			Liczba odmian przekraczających limit tolerancji No. of cultivars out of the limits of tolerance	%
Niemcy Germany	2002	56	19	34
	2003	67	26	39
	2004	72	53	74
	2005	58	37	64
	2006	55	20	36
	średnia mean	62	31	50
Francja France	2002	30	4	13
	2003	30	5	17
	2004	26	9	35
	2005	24	5	21
	2006	24	11	46
	średnia mean	27	7	26
Polska Poland	2002	34	17	50
	2003	45	7	16
	2004	35	14	40
	2005	47	16	34
	2006	54	15	28
	średnia mean	43	14	33
Austria Austria	2002	12	—	-
	2003	11	1	9
	2004	12	1	8
	2005	9	1	11
	2006	8	-	—
	średnia mean	10	1	5

Prawdopodobnie na problem wyrównania pszenżyta nakłada się kilka czynników. Najważniejsze z nich to:

Czynniki środowiska

W praktyce nie zawsze jest jasne, która roślina jest naprawdę genetycznie inna, ponieważ ulegają one wpływom czynników środowiska, takich jak: gleba, dostępność wody, susza itp. Rozwój roślin, szczególnie podczas kłoszenia i przed tą fazą jest bardzo uzależniony od warunków wilgotnościowych. Podczas suszy obserwuje się różne reakcje

rośliny. W przypadku wysokości łanu, niektóre rośliny, które mają lepszy dostęp wilgoci są lepiej rozwinięte i tym samym wyższe, podczas gdy inne pozostają niższe.

Susza pojawiająca się w okresie wzrostu pszenżyta jarego ma wpływ na wzrost głównego pędu, podczas gdy pozostałe rozwijają się znacznie później. W efekcie tego łan jest niewyrównany. W przypadku owłosienia dokłosa, podczas suszy można obserwować brak owłosienia na późnych pędach tej samej rośliny. Z zebranych nasion w następnym roku wyrastają często rośliny z owłosionym dokłosem.

Nalot rośliny czy kłosa również bardzo uzależniony jest od warunków rozwoju rośliny. Ulega znacznym zmianom w zależności od warunków wilgotnościowych. Podczas suszy wytwarza się więcej nalotu, w warunkach optymalnego uwilgotnienia —mniej. Rośliny o bardzo słabym nalocie woskowym (ocena 1) lub bardzo silnym (ocena 9) mniej ulegają wpływom środowiska, natomiast u wszystkich form pośrednich, ocenianych na 3, 5 lub 7, ekspresja tej cechy uzależniona jest bardziej od dostępu wilgoci czy nawożenia azotowego. Nalot w takich roślinach niejednokrotnie też ulega wycieraniu na niektórych kłosach podczas ocierania się jednego kłosa o drugi w czasie wietrznej pogody.

Zakłócenia podczas mejozy

Jedną z przyczyn pojawiania się roślin nietypowych w łanie pszenżyta mogą być formy aneuploidalne powstałe podczas zakłóceń podziałów mejotycznych.

Obcozapyleńia

Przyczyną pojawiania się roślin nietypowych w pszenzycie może być skłonność do obcozapyleń. Zależy to jednak od genotypu i warunków pogodowych, które mają miejsce w czasie kwitnienia.

W niniejszej pracy postanowiono przeanalizować wpływ poszczególnych czynników i odpowiedzieć na pytanie, które z czynników powoduje występowanie nietypowych, znacznie odbiegających swoją wysokością od całego łanu, częściowo sterylnych kłosów.

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiło 14 rodów i odmian hodowli DANKO wysianych siewnikiem rzędowym na poletkach rozmnożeniowych w Choryni, na których obserwowano rośliny nietypowe. Powierzchnia poletek wynosiła 600 m².

Generalnie jako rośliny nietypowe przyjmuje się te rośliny, które różnią się jedną lub kilkoma cechami od pozostałych roślin w plantacji. Na tych poletkach zebrano 6–8 częściowo sterylnych, sterczących kłosów oraz dla porównania kłosy „normalne”. Z każdej formy z obu typów kłosów wybrano losowo po 14 ziarniaków, z wyjątkiem trzech (zaznaczono w tabeli gwiazdką), gdzie wybrano 20 i przeprowadzono analizę liczby chromosomów metodą C-prążkową (Lukaszewski, Gustafson, 1983). Jeśli analizowano mniejszą liczbę roślin niż 14 (20), to znaczy, że ziarniaki nie skiełkowały.

W celu stwierdzenia na ile różnią się genotypy pszenżyta pod względem skłonności do obcozapyleńia na 414 poletkach kolekcyjnych zakładano na część kłosów izolatory (5–11 kłosów), pozostałe pozostawiono do wolnego przepyleńia. W czasie dojrzewania zbierano kłosy izolowane jak również kłosy nieizolowane (4–12 kłosów). W obu przypadkach

wyznaczono liczbę zawiązanych ziarniaków, następnie przeliczono na liczbę ziarniaków z kłosa.

Wykonano obliczenia statystyczne dla porównania liczby ziarniaków z kłosów zaizolowanych i niezaizolowanych. Ponieważ analizowane doświadczenie było jednopowtórzeniowe, więc oszacowano wspólną wariancję dla obiektów. Wykonano histogram dla cechy będącej różnicą liczby ziaren z kłosa niezaizolowanego i zaizolowanego. Różnica ta miała rozkład normalny. Założyć więc można, że badane obiekty stanowią próbę prostą o jednakowej wartości oczekiwanej. Korzystając z reguły trzech sigm skonstruowano przedział ($\mu - 2\sigma; \mu + 2\sigma$), w granicach którego leży 95,45% wszystkich obserwacji (Elandt, 1964).

WYNIKI

W sezonie 2004–2005 w Choryni w rozmnożeniach pszenżyta ozimego obserwowano wiele roślin nietypowych, przede wszystkim wyższych i częściowo sterylnych. Po zebraniu tych kłosów oraz kłosów „normalnych” analizowano liczbę chromosomów metodą C-prążkową u 14 odmian i rodów pszenżyta (tab. 2).

Wśród 199 roślin „normalnych” (N) obserwowano od 7,69 do 53,85% roślin aneuploidalnych a wśród 175 roślin częściowo sterylnych (S) liczba ta wahała się od 0 do 63,63%. W 12 przypadkach na 14 stwierdzono więcej roślin aneuploidalnych wśród roślin „S” w porównaniu do roślin „N”. Nie stwierdzono takiej zależności dla odmiany Woltario i rodu CHD 2242/00. W dwóch roślinach „N” oraz w 9 roślinach „S” stwierdzono aberracje chromosomowe. Aberracje chromosomowe występowały w postaci delekcji ramienia chromosomu żyta, delekcji fragmentu długiego ramienia chromosomu żyta oraz addycji ramienia chromosomu żyta, a także addycji małego fragmentu chromosomu. W odmianie Grenado obserwowano jedną roślinę (7,14%) z acentrycznym chromosomem — niezidentyfikowanym fragmentem chromosomowym wśród roślin „N”, a nie obserwowano żadnej aberracji wśród roślin „S”. Również niezidentyfikowany fragment chromosomu występował w jednej roślinie „S” odmiany Woltario oraz w trzech roślinach „S” rodu CHD 265/01. Natomiast w rodzie CHD 83/02 występowały aberracje chromosomowe zarówno wśród roślin „N” jak i „S” z tym, że w „N” występowało addycyjne krótkie, niezidentyfikowane ramię chromosomu żyta, a w „S” była delekcja krótkiego ramienia chromosomu żyta 2R. Niezidentyfikowane krótkie ramię chromosomu żyta występowało w 39 chromosomowej roślinie „S” rodu CHDL 1598. W rodzie CHD 211/02 w roślinie „S” stwierdzono delekcję długiego ramienia chromosomu 4R, a w rodzie CHD 2953/99 występowała delekcja tylko fragmentu długiego ramienia chromosomu żyta 7R. Ponadto w analizowanych roślinach stwierdzono miksoploidy. W odmianie Magnat i Fidelio w grupie „N” występowały po jednej miksoploidalnej roślinie z liczbą chromosomów odpowiednio 42 i 42 1/2 oraz 41 i 44. Natomiast w grupie roślin „S” w odmianie Grenado stwierdzono dwie miksoploidalne rośliny z liczbą chromosomów 40, 41 oraz 42, 43, a w Moderato oraz w rodzie CHD 211/02 stwierdzono po jednym miksoploidzie z liczbą chromosomów odpowiednio = 40, 42,48 oraz 40, 41.

Tabela 2

Liczba i skład chromosomów
The number and the composition of chromosomes

Forma Form		L.r.	Rozkład liczb chromosomów – Distribution of the number of chromosomes											% R.A.	% R. aberr		
			38	39	40	41	42	43	44	45	46	miksoploid mixploid	b.p..				
Magnat	N	19*	1			1	15	1				1(42, 42½)		21,05	0,00		
	S	12			2+1 fr,		7	1						1	36,00	9,09	
Woltario	N	13			1		12									7,69	0,00
	S	11					9+1 z fr,						1	0,00	9,09		
Grenado	N	14			3	1	8+ 1 z fr,		1						35,41	7,14	
	S	14	1		1	1	7	1		1(40,41)+1(42,43)				1	46,15	0,00	
Fidelio	N	13			1	2	8					1	1 (41, 44)		38,46	0,00	
	S	5			1	2	2									60,00	0,00
CHDL 1598	N	14					12	2							14,28	0,00	
	S	12	1zRS		1	1	6	1						2	40,00	10,00	
Moderato	N	14					2	9	1		2				35,71	0,00	
	S	11	1				3	6					1(40,42,48)		45,45	0,00	
CHD 2953/99	N	14					2	10	1		1				28,57	0,00	
	S	14	1	3+1z del,		1	8									42,85	7,14
CHD 2688/98	N	14			2		12									14,28	0,00
	S	17*	1	1		1	11								3	21,43	0,00
CHD 261/01	N	14					11	1		1			1	15,38	0,00		
	S	13			2		1	9					1	25,00	0,00		
CHD 265/01	N	14			1		11			1			1	15,38	0,00		
	S	14			2+1 z fr,		2	5+1 z fr,		1+1 z fr,		1		57,14	25,00		
CHD 83/02	N	14					1	10+1(42½)		1			1	15,38	0,00		
	S	14			2		1	7+ 1 z RL		1	2			28,57	8,33		
CHD 2242/00	N	14	1		1	2	8	1					1	38,46	0,00		
	S	9					1	5			1			2	28,57	0,00	
CHD 530/02	N	14			3	1	6	1		1	1			1	53,85	0,00	
	S	11			2	1	4	2		2				63,63	0,00		
CHD 211/02	N	14			2		1	10					1	23,08	0,00		
	S	18*			1		3	11+ 1 z del RL				1(40,41)		1	29,41	5,88	
Suma — Sum		374	2	5	35	31	245	15	15	1	1	6	18	30,33	2,73		
Suma — Sum	N	199	-	2	14	13	144	7	9	1	1	2	6	25,52	0,52		
Suma — Sum	S	175	2	3	21	18	101	8	6	—	—	4	12	38,04	5,52		

L.r. — Liczba analizowanych roślin; No. of plants analyzed

b.p. — Brak podziału; No cell divisions

% R.A. — % roślin aneuploidowych; % of aneuploid plants

% R. aberr. — % roślin z aberracją chromosomową; % of plants with chromosome aberrations

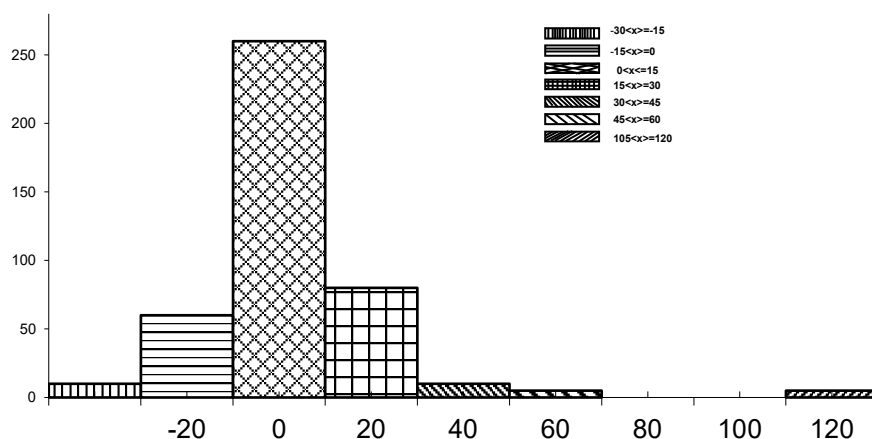
Biorąc pod uwagę wartości średnie dla obserwowanych grup „N” i „S” można przyjąć, że więcej roślin aneuploidalnych — 38,04% stwierdzono w grupie roślin „S” w stosunku do „N”, gdzie wartość ta wynosiła 25,38%. Podobnie średnio wyższy procent roślin z aberracjami chromosomowymi występował u roślin „S” i wynosił 5,52 natomiast u roślin „N” = 0,52.

W materiałach kolekcyjnych, porównywano różnice w zawiązywaniu ziarniaków pomiędzy kłosami izolowanymi i niezaizolowanymi i otrzymano różne ich liczebności (tab. 3).

Tabela 3

Liczba ziarniaków otrzymanych na kłosach nieizolowanych i izolowanych
The number of grains from isolated and non-isolated spikes

Liczba obiektów No. of objects	Obiekty izolowane			Obiekty nieizolowane		
	l. kłosów no. of spikes	l. ziarniaków no. of kernels	l. ziaren/kłos kernels/spike	l. kłosów no. of spikes	l. ziarniaków no. of kernels	l. ziaren/kłos kernels/spike
414	7 – 11	38 – 578	4,8 – 64,3	4 – 12	63 – 695	7,9 – 162
Średnia Mean	8,6	333	38,9	8,5	409	48,1



Rys. 1. Rozkład różnicy liczby ziarniaków otrzymanych na kłosach niezaizolowanych i zaizolowanych
Fig. 1. Distribution of difference of the number of grains from non-isolated and isolated spikes

Na 414 obiektach kolekcyjnych izolowanych zebrano średnio 8,6 kłosów, z których otrzymano średnio 333 ziarniaków. Natomiast na obiektach izolowanych zebrano średnio

po 8,5 kłosów, z których otrzymano przeciętnie 409 ziarniaków. Liczba ziarniaków przypadająca na jeden kłos wynosiła odpowiednio 38,9 dla obiektów izolowanych i 48,1 dla nieizolowanych.

Przy porównywaniu liczby ziarniaków z kłosów zaizolowanych i nieizolowanych, w celu stwierdzenia różnicy mogącej wynikać z obcopylności oszacowaniem wartości oczekiwanej była średnia z próby równa 9,253, oszacowaniem σ było odchylenie standardowe z próby równe 10,26. Różnica liczby ziaren z kłosa niezaizolowanego i zaizolowanego podlega rozkładowi normalnemu (rys. 1).

Obserwacje leżące poza przedziałem ($\mu-2\sigma$; $\mu+2\sigma$), można było uznać za różne od średniej. Górną granicą przedziału była liczba 29,733, więc obiekty, dla których badana różnica była większa od tej liczby (obiekty oznaczone numerami 7, 8, 192, 351, 394 — I grupa) można uznać za obcopylne (tab. 4).

Tabela 4

Rody i odmiany obcopylne i przypuszczalnie obcopylne w kolekcji pszenżyta
The objects showing tendency to cross-pollination in the collection of triticale, I — exceeding the $\mu+2\sigma$ limit; II — exceeding the 2σ limit

Grupa Group	Numer Collection number	Nazwa Name	Liczba ziaren w kłosie — No. of kernels per spike		
			zaizolowane isolated	niezaizolowane non-isolated	różnica difference
I	7	Central	24,3	63,0	38,7
	8	Clercal	28,1	77,8	49,7
	23	FDT906	36,6	58,5	21,9
	192	LAD 278/94	33,8	64,3	30,5
	351	MAH 3600	16,6	50,0	33,4
	394	TIW 439	18,1	54,9	36,8
II	29	TIW93P	43,8	68,7	24,9
	30	CF483	35,3	57,1	21,8
	88	Angus	19	48,4	29,4
	90	Trias	23,1	51,9	28,8
	113	T91040	32,7	53,9	21,2
	127	Pablo	22,2	50,7	28,5
	130	Lamberto	35,9	64,4	28,5
	136	Eldorado	38,4	62,6	24,2
	151	DED697	34,4	55,3	20,9
	152	CT170/80	24,8	46,9	22,1
	167	CHD1013/92	30,0	54,9	24,9
	175	OCH2	26,8	49,6	22,8
	201	DAD3105/88	43,7	64,4	20,7
	223	DED272/91	36,0	58,0	22,0
	236	CHD321/77*Otello	35,7	62,7	27,0
	281	C-135	33,4	59,4	26,0
	284	Nalepa 16	35,8	62,2	26,4
	285	Nalepa1544-2	4,8	27,4	22,6
	288	A x 2/84	47,2	72,0	24,8
	290	Mtz17/80	30,6	53,9	23,3
	307	DED 1136/95	38,6	59,9	21,3
	313	3 SW 94k	38,9	62,8	23,9
	326	A 5/3	15,9	38,8	22,9
	352	MAH 24243-6/8	24,4	45,8	21,4
	375	Grenado	23,4	51,0	27,6

W przypadku przesunięcia przedziału o wartość 2σ uzyskano granicę 'istotności' dla różnicy większej od zera równą 20,52. Obiekty, dla których wartość ocenianej różnicy jest większa od tej liczby zasługują na uwagę i prawdopodobnie również są obcopylne; w tabeli 4 oznaczono je numerami: 4, 7, 8, 23, 29, 30, 88, 90, 113, 127, 130, 136, 151, 152, 167, 175, 192, 201, 223, 236, 281, 284, 285, 288, 290, 307, 313, 326, 351, 352, 375, 394 (II grupa).

DYSKUSJA

Wyhodowanie odmiany, która spełnia wymogi OWT leży w interesie hodowcy, bowiem jest to warunkiem rejestracji odmiany i zapewnia hodowcy jej ochronę. Hodowca prowadzący selekcję powinien uwzględniać cechy roślin, które bierze pod uwagę przy ocenie wyrównania (Banaszak, 1995).

W DANKO Hodowla Roślin Sp. z o.o. już od wczesnych pokoleń rozpoczyna się obserwacje cech morfologicznych u pszenżyta w celu wyboru do dalszej hodowli tylko tych mieszańców, które z dużym prawdopodobieństwem można wyrównać poprzez odpowiednią selekcję. Pomimo jednak dużego wysiłku podczas prac selekcyjnych pojawiają się często w następnych pokoleniach rody hodowlane, w których obserwuje się rośliny o innym pokroju. Szczególnie można było zaobserwować większą liczbę roślin nietypowych w niektórych latach, w tym szczególnie w roku 1996 i 2005.

W analizowanym cytologicznie materiale stwierdzono dość znaczny procent roślin aneuploidalnych, a u 6,04% roślin odnotowano występowanie aberracji chromosomowych. Liczne zaburzenia w procesie mejozy przyczyniają się do aneuploidalności. Zróżnicowanie stopnia aneuploidalności pszenżyta zdaniem Tarkowskiego i wsp. (1989) uzależnione jest od meiotycznej niestabilności. Aberracje chromosomowe mogą być indukowane przez różne czynniki zarówno chemiczne, jak i fizyczne, w tym także przez czynniki środowiska (Rogalska i in., 1999). Analizowane ziarniaki pochodziły z roślin, które w 2005 roku w okresie podziałów meiotycznych miały znacząco niską temperaturę w porównaniu z innymi latami. Być może szok termiczny — niska temperatura spowodowała w potomstwie niektórych form niestabilność cytogenetyczną, która obejmuje zarówno aneuploidalność, jak i aberracje chromosomowe. Pojawienie się ramion chromosomów w postaci addycji czy też delecji, czyli chromosomów telocentrycznych w potomstwie roślin aneuploidalnych, jest zjawiskiem dość częstym i świadczy o występowaniu uniwalentów podczas mejozy. Rozerwane uniwalenty w mejozie, a następnie poprzez przypadkową fuzję chromosomów telocentrycznych w cyklu tzw. „centric break-fusion” są źródłem powstawania chromosomów translokowanych (Lukaszewski, Gustafson, 1983). Jednakże w analizowanym cytologicznie materiale nie stwierdzono translokacji typu „b-f-b”, w których to następuje wymiana całych ramion chromosomów w wyniku połączenia telocentryków różnych chromosomów, a jedynie odnotowano występowanie chromosomów telocentrycznych. Natomiast w ziarniakach pochodzących z kłosów sterylnych w 1996 roku stwierdzono występowanie translokacji (Banaszak i in., 1998). Analiza warunków meteorologicznych w roku 2005 i 1996 oraz badania cytologiczne nie dały jednoznacznej odpowiedzi, co było przyczyną pojawiania się większej liczby kłosów sterylnych. Potwierdzają się znacznie wcześniejsze wnioski Tarkowskiego

i wsp. (1989), że problem stabilności cytologicznej, płodności i innych cech w *Triticale* jest bardzo skomplikowany i w dużym stopniu uzależniony jest od analizowanego materiału hodowlanego.

Dużym ułatwieniem w wyrównywaniu odmian jest zastosowanie techniki *in vitro*, którą stosuje się w DANKO dla wybranych genotypów. Metoda ta nie eliminuje całkowicie selekcji, pojawiają się pewne segregacje w obrębie linii, jednakże w znacznie mniejszym stopniu niż w przypadku hodowli konwencjonalnej (Banaszak, Marciniak, 2001; Banaszak i in., 2006).

Pszenżyto traktowane jest jako gatunek częściowo obcopylny i w związku z tym w nasiennictwie zalecana jest 50 m izolacja od innych plantacji tego gatunku. W DANKO zaawansowane materiały hodowlane rosną w pewnej izolacji, co uniemożliwia zapylenie pyłkiem pochodzącym z innych form pszenżyta, nie jest to jednak możliwe w przypadku wczesnych pokoleń mieszańców. Wprowadzenie metody selekcji eliminują formy bardziej obcopylne, jednak istnieje możliwość, że krzyżują się wewnątrz odmiany. Powoduje to mniejsze lub większe rozszczepienia, prowadzące do pojawienia się segregacji pewnych cech (Tarkowski, 1989).

W materiałach kolekcyjnych pszenżyta, wysianych w DANKO, różny stopień zawiązania ziarniaków pod izolatorami sugeruje zróżnicowany stopień obcopylności. W doświadczeniu Sowy i wsp. (1996) nowe odmiany wykazywały mniejszy poziom obcopylności niż odmiany stare. Mogło to być spowodowane większą cytogenetyczną stabilnością form, które były stosowane w krzyżowaniach w nowszych programach hodowlanych.

PODSUMOWANIE

1. Jedną z przyczyn częściowej sterylności kłosów pszenżyta mogą być zaburzenia podczas podziałów mejotycznych. Nie wszystkie jednak zaburzenia powodują widoczne zmiany w morfologii kłosa.
2. Pszenżyto wykazuje różny poziom obcopylności w zależności od genotypu.

LITERATURA

- Banaszak Z. 1995. Badania odrębności, wyrównania i trwałości pszenżyta na podstawie metodyk UPOV, COBORU i Bundessortenamt. Biul. IHAR nr 195/196: 261 — 264.
- Banaszak Z., Apolinarska B., Marciniak K. 1998. Zjawisko sterylności kłosów pszenżyta. Materiały II Seminarium Krajowego: Aktualne Badania Genetyczne Wspierające Postęp Prac Hodowlanych nad Pszenżytem i Żytem, 22.10.1998, Poznań: 15 s.
- Banaszak Z., Marciniak K. 2001. Wykorzystanie linii DH pszenżyta ozimego w DANKO Hodowla Roślin Sp. z o.o. Materiały II Krajowej Konferencji: Haploidy i linie podwojonych haploidów w genetyce i hodowli roślin. IGR PAN Poznań, 14 listopada 2001: 3 s.
- Banaszak Z., Marciniak K., Banaszak K., Adamski T., Surma M. 2006. Wykorzystanie linii DH pszenżyta w DANKO Hodowla Roślin Sp. z o.o. Pagen: Haploidy i linie podwojonych haploidów w genetyce i hodowli roślin.: 99 — 109.
- Elandt, R. 1964. Statystyka matematyczna w zastosowaniu do doświadczeń rolniczych. PWN, Warszawa.
- Lukaszewski A. J., Gustafson J. P. 1983. Translocations and modifications of chromosomes in *triticale* × wheat hybrids. Theor. Appl. Genet. 64: 239 — 248.
- Rogalska S., Małuszyńska J., Olszewska M. J. 1999. Uszkodzenia chromosomów i naprawa DNA. Podstawy cytogenetyki roślin. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa: 126 — 152.

- Sowa W., Krysiak H. 1996. Outcrossing in winter triticales. In: Guedes-Pinto H., Darvey N., Carnide V. P. Developments in plant breeding. Triticales today and tomorrow. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht: 593 — 596.
- Tarkowski Cz. 1989. Biologia pszenżyta. PWN Warszawa: 15 s.
- Tarkowski Cz., Gruszecka D., Łukaszewski A. J., Apolinarska B. 1989. Cytogenetyka i płodność roślin. W: Biologia pszenżyta, PWN., Warszawa.

HALINA GÓRAL ¹
 MIROSLAW S. POJMAJ ²
 RENATA POJMAJ ²

¹ Katedra Hodowli Roślin i Nasiennictwa Akademia Rolnicza w Krakowie

² Danko Hodowla Roślin Sp. z o.o.

Frekwencja genotypów dopełniających i restorujących dla systemu cms-*T. timopheevi* u pszenżyta ozimego*

Frequency of maintainer and restorer genotypes for the cms-*T. timopheevi* system
winter triticales

W latach 2003–2006 otrzymano i oceniono pod względem męskiej płodności mieszańce F₁ pszenżyta ozimego pochodzące z krzyżowania męskosterylnych linii z cytoplazmą *T. timopheevi* z 169 rodami i odmianami, 52 liniami DH otrzymanymi z 6 rodów i odmian oraz 203 liniami DH wyprowadzonymi z 24 mieszańców F₁ (donor genów nierestorujących × ród/odmiana). Osiem rodów i odmian (4,7%) przywracało w pełni męską płodność u mieszańców F₁, a połowa z nich (52%) charakteryzowała się indeksem restoracji 80–100%. Wśród linii DH otrzymanych z rodów i odmian częściowo restorujących jedna (1,9%) w pełni przywracała płodność, a większość charakteryzowała się indeksem restoracji powyżej 40%. W obu populacjach nie zidentyfikowano linii dopełniających. Dziewiętnaście dopełniających linii DH (9,4%) otrzymano z pokolenia F₁ (donor genów nierestorujących × ród/odmiana). Połowa linii z tej populacji (50,7%) charakteryzowała się indeksem restoracji poniżej 40%, a 3 linie (1,5%) w pełni przywracały płodność. Obserwowano interakcję linia męskosterylna × restorer pod względem stopnia przywrócenia męskiej płodności u mieszańców F₁.

Słowa kluczowe: męska sterylność, przywracanie płodności, pszenżyto ozime

In 2003–2006 we evaluated male fertility of winter triticales F₁ hybrids obtained from crossing male sterile lines (*T. timopheevi* cytoplasm) with 169 cultivars and breeding strains, 52 DH lines from 6 cultivars and lines, and 203 DH lines derived from 24 F₁ hybrids (non-restoring form × cultivar/strain). Eight cultivars and strains (4.7%) fully restored male fertility in hybrids, a half of them (52%) exhibited the restoration index of 80–100%. Among the DH lines from partially restoring cultivars and strains one line (1.9%) fully restored fertility and the majority showed restoration index over 40%. In these first two groups of the investigated material no sterility maintaining lines were identified. However, nineteen maintaining type DH lines (9.4%) were obtained from the F₁ hybrids. A half of the DH lines (50.7%) showed restoration index below 40% and 3 lines (1.5%) fully restored fertility. An interaction of male sterile line × restorer was observed with regard to fertility restoration.

* Pracę wykonano w ramach projektu nr P06 2002C/05926

Key words: male sterility, fertility restoration, winter triticale

WSTĘP

Do produkcji nasion mieszańcowych pszenżyta można wykorzystać chemiczną kastrację matek lub system cytoplazmatyczno-genowej męskiej sterylności, która jest powszechnie używana w hodowli odmian mieszańcowych wielu gatunków. Nalepa (1990, 2003) podaje, że w hodowli heterozyjnej pszenżyta największe znaczenie będą miały cytoplazmy *timopheevi* i *sharonensis*. Utrzymanie męskiej sterylności w systemie *Ae. sharonensis* nie sprawia problemu, natomiast tylko 1–2% odmian przywraca płodność u mieszańców F₁ (Nalepa, 2003). Drugi system, *cms-T.timopheevi* charakteryzuje mała frekwencja genotypów dopełniających (Spiss i Góral, 1994; Warzecha i in., 1996, 1998; Góral, 2002 b; Góral i Spiss, 2005), w dodatku niestabilnych w różnych środowiskach (Nalepa, 2003; Góral i in., 2006). Większość rodów i odmian najczęściej w dużym stopniu, ale nie w pełni przywraca męską płodność (Góral, 2002 b; Góral i Spiss, 2005). Ostatnie badania wykazały kilkunastoprocentową frekwencję zarówno dopełniaczy jak i restorerów dla systemu *cms-T.timopheevi* w meksykańskich materiałach pszenżyta jarego (Ammar i in., 2006). Ze względu na małą frekwencję genotypów utrzymujących męską sterylność w polskich materiałach, konieczne jest ich poszukiwanie wśród dużej liczby odmian i rodów oraz ich planowe wytwarzanie.

Celem badań było porównanie trzech populacji hodowlanych (rodów i odmian, linii DH otrzymanych z rodów nie w pełni przywracających męską płodność oraz linii DH otrzymanych z mieszańców F₁: donor genów nierestorujących × ród/odmiana) pod względem zdolności dopełniania i restoracji.

MATERIAŁ I METODY

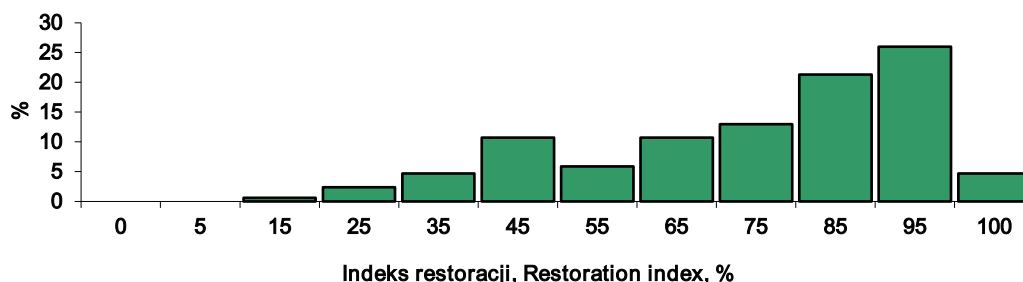
W latach 2003–2006 w Stacji Doświadczalnej Prusy AR w Krakowie oraz w Hodowli Roślin Danko, Oddział Laski wytworzono i oceniono pod względem męskiej płodności 424 mieszańce F₁ pszenżyta ozimego. Mieszańce otrzymano w wyniku krzyżowania męskosterylnych linii pszenżyta ozimego: *cms Salvo 15/1*, *cms Grado* i *cms 19* (cytoplazma *T. timopheevi*) uzyskanych wcześniej (Spiss i Góral, 1994; Góral, 2002 a) z 169 rodami i odmianami pochodzącymi z Hodowli Roślin Danko, 52 liniami DH wyprowadzonymi z 6 rodów i odmian oraz 203 liniami DH otrzymanymi z 24 mieszańców F₁ (linia dopełniająca × ród/odmiana). Linie DH wytworzone zostały w Hodowli Roślin Danko, Oddział Choryń oraz Instytucie Fizjologii Roślin PAN w Krakowie z mieszańców F₁ wytworzonych w Katedrze Hodowli Roślin i Nasiennictwa AR w Krakowie lub wprost z rodów i odmian, sprawdzonych wcześniej pod względem przywracania męskiej płodności.

Mieszańce F₁ (średnio po 28 roślin) wysadzano w rozstawie 40 × 20 cm oraz oceniono męską płodność w skali pięciostopniowej (5 — męskopłodne, 1 — męskosterylne) w czasie kwitnienia roślin oraz na podstawie osadzenia ziaren w izolowanych kłosach, według metodyki opisanej przez Góral (2002 b) i Góral i wsp. (2006). Frekwencję rodów i odmian o różnej zdolności przywracania męskiej płodności w potomstwie roślin

męskosterylnych określono na podstawie indeksu restoracji: $N + 0,5 P$, gdzie N oznacza procent roślin męskopłodnych, a P — procent roślin pośrednich (Geiger i Morgenstern, 1975).

WYNIKI I DYSKUSJA

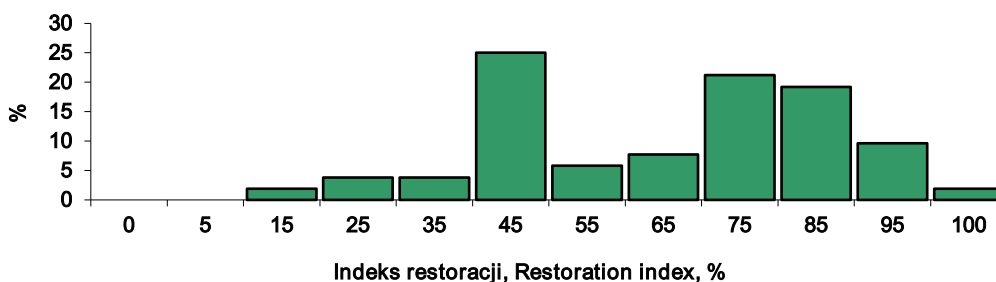
Osiem rodów i odmian (4,7%) przywracało w pełni męską płodność u mieszańców F_1 . Połowa (52%) charakteryzowała się indeksem restoracji 80–100% (rys. 1).



Rys. 1. Udział rodów i odmian (n = 169) pszenżyta ozimego o różnym indeksie restoracji
Fig. 1. Distribution of restoration index in the group of winter triticale cultivars and strains (n = 169)

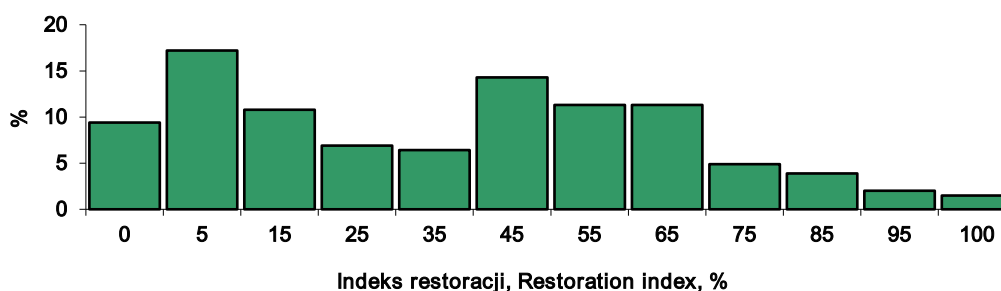
Większość potomstw F_1 składała się z roślin męskopłodnych, pośrednich i męskosterylnych, z przewagą roślin męskopłodnych. Otrzymane dane są zgodne z wcześniejszymi wynikami badań uwzględniającymi pszenżyto ozime i jare z różnych ośrodków hodowlanych oraz z kolekcji AR w Lublinie (Góral, 2002 b; Góral i Spiss, 2005), na podstawie których stwierdzono bardzo małą frekwencję genotypów w pełni restorujących, brak lub pojedyncze genotypy dopełniające oraz większość nie w pełni restorujących. Nalepa (1990, 2003) oraz Warzecha i wsp. (1996, 1998) także stwierdzili większą częstość przywracania płodności niż utrzymywania męskiej sterility u pszenżyta z cytoplazmą *T. timopheevi*. Ammar i wsp. (2006) informują natomiast o 17% frekwencji dopełniaczy i 14% restorerów w meksykańskich materiałach pszenżyta jarego.

Różne schematy hodowli homozygotycznych linii dopełniających u pszenżyta ozimego z wykorzystaniem techniki otrzymywania linii podwojonych haploidów zaproponowali Góral (2002 a), Warzecha i Salak-Warzecha (2002) oraz Góral i Spiss (2005). Sama homozygotyzacja rodów i odmian częściowo restorujących za pomocą techniki linii DH nie przyniosła oczekiwanych rezultatów, prawdopodobnie z powodu braku u nich kompletu genów nierestorujących, a nie ich heterozygotyczności. Wśród 52 linii DH otrzymanych z rodów i odmian o częściowej restoracji nie zidentyfikowano linii dopełniających. Jedna linia w pełni przywracała męską płodność, 5 linii charakteryzowało się 10–40% indeksem restoracji, a pozostałe — większym niż 40% (rys. 2).



Rys. 2. Udział linii DH o różnym indeksie restoracji, otrzymanych z rodów i odmian
Fig. 2. Distribution of restoration index in the group of the DH lines from cultivars and strains

Genotypy dopełniające otrzymano w wyniku przeniesienia genów nierestorujących do rodów i odmian poprzez rekombinację z wykorzystaniem techniki linii DH. Dziewiętnaście linii DH (9,4%) otrzymanych z pokolenia F₁ (linia dopełniająca × ród/odmiana) utrzymywało męska sterility, a 3 (1,5%) w pełni przywracały płodność. Połowa linii (50,7%) charakteryzowała się indeksem restoracji poniżej 40% (rys. 3).



Rys. 3. Udział linii DH o różnym indeksie restoracji, otrzymanych z F₁: linia dopełniająca × ród/odmiana
Fig. 3. Distribution of restoration index in the group of the DH lines from F₁ hybrids: maintainer × cultivar/strain

Męska sterility w systemie *cms-T. timopheevi* u pszenżyta warunkowana jest prawdopodobnie kilkoma niezależnie działającymi recesywnymi genami o różnej sile działania (dane niepublikowane). Technika linii podwojonych haploidów pozwoliła na identyfikację dopełniających linii DH w 2ⁿ razy mniejszej populacji niż byłoby to możliwe w populacji F₂ otrzymanej z krzyżowania linia dopełniająca × biorca genów nierestorujących.

Mimo małej frekwencji genotypów w pełni restorujących przywracanie płodności w systemie *cms-T. timopheevi* nie powinno stwarzać problemów, ponieważ indeks restoracji powyżej 90% może być wystarczający w produkcji nasion mieszańcowych ze

względem na skłonność pszenżyta do obco płodności i związaną z tym pewną tolerancję na niepełne przywrócenie męskiej płodności. Dużym ograniczeniem wykorzystania tego systemu jest mały udział genotypów utrzymujących męską sterylność w polskich materiałach hodowlanych. Geny nierestorujące mogą być wprowadzane do określonych rodów drogą krzyżowania wypierającego z wykorzystaniem techniki linii podwojonych haploidów w celu szybkiej homozygotyzacji i łatwiejszej selekcji linii dopełniających.

Podobnie jak w przypadku cms-*Pampa* u żyta (Geiger i Miedaner, 1996; Kolasińska, 2001) obserwowano interakcję linia męskosterylna $\times$ restorer pod względem stopnia przywrócenia męskiej płodności u mieszańców F_1 (tab. 1). Niektóre mieszańce F_1 otrzymane z krzyżowania różnych linii matecznych z tą samą linią ojcowską miały podobny indeks restoracji, inne — bardzo różny.

Tabela 1

Interakcja linia cms $\times$ forma ojcowska pod względem przywracania płodności w pokoleniu F_1
Interaction: cms line $\times$ male form with regard to fertility restoration in F_1 hybrids

Mieszaniec — Hybrid	Indeks restoracji — Restoration index (%)
cms Salvo $\times$ P 15	86,8
cms 19 $\times$ P15	57,5
cms Salvo $\times$ P 31	95,0
cms 19 $\times$ P 31	100,0
cms Salvo $\times$ P 25	57,5
cms 19 $\times$ P 25	90,0
cms Salvo $\times$ P 31	57,5
cms 19 $\times$ P 31	92,5
cms 19 $\times$ P 35	84,2
cms Malno $\times$ P 35	50,0
cms 19 $\times$ P 41	32,4
cms Malno $\times$ P 41	52,6
cms 19 $\times$ P 43	100,0
cms Malno $\times$ P 43	77,5
cms 19 $\times$ P 46	65,0
cms Malno $\times$ P 46	100,0
cms 19 $\times$ P 52	97,5
cms Malno $\times$ P 52	95,0

WNIOSKI

1. Wśród badanych odmian i rodów oraz linii DH otrzymanych z rodów i odmian nie w pełni restorujących nie znaleziono gotowych genotypów dopełniających. Większość rodów i odmian oraz linii DH charakteryzowała się niepełną zdolnością restoracji.
2. Nowe genotypy dopełniające można otrzymać w wyniku przeniesienia do rodów i odmian genów nierestorujących z istniejących linii dopełniających poprzez rekombinację (linia dopełniająca $\times$ ród/odmiana) i homozygotyzację z wykorzystaniem techniki linii DH. Ponad 9% w ten sposób otrzymanych linii DH utrzymywało męską sterylność.

3. Ze względu na interakcję męskosterylna linia mateczna $\times$ linia przywracająca płodność hodowla uniwersalnych restorerów będzie wymagała testowania ich zdolności do restoracji uwzględniającego kilka matek.

LITERATURA

- Ammar K., Crossa J., Pfeiffer W. H. 2006. Developing a hybrid seed production system and evaluation of heterosis levels in hybrids from CIMMYT's spring triticale germplasm. Abstracts of 6th Int. Triticale Symp. Stellenbosch, South Africa, 3–7 September, 2006: 27 — 28.
- Geiger H. H., Miedaner T. 1996. Genetic basis and phenotypic stability of male-fertility restoration in rye. Vortr. Pflanzenzüchtg. 35: 27 — 38.
- Geiger H. H., Morgenstern K. 1975. Angewandt-genetische Studien zur cytoplasmatischen Pollensterilität bei Winterroggen. Theor. Appl. Genet. 46: 269 — 276.
- Góral H. 2002 a. Biologiczno-hodowlane aspekty wykorzystania heterozji u pszenżyta (X *Triticosecale* Wittmack). Zesz. Nauk. AR w Krakowie, ser. Rozprawy, nr 283.
- Góral H. 2002 b. Ocena męskiej płodności mieszańców F₁ pszenżyta ozimego z cytoplazmą *Triticum timopheevi*. Folia Univ. Agric. Stetin. Agricultura 228 (91): 17 — 22.
- Góral H., Spiss L. 2005. Hodowla dopełniaczy i restorerów dla systemu cms-*T.timopheevi* u pszenżyta jarego. Biul. IHAR 236: 99 — 104.
- Góral H., Warzecha T., Stojalowski S., Pojmaj M., Kurlito D., Trąbka A., Spiss L. 2006. Stability of male sterility and fertility restoration in the cms-*T.timopheevi* system in triticale. Folia Univ. Agric. Stetin. 247 (100): 55 — 62.
- Kolaszńska I. 2001. Przywracanie płodności pyłku u mieszańców żyta CMS-Pampa $\times$ restorer. Biul. IHAR 218/219: 341 — 349.
- Nalepa S. 1990. Hybrid triticale: present and future. Proc. of the Second Intern. Triticale Symp. Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brasil, 1–5 October 1990, CIMMYT, Mexico: 402 — 407.
- Nalepa S. 2003. Perspektywy hodowli pszenżyta w Resource Seeds Inc. w USA. Biul. IHAR 230: 143 — 146.
- Spiss L., Góral H. 1994. Hodowla form męskosterylnych i przywracających płodność u pszenżyta. Zesz. Nauk. AR w Szczecinie 162, ser. Rolnictwo, 58: 243 — 246.
- Warzecha R., Salak-Warzecha K., Staszewski Z. 1996. CMS system in hexaploid triticale. Eds. H. Guedes-Pinto, N. Darvey and V. P. Carnide: Triticale: today and tomorrow. Kluw. Acad. Publ., Dordrecht: 225 — 232.
- Warzecha R., Salak-Warzecha K., Staszewski Z. 1998. Development and use of triticale CMS system in hybrid breeding. Proc. of the 4th Intern. Triticale Symp. Red Deer, Alberta, Canada, July 26–31, 1998: 79 — 85.
- Warzecha R., Salak-Warzecha K. 2002. Hybrid triticale — prospects for research and breeding — Part II: Development of male sterile lines. Proc. 5th Int. Triticale Symp., IHAR Radzików, Poland, 30 June–5 July 2002, vol. I: 193 — 198.

STEFAN STOJAŁOWSKIKatedra Genetyki i Hodowli Roślin
Akademia Rolnicza w Szczecinie

Polimorfizm markerów STS i SSR w obrębie linii wsobnych żyta*

Polymorphism of STS and SSR markers in rye inbred lines

Dwadzieścia pięć markerów STS oraz dwanaście markerów mikrosatelitarnych (SSR) zostało wykorzystanych do oceny genetycznego zróżnicowania w obrębie 15 linii wsobnych żyta. Polimorficzne fragmenty DNA zidentyfikowano w obrębie dwudziestu loci STS i jedenastu SSR. Oba systemy markerowe okazały się być skuteczne przy rozróżnianiu badanych genotypów żyta, ale markery SSR okazały się bardziej polimorficzne i w związku z tym wydają się być efektywniejsze w identyfikowaniu poszczególnych linii. Poziom genetycznego zróżnicowania oceniony na podstawie wszystkich użytych w pracy markerów mieścił się w granicach od 0,10 do 0,58. Dendrogram skonstruowany w oparciu o wykryty polimorfizm markerów STS i SSR był zasadniczo zgodny z danymi o pochodzeniu badanych linii.

Słowa kluczowe: markery molekularne, SSR, STS, żyto

Twenty five STS and twelve microsatellite (SSR) markers were used for the evaluation of genetic diversity among 15 inbred lines of rye. Polymorphic DNA fragments were identified in twenty STS and eleven SSR loci. Although both marker systems were able to discriminate the analyzed rye genotypes, SSRs proved to be more polymorphic which makes them more prospective for taxonomic purposes. Genetic diversity among inbred lines, assessed on the basis of all markers used in the study, ranged from 0.10 to 0.58. Dendrogram based on STS and SSR polymorphisms was generally consistent with the pedigree data.

Key words: molecular markers, rye, SSR, STS

WSTĘP

Żyto uprawne (*Secale cereale* L.) należy do najważniejszych gatunków uprawnych w Polsce, ale w skali światowej jego znaczenie gospodarcze jest raczej znikome. Stąd też systematyczny postęp badań z zakresu genetyki molekularnej, jaki obserwujemy u wielu innych gatunków uprawnych, w mniejszym zakresie dotyczy analiz genomu żyta. Dodatkowym czynnikiem utrudniającym badania genetyczne żyta jest obcopylność tego gatunku. Pomimo tego ilość dostępnych danych o specyficznych sekwencjach genomu

* Praca dofinansowana przez AR w Szczecinie w ramach badań własnych BW//03/06

żytniego systematycznie wzrasta umożliwiając coraz szersze wykorzystanie osiągnięć genetyki molekularnej w praktycznej hodowli.

Wykorzystanie markerów molekularnych w badaniach genetycznych i pracach hodowlanych nad żytem (i wieloma innymi roślinami uprawnymi), zmierza w dwóch podstawowych kierunkach. Pierwszy ma na celu opracowanie technik pozwalających na identyfikowanie w ramach pojedynczej analizy wielu polimorficznych, ale często nieokreślonych pod względem lokalizacji, regionów genomu żytniego. Techniki pozwalające na tego rodzaju analizy to przede wszystkim RAPD (Williams i in., 1990), ISSR (Zietkiewicz i in., 1994), AFLP (Vos i in., 1995) czy też opracowana w ostatnich latach technologia DArT — Diversity Arrays Technology (Jaccoud i in., 2001). U żyta techniki te wykorzystywane są głównie do określania poziomu zróżnicowania genetycznego pomiędzy genotypami (Bednarek i in., 1999; Myśków i in., 2001; Stojalowski i in., 2004) oraz do poszukiwania markerów sprzężonych z ważnymi gospodarczo cechami (Börner i in., 1998; Masojć i in., 1999; Miftahudin i in., 2002).

Drugi nurt prac nad markerami molekularnymi zmierza do opracowania markerów specyficznych, o znanej lokalizacji chromosomowej, takich jak markery SSR (mikrosatelity) i STS (sequence target site) / SCAR (sequence characterised amplified region). Tego rodzaju markery od kilku lat opracowywane są również dla żyta (Hackauf i Wehling, 2002; Gonzalez i in., 2002; Stracke i in., 2003). Pod pewnymi względami są one nieco mniej przydatne do określania globalnego zróżnicowania genetycznego pomiędzy różnymi obiektami, gdyż przeważnie w ramach jednej analizy pozwalają na określenie polimorfizmu w pojedynczym locus. Tym samym całościowa analiza staje się bardziej praco- i kosztochłonna. Z drugiej jednak strony stosunkowo wysoki polimorfizm sekwencji mikrosatelitarnych oraz ich rozproszenie po całym genomie sprawia, że analizy z wykorzystaniem markerów SSR dawały dobre efekty przy próbach oceny zróżnicowania genetycznego między liniami wsobnymi żyta (Bolibok i in., 2005). Polimorficzne markery SSR lub STS, po wykazaniu ich związku z ważnymi gospodarczo genami mogą również stać się bardzo wartościowym narzędziem w ramach prac selekcyjnych i tym samym przyczyniać się do przyspieszenia postępu w hodowli nowych odmian. Markery SSR są pod tym względem szczególnie cenione, głównie z uwagi na kodominujący charakter dziedziczenia. Przeważnie wymagają one jednak wykonania rozdziału elektroforetycznego w poliakrylamidzie. Dużo łatwiejsze i tańsze jest wykonywanie analiz techniką charakterystyczną dla markerów STS/SCAR (rozdział elektroforetyczny w agarozie). Tego typu markery uważane są jednak za znacznie mniej polimorficzne od mikrosatelitów, co z oczywistych względów ogranicza możliwości wykorzystania ich w praktyce.

Celem niniejszej pracy było określenie poziomu polimorfizmu dostępnych markerów STS w porównaniu z markerami mikrosatelitarnymi oraz określenie przydatności obu tych technik markerowych do oceny zróżnicowania genetycznego pomiędzy liniami wsobnymi żyta ozimego.

MATERIAŁ I METODY

Materiał roślinny

Materiał do badań stanowił zestaw piętnastu linii wsobnych żyta o zróżnicowanym pochodzeniu (tab. 1). DNA do badań izolowano przy użyciu zestawu Genomic Mini (A&A Biotechnology) z liści pobieranych w fazie krzewienia roślin. Uzyskane preparaty DNA rozcieńczano do finalnej koncentracji 15 ng/μl i w tej postaci wykorzystywano do reakcji PCR.

Tabela 1

Pochodzenie badanych linii wsobnych żyta
Origin of analyzed inbred lines of rye

Linia wsobna Inbred line	Populacja wyjściowa Source population	Hodowla Breeder	S ¹⁾
541-6	KaH9 × [(MS69-8-1 × Smolickie)F ₂ MS × KaH]F ₁ MP	AR Szczecin	22
Ot1-3	Otello	AR Szczecin	20
544-7	(<i>S.kuprijanovii</i> × Smolickie)BC ₅ × [(MS69-8-1 × Smolickie)F ₂ MS × KaH]F ₁ MP	AR Szczecin	20
Ot0-20	Otello	AR Szczecin	21
S120	LG3 × Szk10	DANKO	12
S76	LG3 × Amilo	DANKO	10
711/81k	[(544 × K221)F ₁ × 541]F ₁ × 541	AR Szczecin	18
DS-2	<i>S.dighoricum</i> × Smolickie	AR Szczecin	22
RXL10	Zeelandzkie	AR Szczecin	21
L1	Petkuser Normal	Univ. Hohenheim	24
153/79	541-6 × 544-7	AR Szczecin	15
620/75-1-5	Dańkowskie Złote	AR Szczecin	18
S436N	MatS × Dominator	DANKO	6
2020LM-3	nieznana	IHAR	7
51527LM	nieznana	IHAR	7

¹⁾ Pokolenie chowu wsobnego; Generations of inbreeding

Analizy STS (sequence target site)/SCAR (sequence characterised amplified region)

Reakcje PCR prowadzono z wykorzystaniem 25 par starterów (tab. 2) opisanych w pracach Gonzalez i wsp. (2002), Mago i wsp. (2002, 2005) oraz Stracke i wsp. (2003), zaprojektowanych w oparciu o dane z bazy NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/-index.html, sekwencje: AF305943, AY587500, AY587501, AY587508, AY587510, AY587511, AY615365, AY954973, DQ234070, DQ234071, DQ295068) lub na podstawie niepublikowanych rezultatów badań własnych (SCSz732L530, startery: ACGCCCAGCCCATGAGATGA/ACGCCCAGCCGTCACAGCAA; SCSz980L650B, startery: ACGATCGCTCCGATAAATAG/ACGATCGCTCATAGAATCCA).

Reakcje PCR prowadzono w termocyklerze GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems). Mieszanina reakcyjna, o objętości 20 μl, zawierała 15 ng DNA, 7 pmol każdego startera, 0,9U Taq polimerazy (MBI Fermentas), 2mM MgCl₂, 70 μM dNTP, bufor PCR z dodatkiem siarczanu amonowego (75mM Tris-HCl, pH8.8, 20mM (NH₄)₂SO₄, 0.01% Tween 20). Zastosowano następujący profil termiczny reakcji PCR: wstępną denaturację przez 3 min w 94°C; 10 cykli: 92°C przez 30 s., 65°C (-1°C/cykl) przez

90 s., 72°C przez 60 s.; 25 cykli: 92°C przez 30 s., 55°C przez 60 s., 72°C przez 60 s.; końcowa elongacja w 72°C przez 5 min. Produkty amplifikacji rozdzielano w 1,5% żelach agarozowych w buforze TBE (90 mM Tris-borate, 2 mM EDTA). Żele z produktami amplifikacji uwidocznionymi przy użyciu bromku etydyny dokumentowano w aparacie Fluor S Multi Imager firmy BioRad.

Analizy SSR (simple sequence repeat)

Analizy markerów SSR prowadzono z wykorzystaniem automatycznego sekwenatora kapilarowego CEQ 8000, firmy Beckmann-Coulter. Zmodyfikowano w tym celu metodykę opisaną w pracy Khlestkiny i wsp. (2004). Sekwencja jednego ze starterów SSR (*forward primer*) w każdej parze została wydłużona od strony 5' o 17-nukleotydową sekwencję identyczną ze starterem M13. Mieszanina reakcyjna o ogólnej objętości 10 µl zawierała 0,5 pmol wydłużonego startera SSR-forward, 2,5 pmol startera SSR-reverse (o normalnej długości), 1,5 pmol startera M13 wyznakowanego barwnikiem fluorescencyjnym, 0,5U polimerazy typu hot-start (VivaTaq polimeraza DNA firmy Novazym), bufor reakcyjny (70 mM Tris-HCl, pH8.3, 16,6 mM (NH₄)₂SO₄, 2,5 mM MgCl₂), 140 µM każdego dNTP i 15ng DNA. Reakcje PCR prowadzono w termocyklerze Mastercycler Gradient (Eppendorf) według następującego profilu temperaturowego: wstępna denaturacja w 95°C przez 15 min.; 5 cykli: 94°C przez 30 s., 60°C (-1°C/cykl) przez 60 s., 72°C przez 60 s.; kolejne 5 cykli: 94°C przez 30 s., 68°C (-1°C/cykl) przez 60 s., 72°C przez 60 s.; następnych 28 cykli: 94°C przez 30 s., 48°C przez 45 s., 72°C przez 60 s.; końcowa elongacja w 72°C przez 10 min. Uzyskane produkty amplifikacji mieszano z zawierającym formamid roztworem Sample Loading Solution (Beckman-Coulter) i rozdzielano w obecności wzorca masowego CEQ DNA Standard 400. Do analizy fragmentów wykorzystywano standardowe oprogramowanie aparatu CEQ 8000. Wielkości uzyskanych produktów amplifikacji podane w niniejszej pracy zostały pomniejszone w porównaniu z danymi uzyskanymi z analizy fragmentów o 17 nukleotydów stanowiących wydłużoną część startera SSR-forward. W pracy użyto 12 markerów SSR pochodzących z BAZ Database of *Secale cereale* Microsatellites (SCM) udostępnionej przez Institut für Landwirtschaftliche Kulturen, Gross Lüsewitz, Niemcy (www.bafz.de), których lokalizacja chromosomowa została podana przez Hackaufa i Wehlinga (2003).

Analiza danych

Dla każdego z markerów użytych w niniejszej pracy obliczono według podanego poniżej wzoru, wartość współczynnika PIC (polymorphic information content) informującego o przydatności danego markera do rozróżniania badanych genotypów (Powell i in. 1996).

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2$$

gdzie p_i oznacza częstotliwość występowania i -tego allela.

Dla analizowanych linii wsobnych żyta obliczono również współczynniki różnicowania genetycznego przy zastosowaniu równania Neia (Nei i Li, 1979) oraz wykreślono metodą UPGMA dendrogram ilustrujący zaobserwowane relacje. Konstrukcję

dendrogramu wykonano przy użyciu programu NTSYS-pc v.2.20j (Applied Biostatistics Inc.).

WYNIKI

Większość z użytych markerów STS pozwalała na amplifikację pojedynczych, specyficznych fragmentów DNA, a ewentualny polimorfizm w obrębie tych markerów wynikał z obecności alleli „null”, czyli braku amplifikacji danego fragmentu STS u niektórych genotypów. Spośród dwudziestu pięciu par starterów STS użytych do analiz średnio co piąty nie ujawniał polimorfizmu w obrębie testowanych genotypów żyta (tab. 2). Wśród pozostałych markerów dwa: IB267 z chromosomu 1R i OPO10_896 o nieznanej lokalizacji generowały produkty amplifikacji tylko u pojedynczych linii wsobnych. Tym samym ich zdolność do rozróżniania genotypów żyta mierzona wartością współczynnika PIC była bardzo niska. Najlepszą zdolnością do identyfikowania różnic pomiędzy genotypami charakteryzowała się grupa czterech markerów: iag95, OPQ4_578, P6M12P i SCSz980L650B, które charakteryzowały się obecnością trzech lub nawet czterech (iag95) alleli — poza allelami „null” generowały u poszczególnych linii wsobnych produkty amplifikacji o różnych wielkościach. Wśród markerów, u których stwierdzono obecność tylko dwóch alleli największe możliwe do uzyskania wartości współczynnika PIC odnotowano dla OPB19_968, OPO7_666 i SCP14M55. Średnia liczba alleli identyfikowanych przy użyciu pojedynczej pary starterów wyniosła 2,00, a przeciętna wartość współczynnika PIC dla wszystkich analizowanych markerów STS - 0,334.

Różne allele markerów mikrosatelitarnych ujawniane były w formie produktów amplifikacji o różnej wielkości. Nie obserwowano tu alleli „null”, dzięki czemu markery SSR wykazują kodominujący charakter dziedziczenia. Właściwość ta, bardzo ceniona w analizach z wykorzystaniem markerów molekularnych, pozwoliła na wykrycie reszkowej heterozygotyczności u dwóch spośród badanych linii wsobnych. Linie S436N i 51527LM, należące do stosunkowo mało zaawansowanych w chowie wsobnym materiałów (tab. 1), charakteryzowały się obecnością dwóch produktów amplifikacji w locus SCM31 z chromosomu 2R (tab. 3). Wśród dwunastu markerów SSR tylko jeden nie dał polimorficznych produktów amplifikacji. Pozostałe markery charakteryzowały się w większości obecnością 2–3 form allelicznych. Jedynie marker SCM126 generował u badanych linii wsobnych aż pięć allelicznych produktów amplifikacji. Zdolność do rozróżniania genotypów mierzona wartością współczynnika PIC była w przypadku markerów mikrosatelitarnych nieco wyższa niż w przypadku produktów STS. Średnia liczba alleli przypadająca na jeden locus mikrosatelitarny to 2,5, a przeciętna wartość PIC — 0,445.

Współczynniki odległości genetycznej między poszczególnymi liniami wsobnymi mieściły się w dość szerokim zakresie od 0,10 do 0,58. Zgodnie z oczekiwaniami najmniejsze zróżnicowanie pomiędzy genotypami obserwowano między liniami spokrewnionymi ze sobą: 541-6, 544-7, 711/81k i 153/79 (tab. 4).

Tabela 2

Występowanie markerów STS u badanych linii żyta (1 — obecność prążka, 0 — brak prążka)
Distribution of STS markers among rye inbred lines (1 — band's presence; 0 — ull)

Marker	Chromosome Chromosome	Długość produktów (pz) Products length (bp)	541-6	Ori-3	544-7	Oio-20	S120	S76	711/81k	DS-2	RXL10	L1	153/79	620/75-1-5	S436N	2020LM-3	515ZTLM	PIC
G15_510 ^{Nj}	?	510	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0,00
G15_983 ^{Nj}	?	983	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0,00
iag95 ^{Mj}	IR	1150	1	0	1	1	0	0	0	1	0	1	1	1	0	1	1	0,65
		1100	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
		1000	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
IB267 ^{Mj}	IR	220	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,12
OPA16_795 ^{Gj}	4R	795	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0,00
OPA16_1084 ^{Cj}	4R	1084	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0,32
OPB19_968 ^{Nj}	6R	968	0	1	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0,50
OPH20_1494 ^{Nj}	?	1494	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0,00
OPN1_667 ^{Nj}	7R	667	0	1	1	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	1	1	0,48
OPO7_666 ^{Nj}	7R	666	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0,50
OPO10_896 ^{Nj}	?	896	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0,12
OPQ4_578 ^{Nj}	7R	578	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0,64
		1000	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	
OPS4_756 ^{Gj}	4R	756	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0,32
P6M12P ^{Mj}	IR	190	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0,59
		320	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	

c.d. Tabela 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
PKABA1 ^{N)}	2R	1050	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0,32
SCIM819_1434 ^{N)}	7R	1434	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0,44
SCM812_1138 ^{N)}	7R	1138	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0,32
SCP12M56 ^{S)}	4R	300	0	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0,48
SCP14M55 ^{S)}	4R	230	0	1	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	0,50
SCP15M55 ^{S)}	4R	260	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0,39
SCP16M58 ^{S)}	4R	180	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0,39
SCP44M51 ^{S)}	4R	220	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0,00
SCSz732L530 ^{W)}	1R	530	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0,39
SCSz980L650B ^{W)}	6R	380	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,50
		650	1	0	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	0	1	1	
SCY09d ^{S)}	4R	470	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	0	1	0,39

G) Sekwencje starterów wg Gonzalez i in. (2002); Primer sequences according to Gonzales et al. (2002)

M) Sekwencje starterów wg Mago i in. (2002, 2005); Primer sequences according to Mago et al. (2002, 2005)

N) Sekwencje starterów zaprojektowane w oparciu o dane z bazy NCBI; Primer sequences from NCBI database

^{W)} Sekwencje starterów zaprojektowane na podstawie własnych (niepublikowanych) badań nad żytem; Primer sequences developed on the basis of unpublished studies on rye

^{S)} Sekwencje starterów wg Stracke i in. (2003); Primer sequences according to Stracke et al. (2003)

Skład alleliczny w loci mikrosatelitarnych u badanych linii wsobnych żyta (1- obecność allelicznego prążka; 0 – brak prążka)
Allelic composition in microsatellite loci among rye inbred lines (1 – allelic band present, 0 – allelic band absent)

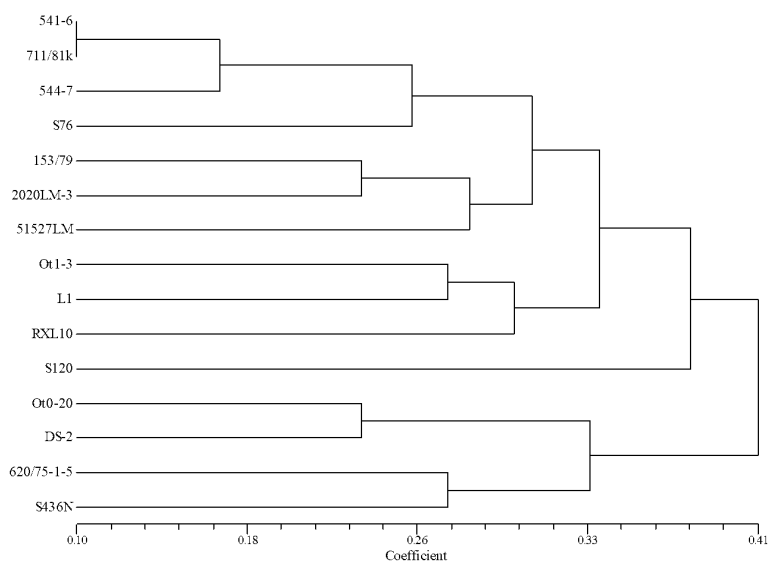
[illegible]

Tabela 4

Macierz odległości genetycznych między liniami wsobnymi żyta otrzymana przy wykorzystaniu polimorfizmu markerów SCAR i SSR

Matrix of genetic distances among inbred lines of rye based on polymorphisms of SCAR and SSR markers

Ot1-3	0,47																
544-7	0,13	0,43															
Ot0-20	0,55	0,35	0,55														
S120	0,33	0,50	0,37	0,45													
S76	0,23	0,33	0,23	0,55	0,33												
711/81k	0,10	0,47	0,20	0,58	0,40	0,30											
DS-2	0,45	0,42	0,42	0,23	0,45	0,45	0,48										
RXL10	0,30	0,33	0,30	0,55	0,40	0,37	0,33	0,42									
L1	0,27	0,27	0,23	0,38	0,33	0,27	0,37	0,42	0,27								
153/79	0,28	0,38	0,18	0,47	0,38	0,32	0,38	0,40	0,35	0,25							
620/75-1-5	0,38	0,42	0,42	0,37	0,35	0,32	0,45	0,40	0,42	0,38	0,43						
S436N	0,38	0,35	0,35	0,30	0,42	0,28	0,35	0,27	0,42	0,38	0,33	0,27					
2020LM-3	0,35	0,28	0,25	0,37	0,42	0,32	0,35	0,37	0,35	0,32	0,23	0,40	0,23				
51527LM	0,32	0,35	0,25	0,47	0,35	0,32	0,38	0,47	0,35	0,35	0,23	0,30	0,33	0,33			
Linie wsobne żyta Inbred lines of rye	541-6	Ot1-3	544-7	Ot0-20	S120	S76	711/81k	DS-2	RXL10	L1	153/79	620/75-1-5	S436N	2020LM-3			



Rys. 1. Dendrogram UPGMA, przedstawiający relacje odległości genetycznej między liniami wsobnymi żyta, wyznaczone przy użyciu markerów STS i SSR

Fig. 1. UPGMA dendrogram showing genetic distances among inbred lines of rye, determined by STS and SSR markers

Wszystkie te cztery linie zostały wytworzone w AR Szczecin w ramach programu hodowli linii dopełniających dla cytoplazmy sterylizującej CMS-C. Wyższy poziom zróżnicowania zaobserwowano pomiędzy liniami Ot1-3 i Ot0-20, które wyprowadzono z tej samej populacji wyjściowej — odmiany Otello (tab. 1). Jednocześnie obie te linie, a w szczególności Ot0-20, bardzo znacząco różniły się od wymienionych wyżej linii dopełniających. Zależności te znalazły potwierdzenie w rozmieszczeniu poszczególnych linii w obrębie dendrogramu (rys. 1). Analiza UPGMA ujawniła obecność dwóch głównych grup skupień. Do jednej z nich zaliczone zostały cztery linie: Ot0-20, DS-2, 620/75-1-5 i S436N, z których każda w dość wyraźny sposób odróżniała się od pozostałych. W drugiej grupie skupień znalazła się reszta linii, wśród których największe podobieństwo zaobserwowano między liniami 541-6, 711/81k i 544-7. W nieco większej odległości od nich znalazła się czwarta z linii dopełniających — 153/79.

DYSKUSJA

Większość markerów STS u żyta zostało opracowanych poprzez zsekwencjonowanie produktów RAPD lub AFLP (Gonzalez i in., 2002; Mago i in., 2002, 2005; Stracke i in., 2003). Głównym celem tego rodzaju przekształceń markerów o małej specyficzności w markery STS jest przeważnie chęć wykorzystania ich dalej do prac selekcyjnych. Markery STS pozwalają bowiem przy niewielkich nakładach pracy i pieniędzy na szybkie analizowanie dużej liczby obiektów. Podstawową wadą tego typu markerów jest jednak często niezadowalający poziom polimorfizmu obserwowany w materiałach hodowlanych. Wśród przebadanych dwudziestu pięciu markerów tylko 80% wykazywało polimorfizm w badanym materiale, który charakteryzował się dość dużym zróżnicowaniem pod względem pochodzenia. Wartość wskaźnika PIC tylko dla połowy polimorficznych markerów STS przekroczyła wartość 0,40. Pod względem poziomu wykrywanego polimorfizmu wyraźnie lepsze okazały się markery SSR, których dodatkową zaletą jest kodominujący charakter dziedziczenia. Tego rodzaju dziedziczenie może co prawda być obecne również w przypadku markerów STS, ale jak tego dowodzą rezultaty Stracke i wsp. (2003) przy przekształcaniu fragmentów RAPD i AFLP w markery specyficzne kodominację obserwuje się raczej rzadko.

Stosunkowo duży polimorfizm i wysokie wartości wskaźnika PIC w obrębie większości markerów mikrosatelitarnych świadczy o ich przydatności do prac związanych z identyfikacją linii wsobnych i oceną poziomu zróżnicowania genetycznego pomiędzy nimi. Podobne obserwacje poczynili Bolibok i wsp. (2005) sugerując jednocześnie, że prawidłowa ocena dystansów genetycznych pomiędzy badanymi genotypami żyta powinna się opierać o wykorzystanie różnych systemów markerowych, gdyż każdy z nich może wykrywać polimorfizm w innych obszarach genomu. Jednocześnie dobór markerów amplifikowanych w obrębie różnych chromosomów może sprzyjać uzyskiwaniu bardziej wiarygodnych wyników (Myśków i in., 2001). Zaprezentowane wyniki oceny zróżnicowania genetycznego pomiędzy liniami wsobnymi żyta oparte są o markery amplifikowane w obszarze wszystkich siedmiu chromosomów żyta przy zastosowaniu dwóch technik markerowych. Niewątpliwie w związku z często niezadowalającym

poziomem polimorfizmu markerów STS, tylko niektóre z nich należałoby zalecić do prowadzenia badań nad zróżnicowaniem genetycznym materiałów hodowlanych.

Uzyskane w niniejszej pracy wyniki oceny podobieństwa genetycznego okazały się być w znacznym stopniu zgodne z dostępnymi danymi rodowodowymi. Co prawda linie wywodzące się z tej samej populacji wyjściowej: Ot1-3 i Ot0-20 wykazywały dość wysoki poziom zróżnicowania, ale z uwagi na populacyjny charakter odmiany Otello wynik ten nie wydaje się być zaskakujący. Znajduje on zresztą potwierdzenie we wcześniejszych badaniach z zastosowaniem techniki RAPD (Myśków i in., 2001). Z uwagi na fakt, że z populacji wyjściowej o pozornie identycznym pochodzeniu możemy uzyskać materiały znacząco różniące się genetycznie, Graner i wsp. (1994) uważają, że wyniki oceny zróżnicowania genetycznego otrzymywane technikami genetyki molekularnej są często wartościowsze dla hodowli niż same dane rodowodowe. Oczywiście precyzja tego rodzaju analiz wzrasta wraz z ilością stosowanych technik markerowych (Bolibok i in., 2005) oraz liczbą badanych loci. Tym samym uzyskane w niniejszej pracy wyniki podobieństwa genetycznego bazujące na ocenie polimorfizmu w obrębie 37 loci STS i SSR niewątpliwie nie mogą być traktowane jako ostateczne.

WNIOSKI

1. Polimorfizm wykrywany przy użyciu markerów STS jest u linii wsobnych żyta znacząco mniejszy niż w przypadku zastosowania markerów mikrosatelitarnych.
2. Niektóre markery STS, u których obserwuje się obecność w jednym locus serii 3–4 alleli, charakteryzują się zdolnością do rozróżniania genotypów żyta porównywalną do markerów SSR.

LITERATURA

- Bednarek P. T., Chwedorzewska K., Króliczak J., Puchalski J., Zawada M. 1999. Wykorzystanie markerów genetycznych typu AFLP do badań zmienności genetycznej linii wsobnych żyta. Biul. IHAR 211: 219 — 227.
- Bolibok H., Rakoczy-Trojanowska M., Hromada A., Pietrzykowaski R. 2005. Efficiency of different PCR-based marker systems in assessing genetic diversity among winter rye (*Secale cereale* L.) inbred lines. Euphytica 146: 109 — 116.
- Börner A., Korzun V., Polley A., Malyshev S., Melz G. 1998. Genetics and molecular mapping of male fertility restoration locus (Rfg1) in rye (*Secale cereale* L.). Theor. Appl. Genet. 97: 99 — 102.
- Gonzalez C., Camacho M. V., Benito C. 2002. Chromosomal location of 46 new RAPD markers in rye (*Secale cereale* L.). Genetica 118: 205 — 211.
- Graner A., Ludwig F. W., Melchinger A. E. 1994. Relationship among European barley germplasm: II Comparison of RFLP and pedigree data. Crop Sci. 34: 1199 — 1205.
- Hackauf B., Wehling P. 2002. Identification of microsatellite polymorphisms in an expressed portion of the rye genome. Plant Breed. 121: 11 — 25.
- Hackauf B., Wehling P. 2003. Development of microsatellite markers in rye: map construction. Plant Breed Seed Sci 48: 143 — 151.
- Jaccoud D., Peng K., Feinstein D., Kilian A. 2001. Diversity arrays: a solid state technology for sequence information independent genotyping. Nucl. Acid. Res. 29(4), e25: 1 — 7.

- Khlestkina E. K., Than M. H. M., Pestsova E. G., Röder M. S., Malyshev S. V., Korzun V., Börner A. 2004. Mapping of 99 new microsatellite-derived loci in rye (*Secale cereale* L.) including 39 expressed sequence tags. *Theor. Appl. Genet.* 109: 725 — 732.
- Mago R., Miah H., Lawrence G. J., Wellings C. R., Spielmeier W., Bariana H. S. 2005. High-resolution mapping and mutation analysis separate the rust resistance genes *Sr31*, *Lr26* and *Yr9* on the short arm of rye chromosome 1. *Theor Appl Genet* 112: 41 — 50.
- Mago R., Spielmeier W., Lawrence G. J., Lagudah E. S., Ellis J. G., Pryor A. 2002. Identification and mapping of molecular markers linked to rust resistance genes located on chromosome 1RS of rye using wheat-rye translocation lines. *Theor Appl Genet.* 104: 1317 — 1324.
- Masojć P., Łapiński M., Myśków B., Stojalowski S., Milczarski P. 1999. Poszukiwanie markerów molekularnych męskiej sterility i odporności na porastanie u żyta. *Biul. IHAR* 211: 273 — 280.
- Miftahudin, G., Scoles J., Gustafson J. P. 2002. AFLP markers tightly linked to the aluminum-tolerance gene *Alt3* in rye (*Secale cereale* L.). *Theor. Appl. Genet.* 104: 626 — 631.
- Myśków B., Masojć P., Banek-Tabor A., Szołkowski A. 2001. Genetic diversity of inbred rye lines evaluated by RAPD analysis. *J. Appl. Genet.* 42 (1): 1 — 14.
- Nei M., Lee W.H. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 79: 5269 — 5273.
- Powell W., Morgante M., Andre C., Hanafey M., Vogel J., Tingey S., Rafalski A. 1996. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Mol. Breed.* 2: 225 — 238.
- Stojalowski S., Milczarski P., Masojć P. 2004. Przydatność markerów ISSR do identyfikacji linii wsobnych oraz mapowania genomu żyta. *Biul. IHAR* 231: 237 — 246.
- Stracke S., Schilling A. G., Förster J., Weiss C., Glass C., Miedaner T., Geiger H. H. 2003. Development of PCR-based markers linked to dominant genes for male-fertility restoration in Pampa CMS of rye (*Secale cereale* L.). *Theor. Appl. Genet.* 106: 1184 — 1190.
- Vos P., Hogers R., Bleeker M., van de Lee T., Hornes M., Frijters A., Pot J., Peleman J., Kuiper M., Zabeau M. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucl. Acid. Res.* 23 (21): 4407 — 4414.
- Williams J. G. K., Kubelik A. R., Livak K. J., Rafalski J. A., Tingey S. V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucl. Acid. Res.* 18: 6531 — 6535.
- Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. 1994. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR) — Anchored Polymerase Chain Reaction Amplification. *Genomics* 20: 176 — 183.

TADEUSZ ŚMIAŁOWSKI**STANISŁAW WĘGRZYN¹**

Zakład Oceny Jakości i Metod Hodowli Zbóż, IHAR Kraków

¹ Emerytowany profesor Oddziału IHAR w Krakowie

Sposoby epistatycznego działania genów u żyta ozimego

The ways of epistatic action of genes in winter rye

Celem prowadzonych prac było poznanie epistatycznego sposobu działania genów kontrolujących dziedziczenie 12 cech; termin kłoszenia, wysokość roślin, długość kłosa i dokłosa, masę i liczbę ziaren z kłosa, liczbę kłosów na poletku, masę 1000 ziaren, ciężar hektolitra, plon ziarna z poletka, zawartość białka i liczba opadania u 10 odmian żyta ozimego; Dańkowskie Złote, Dańkowskie Nowe, Motto, Wibro, Amilo, Kier i Walet, Bosmo, Hegro, Ekoagro. W badaniach przeprowadzonych w latach 2002–2005 metodą opisaną przez Comstocka i Robinsona (1952) w modyfikacjach Kearseya i Jinka (1967) oraz późniejszych krzyżowano 3 testery T1 - SMH 49, T2 - SMH 75 oraz T3 - (T1×T2) z badanymi populacjami w celu otrzymania mieszańców F₁, które wysiewano w 3 powtórzeniach na poletkach o powierzchni 0,4 m². Następnie dla każdej populacji oszacowano efekty epistatyczne (Jinks i in., 1969). Istotność odchylenia od zera efektów epistatycznych odmian sprawdzano testem „t”. Stwierdzono, że epistaza, którą ujawniły badania wynikała głównie ze współdziałania loci homozygotycznych z heterozygotycznymi i heterozygotycznych z heterozygotycznymi (aż 81% efektów). Spośród badanych cech tego typu epistazę ujawniono w 100% przypadków dla wczesności kłoszenia, masy ziaren z kłosa, masy 1000 ziaren, ciężaru hektolitra i liczby opadania. Tylko dla długości dokłosa i wysokości roślin stwierdzono równe proporcje pomiędzy typem epistazy „i” i „j,l”. Epistaza w istotny sposób kształtowała wartość cech u badanych populacji żyta ozimego. U jednych odmian podwyższała wartość a u innych obniżała. Stwierdzono przewagę ujemnych efektów epistazy dla większości badanych cech z wyjątkiem długości dokłosa, masy 1000 ziaren i liczby opadania, u których przeważały efekty dodatnie. Wartość i kierunek działania efektów epistazy zależy nie tylko od badanych populacji, ale od roku badań, czyli wpływu środowiska.

Słowa kluczowe: cechy, dziedziczenie, epistaza, żyto ozime

The purpose of the study was recognition in epistatic action of genes controlling 12 quantitative traits (heading time, plant height, length of ear, length of upper internode, mass and number of grains per ear, spikes number per plot, 1000 kernels weight, test weight, grain yield per plot, protein content in grain and falling number) in 10 cultivars of winter rye (Dańkowskie Złote, Dańkowskie Nowe, Motto, Wibro, Amilo, Kier, Walet, Bosmo, Hegro, Ekoagro). The analysis was performed using the method of Comstock and Robinson (1952) with modifications of Kearsy and Jinks (1967). The F₁ hybrids, obtained from crossing of three testers (T1 = SMH 49, T2 = SMH 75 and T3 = T1 × T2) with the studied cultivars, were sown on 0.4 sq. m. plots in three replications. The epistatic effects were

calculated with the formula $\bar{I}_i = \bar{L}_{1i} + \bar{L}_{2i} - 2\bar{L}_{3i}$, where $\bar{L}_{1i}, \bar{L}_{2i}, \bar{L}_{3i}$ are average values for the traits of the hybrids of the *i*-th cultivar with the three testers. Significance of the deviations of epistatic effects from zero was verified with the "t" test. It was found, that the revealed epistasis resulted mainly from interaction of homozygous loci with heterozygous ones and interaction between heterozygous loci (81% of the effects). Among the investigated traits, this type of epistasis was recorded in 100% of cases for heading time, grain mass per ear, thousand kernels weight, test weight and falling number. An equal proportion of the "i"- type epistasis and the "j,l" one was stated only for the upper internode length and plant height. Epistasis influenced significantly values of the traits in the investigated rye populations. The increasing or decreasing direction of an effect was dependent on cultivar. Generally, the negative effects were more frequent in majority of the studied traits, with exceptions of upper internode length, 1000 kernels mass and falling number, where the positive effects prevailed. The size and direction of the epistatic effects depended not only on the cultivar, but also on a year of study, which shows importance of the environment.

Key words: epistasis, cultivars, quantitative traits, winter rye,

WSTĘP

Poznanie sposobów działania genów odpowiedzialnych za dziedziczenie najważniejszych cech rolniczych roślin uprawnych w tym zbóż ma podstawowe znaczenie w podjęciu strategii hodowlanej (Simmonds, 1987). Szczególnie epistatyczny sposób działania genów podejrzewany jest o utrudnianie hodowcom podjęcia właściwych decyzji selekcyjnych ze względu na pojawianie się niespodziewanych zmienności w kolejnych pokoleniach. Zjawisko to dotyczy również żyta ozimego, gatunku wartościowego, ale ze względu na obcopylność trudnego i kosztownego w hodowli twórczej i zachowawczej. Na podstawie dotychczasowych badań (Jedyński i in., 1989; Kaczmarek i in., 1993; Śmiech i in., 1996; Węgrzyn, 1985; Węgrzyn i in., 1998, 1993, 1995; Śmiałowski i in., 1999, 2001, 2003 b) przyjęło się uważać, że za dziedziczenie wielu ważnych cech w życie ozimym może odpowiadać epistatyczny sposób działania genów. Jeśli epistaza wystąpi w dużym stopniu może utrudnić podjęcie właściwej decyzji o selekcji materiałów hodowlanych na poszczególnych etapach hodowlanych. Inne zagraniczne badania (Kjaer i in., 1996; Jinks i in., 1973) potwierdzają również istotną rolę epistazy w dziedziczeniu cech u różnych gatunków zbóż i roślin. W przypadku żyta ozimego wykonanie doświadczeń genetycznych w warunkach polowych ze względu na pracochłonność, konieczność przygotowania specjalnego materiału, sprawia dużo trudności i dlatego najczęściej przeprowadza się je w cyklu jednorocznym, zatem uzyskane wyniki nie ujawniają istotnego wpływu środowisk, którymi są lata badań (Śmiałowski i in., 2003 a). Dlatego zamiarem Autorów niniejszych badań było lukę tę uzupełnić prezentując wyniki czteroletnich prac dotyczących działania genów epistatycznych u żyta ozimego.

MATERIAŁ I METODY

W badaniach wykorzystano model analizy opisanej przez Comstocka i Robinsona (1952) w modyfikacji Kearsaya i Jinka (1967), Kearsaya i wsp. (1968) oraz Kearsaya i Perkinsa (1969), w której testery różniące się od siebie wieloma cechami oznaczone symbolem T1 - (SMH 49-1) i T2 - (SMH 75-1) krzyżowano celem otrzymania testera T3

(T1 × T2). Dysponując 3 testerami krzyżowano je z populacjami żyta ozimego; Dańkowskie Żłote, Dańkowskie Nowe, Motto, Wibro, Amilo, Kier, Walet, Bosmo, Hegro i Ekoagro w celu otrzymania mieszańców F₁.

Dwie z odmian Dańkowskie Żłote i Motto uczestniczyły w doświadczeniu przez cały czas, natomiast pozostałe uzupełniały w kolejnych latach zestaw badanych populacji. Otrzymane w ten sposób mieszańce F₁ wysiano w latach 2001–2004 roku w 3-powtórzeniach na poletkach doświadczalnych o powierzchni 0,4 m² w celu wykonania obserwacji polowych, pomiarów biometrycznych i analiz laboratoryjnych (na zebranych po zbiorach ziarnie), którymi objęto 12 cech; termin kłoszenia, wysokość roślin, długość kłosa i dokłosa, masę i liczbę ziaren z kłosa, liczbę kłosów na poletku, masę 1000 ziaren, ciężar hektolitra, plon ziarna z poletka, zawartość białka i liczba opadania.

Obliczenia statystyczno-genetyczne obejmowały przeprowadzenie analizy wariancji epistazy oraz oszacowanie efektów dla badanych odmian. W tym celu obliczono średnie kwadraty dla epistazy całkowitej. Następnie z epistazy całkowitej wydzielono epistazę typu „i” wynikającą ze współdziałania loci homozygotycznych z homozygotycznymi oraz „j,l” wynikającą ze współdziałania loci homozygotycznych z heterozygotycznymi i hetero z heterozygotycznymi oraz błąd. Istotność poszczególnych składników sprawdzono testem „F”. Następnie dla każdej populacji oszacowano efekty epistatyczne ze wzoru: $\bar{I}_i = \bar{L}_{1i} + \bar{L}_{2i} - 2\bar{L}_{3i}$, gdzie $\bar{L}_{1i}, \bar{L}_{2i}, \bar{L}_{3i}$ są średnimi wartościami cech dla mieszańców uzyskanych ze skrzyżowania i-tej odmiany z 3 testerami (Jinks i in., 1969). Istotność odchyleń od zera efektów epistatycznych dla badanych odmian sprawdzano testem „t”.

WYNIKI I DYSKUSJA

Uzyskane wyniki badań wskazują na występowanie wysoce istotnej epistazy dla większości analizowanych cech w każdym roku badań (tab. 1). Brak istotnej epistazy stwierdzono u nielicznych cech; w roku 2002 dla terminu kłoszenia, długości dokłosa oraz masy ziaren z kłosa, w 2003 dla wysokości roślin i liczby ziaren z kłosa, a w 2004 dla liczby opadania. Wymienione przypadki nielicznych nieistotnych pod względem epistazy cech w jednym roku nie powtarzały się dla tych samych cech w następnych latach.

Zjawisko to nie oznacza braku epistazy u danej cechy, natomiast w określonych warunkach środowiska i dla danego zestawu odmian epistaza nie ujawniła się (Węgrzyn, 1985). Jeśli epistaza wystąpiła to wynikała głównie ze współdziałania loci homozygotycznych z heterozygotycznymi i heterozygotycznych z heterozygotycznym, i określana jest jako epistaza typu „j,l” (tab. 1).

Tabela 1

Analiza wariancji efektów epistazy dla 12 cech u wybranych populacji żyta ozimego w latach 2002–2005
Analysis of variance of epistatic effects for 12 traits of selected winter rye populations in the years 2002–2005

Źródło zmienności Source of variation	Liczba stopni swobody Degrees of freedom	Średni kwadrat Mean squares											
		termin kłoszenia heading	długość dokłosa internodes length	długość kłosów length of ears	wysokość roślin plant height	liczba kłosów na poletku number of ears per plot	liczba ziaren z kłosa number grain per ear	masa ziaren z kłosa grain weight per ear	masa 1000 ziaren 1000 grain weight	ciężar hektolitra test weight	plon ziarna z poletka grain yield per plot	zawartość białka protein content	liczba opadania falling number
2002													
Epistaza Epistasis	7	3,43	16,64	3,09**	488,73**	6848**	161,74*	0,14	86,71**	58,37**	31197,34**	5,99**	8421**
Typu - type „i”	1	0,78	0,97	4,59*	479,47**	112	5,26	0,18	18,78	46,11	4624,50	3,02	4625
Typu - type „j,l”	20	1,16	5,77	0,85**	147,08**	2391**	56,35**	0,04	29,41**	18,12*	10687,87**	1,94**	10688**
Błąd - Errors	36	2,33	8,39	0,43	55,68	501	53,14	0,09	16,55	18,28	3248,84	0,94	3249
2003													
Epistaza Epistasis	4	101,6**	155,5**	2,66**	1317,2	—	454,8	2,19*	343,9*	123,1**	—	11,34**	28605**
Typu - type „i”	1	0,03	0,16	0,32	118,1	—	258,5	0,1	21,7	43,3	—	14,55**	6883
Typu - type „j,l”	11	36,9*	56,6*	0,94**	462,8	—	141,9	56,6*	124,2**	10,8**	—	2,80**	9776**
Błąd - Errors	10	6,3	37,4	0,36	381,6	—	188,9	37,4	83,9	21,4	—	1,03	2586
2004													
Epistaza Epistasis	4	33,9**	130,9**	4,7**	261,9**	6935*	209,4**	1,84**	1034**	32,3**	231703**	7,12**	537
Typu - type „i”	1	0,67	206,4**	5,5	13,8	2951	34,9	2,70	147,4	12,02	378153**	0,86	226
Typu - type „j,l”	11	12,9**	32,02	1,5**	92,6**	2266*	72,3**	0,47**	358,8**	10,7**	55740**	2,48**	176
Błąd - Errors	10	4,7	7,4	0,9	54,1	2058	47,02	0,21	233,5	4,8	17003	0,93	864
2005													
Epistaza Epistasis	5	18,9**	67,5**	7,10**	575,3**	21104**	10,2**	0,50*	102,1**	16,2**	19622**	2,1*	9037*
Typu - type „i”	1	1,9	43,2*	2,41	487,1**	6837*	12,2	0,01	2,7	20,2	45964	0,1	3971
Typu - type „j,l”	14	5,9**	21,1**	2,36**	170,7**	7048**	64,9**	0,18**	36,3**	4,4**	68010**	0,7*	2944*
Błąd - Errors	22	2,01	7,8	0,70	28,6	920	36,8	0,14	22,1	2,8	11130	0,7	3345

*, ** Istotne dla poziomu P = 0,05 lub P = 0,01

*, ** Significant at P = 0.05, and P = 0.01, respectively

Tylko w nielicznych przypadkach odnotowano epistazę wynikającą ze współdziałania loci homozygotycznych z homozygotycznymi określaną jako typu „i” (tab. 1) i dotyczyła takich cech jak; wysokość roślin (w 2002 roku), zawartość białka (w 2003 roku), długość dokłosa i plon ziaren (w 2004) oraz długość dokłosa, wysokość roślin i liczba kłosów na poletku (w 2005 roku). W porównaniu do lat poprzednich (Węgrzyn i in., 1993; Śmiałowski i in., 1999) zaznaczył się większy udział cech, u których stwierdzono istotną epistazę typu „j,l”, zmalał natomiast udział cech, których ujawniono epistazę typu „i”.

Inne interesujące porównanie dotyczy proporcji obu typów epistazy tj. „i” do „j,l” dla badanych cech żyta ozimego (tab. 2). Okazało się, że u większości badanych cech przeważała epistaza typu „j,l”, a dla 5 cech; kłoszenia, masy ziaren z kłosa, masy 1000 ziaren, ciężaru hektolitra i liczby opadania osiągnęła nawet 100% wszystkich istotnych efektów. Tylko dla 2 cech; długości dokłosa i wysokości roślin proporcje pomiędzy obydwoimi typami epistazy okazały się wyrównane i wyniosły 50/50 procent (tab. 2). Zjawisko to ma określone konsekwencje dla dziedziczenia badanych cech u żyta ozimego. Nieliczne cechy, u których ujawniono więcej efektów epistatycznych typu „i”, czyli wynikających ze współdziałania loci homozygotycznych z homozygotycznymi, a są to długość dokłosa i wysokość roślin, będą charakteryzować się na ogół większą odziedziczalnością w przeciwieństwie do tych cech, u których stwierdzono większy udział epistazy typu „j,l”, wynikającej ze współdziałania loci homozygotycznych z heterozygotycznymi i heterozygotycznymi z heterozygotycznymi (tab. 3).

Tabela 2

Procentowy udział typów epistazy dla badanych cech żyta ozimego
The percentages of types of epistasis for the investigated traits of winter rye

Cechy Traits	“i” (%)	“j,l” (%)
Termin kłoszenia — Heading	0	100
Długość dokłosa — Upper internode length	50	50
Długość kłosów — Length of ear	25	75
Wysokość roślin — Plant height	50	50
Liczba kłosów na poletku — Number of ears per plot	33	67
Liczba ziaren z kłosa — Number of grains per ear	25	75
Masa ziaren z kłosa — Grain weight per ear	0	100
Masa 1000 ziaren — 1000 grain weight	0	100
Ciężar hektolitra — Test weight	0	100
Plon ziarna z poletka — Grain yield per plot	33	67
Zawartość białka — Protein content	25	75
Liczba opadania — Falling number	0	100

Ważnym celem przeprowadzonych badań było również oszacowanie efektów epistazy dla badanych populacji żyta ozimego (tab. 3). Okazało się, że epistaza u jednych odmian podwyższa wartości badanych cech, a u innych obniża. Dla przykładu epistaza u odmiany Dańkowskie Złote w 2002 roku w sposób istotny podwyższała liczbę kłosów na poletkach oraz plon ziarna z poletka, korzystnie skracając długość źdźbła, natomiast dla tej samej populacji w 2004 roku epistaza silnie obniżała plon ziarna z poletka, a w 2005 roku zmniejszała liczbę kłosów na poletku.

Tabela 3

Oszacowane efekty epistazy dla 12 cech u populacji żyta ozimego badanych w latach 2002–2005
Epistatic effects estimation for 12 traits for populations of winter rye investigated in the years 2002–2005

Odmiany Varieties	Oszacowane efekty epistazy Estimation epistatic effects											
	termin kłoszenia heading	długość dokłosa upper internode length	długość kłosów length of ears	wysokość roślin plant height	liczba kłosów na poletku number of ears per plot	liczba ziaren z kłosa number of grains per ear	masa ziaren z kłosa grain weight per ear	masa 1000 ziaren 1000 grain weight	ciężar hektolitra test weight	plon ziarna z poletka grain yield per plot	zawartość białka protein content	liczba opadania falling number
2002												
Dańkowskie Złote	-2,33	-1,63	-1,93**	-24,33**	95,57**	-3,92	-0,37	-5,80*	3,90	177,41**	-1,00	-46,67
Dańkowskie Nowe	0,01	0,47	-1,00*	-83,03**	-49,77**	-8,59*	-0,23	-0,90	-3,47	-92,03**	0,87	38,00
Motto	-0,33	3,37	-0,77*	7,9	-31,43*	-9,02*	-0,03	4,70	0,30	-34,86	0,47	33,00
Wibro	-0,97	4,23	-0,20	-15,13**	25,90	7,78	-0,13	-11,77**	8,83**	35,17	-1,70**	58,67*
Amilo	-0,33	-2,37	0,13	0,13	-26,77*	-4,02	-0,23	2,87	2,10	-110,86**	-1,30*	43,33
Walec	1,00	-0,77	-1,07**	-12,53**	-42,43**	0,45	-0,23	0,10	1,33	-132,76**	-2,63**	-4,33
Kier	0,63	-0,70	-0,83*	-5,93	-0,10	11,38*	0,10	-0,47	4,97	-21,99	0,70	-97,00**
2003												
Dańkowskie Złote	3,9*	-5,3	-0,30	5,03	—	-5,7	-0,07	2,1	3,11	—	1,17	69,9*
Dańkowskie Nowe	0,7	-7,6	-0,94**	-24,53	—	2,8	-0,37	-13,03*	-7,4**	—	0,69	-34,9
Motto	5,3**	2,9	1,13**	12,8	—	11,5	0,58	2,7	-9,8**	—	2,18**	-7,7
Amilo	-9,6**	10,7*	1,14**	31,07	—	20,9	1,58**	16,8**	2,05	—	2,92**	-178,8**
2004												
Dańkowskie Złote	3,00	4,81**	-0,10	-2,36	6,6	-6,2	-0,55**	12,27	4,82**	-184,02**	1,50	15,97
Motto	-1,80	4,73**	-0,14	12,05**	-80,5**	1,12	-0,89**	-8,11	-3,72**	-292,37**	0,88	-1,52
Amilo	3,17*	7,84**	0,64	5,22	21,5	-15,6**	-0,42	36,69**	0,83	-174,92**	-1,34**	19,30
Walec	-5,83**	3,93*	-1,54*	7,39	10,5	-0,22	-0,40	-2,11	2,25	103,74	-0,42	9,19
Kier	0,17	9,83**	-2,24**	-14,28**	-66,8*	-1,28**	-1,28**	-12,51	3,32	-474,84**	-0,42	-13,48
2005												
Dańkowskie Złote	-2,67**	0,59	-0,54	-15,68**	-51,3**	10,2**	0,21	-3,39	-3,39	-72,1	-1,1*	13,4
Motto	-4,00	-3,47*	0,49	8,82	96,7*	9,9**	0,55*	4,27	4,27	303,6**	1,3*	85,7*
Bosmo	1,33	-6,39**	-0,77	-15,55**	-41,5*	1,27	-0,38	-4,89	-4,89	-182,3**	-0,46	30,9
Hegro	0,67	-7,27**	-3,19**	-18,73**	-42,4*	-8,8*	0,14	7,86**	7,86**	-67,9	0,28	-54,2
Eko agro	1,97	2,49	0,69	-6,55**	-140,3**	-5,1	-0,56*	-7,39**	-7,39*	-444,4**	-0,50	60,35

*, ** Istotne dla poziomu P = 0,05 lub P = 0,01 *,** Significant at P = 0.05, and P = 0.01, respectively

Podobne zjawiska odnotowujemy dla innej wartościowej odmiany Motto badanej również przez cały czteroletni okres jak Dańkowskie Złote (tab. 3). I tak w 2004 roku u populacji Motto epistaza istotnie obniżyła plon ziarna, a podwyższyła go w 2006 roku. Wykonana analiza ujawniła silną interakcję środowisko-genotypową u badanych populacji, co uwidoczniło się w odmiennych kierunkach działania epistazy (tab. 3). Prezentowane w tabeli 3 zestawienie wyników zawiera również oszacowane efekty epistazy dla badanych po raz pierwszy w 2005 roku trzech populacji Bosmo, Hegro i Ekoagro. Okazało się, że epistaza u tych wartościowych odmian żyta ozimego istotnie obniżała plon ziarna z poletka, zmniejszała liczbę kłosów na poletku, natomiast korzystnie skracała długość źdźbła. Czy są to trwałe tendencje wykażą zaplanowane i wykonane w kolejnych latach badania z tymi cennymi populacjami żyta ozimego.

W oparciu o wyniki zamieszczone w tabeli 3 obliczono dla każdej cechy proporcje istotnych efektów epistazy w stosunku do nieistotnych, a następnie zestawiono proporcje efektów dodatnich i ujemnych (tab. 4).

Tabela 4

Udział istotnych statystycznie efektów epistazy oraz proporcja dodatnich i ujemnych efektów epistazy u badanych populacji żyta ozimego
The percentages of significant effects of epistasis and proportion of positive and negative effects of the epistasis in the investigated populations of winter rye

Cechy Traits	Procentowy udział efektów epistazy istotnych statystycznie Percentage proportion of significant effects of epistasis		
	efektów istotnych significant effects	dodatnich positive	ujemnych negative
Termin kłoszenia — Heading	28	20	80
Długość dokłosa — Upper internodes length	38	60	40
Długość kłosów — Length of ear	52	22	78
Wysokość roślin — Plant height	41	10	90
Liczba kłosów na poletku — Number of ears per plot	71	16	84
Liczba ziaren z kłosa — Number of grains per ear	38	38	62
Masa ziaren z kłosa — Grain weight per ear	24	40	60
Masa 1000 ziaren — 1000 grain weight	33	71	29
Ciężar hektolitra — Test weight	33	43	57
Plon ziarna z poletka — Grain yield per plot	65	19	81
Zawartość białka — Protein content	38	38	62
Liczba opadania — Falling number	24	60	40

Okazuje się, że w badanym okresie epistaza największy istotny wpływ miała na obsadę kłosów na poletku (aż 71% istotnych efektów), jednak charakteryzowały się one wyraźną przewagą efektów ujemnych na dodatnimi (tab. 4). Na drugim końcu uplasowała się liczba opadania, dla której odnotowano tylko 24% istotnych efektów epistazy w stosunku do wszystkich oszacowanych efektów, ale w obrębie tej nielicznej grupy wyraźnie zaznaczyła się przewaga dodatnich efektów epistatycznych. Podobne rezultaty odnotowano dla długości dokłosa i masy 1000 ziaren (tab. 4). Należy pamiętać, że w przypadku tej ostatniej cechy dodatnie efekty wynikały w całości (w 100%) z działania epistazy typu „i,l”.

W przypadku innej, ale ważnej cechy, którą jest plon ziarna zwraca uwagę duża przewaga ujemnych efektów epistazy nad dodatnimi (tab. 4). To zjawisko nie musi szczególnie napawać niepokojem hodowców, ponieważ plon ziarna z poletka dla większości badanych przypadków w kolejnych latach kształtowany był przez epistazę typu „i,l” (patrz tab. 1 oraz tab. 3).

Prezentowane wyniki wskazują na ważną rolę, którą odgrywa epistatyczny sposób działania genów w kształtowaniu istotnych cech plonotwórczych u populacji żyta ozimego.

Hodowca powinien jednak pamiętać, że dziedziczenie ważnych cech u żyta zależy również od addytywno-dominujących sposobów działania genów w tych przypadkach, w których epistaza nie występuje. Taką wiedzę hodowca powinien uwzględnić w trakcie selekcji.

PODSUMOWANIE

1. Epistaza, którą ujawniły badania, wynikała głównie ze współdziałania loci homozygotycznych z heterozygotycznymi i heterozygotycznych z heterozygotycznymi.
2. Epistaza w istotny sposób kształtowała wartość cech u badanych populacji żyta ozimego.
3. Wartość i kierunek działania efektów epistazy zależy nie tylko od badanych populacji, ale od roku badań, czyli wpływu środowiska. Zatem wyciągnięcie jednoznacznych wniosków o wpływie epistazy na dziedziczenie ważnych cech u żyta ozimego obarczone jest marginesem błędu, który należy uwzględnić przy pracach hodowlanych.

LITERATURA

- Comstock R. E., Robinson H. F. 1952. Heterosis Chap. 30. Iowa State Col. R.
- Kaczmarek J., Bujak H. 1993. Analiza dziedziczenia 6 cech ilościowych dwóch linii wsobnych żyta. ZN PNR 223: 127 — 134.
- Kearsey M. J., Jinks J. L. 1967. A general method of detecting additive, dominance and epistatic variation for metrical traits. I. Theory. heredity. Nr 23: 403 — 409.
- Kjaer B., Jensen J. 1996. Quantitative trait loci for grain yield and components in a cross between a six-rowed and two-rowed barley. Ephytica 90, 1: 39 — 48.
- Jedyński S., Kaczmarek H. 1989. Efekty epistatycznego działania genów u żyta. ZP PNR 382: 231 — 238.
- Jinks J. L., Perkins J. M., Breese E. L. 1968. A general method of detecting additive, dominance and epistatic variation for metrical traits. II Application to inbred lines. Heredity 24: 45 — 57.
- Jinks J. L., Perkins J. M. 1969. A General Method of detecting additive, dominance and epistatic variation for metrical traits. III F₂ and backcross populations. heredity. 25: 419 — 428.
- Jinks J. L., Perkins J. M., Pooni H. S. 1973. The incidence of epistasis in normal and extreme environments. Heredity 31 (2): 263 — 269.
- Simmonds N. M. 1987. Podstawy hodowli roślin. PWRL, Warszawa.
- Śmiech M., Przybecki Z., Malepszy S. 1996. Dziedziczenie zawartości białka i masy 1000 ziaren w liniach wsobnych żyta (*Secale cereale* L.). Biul. IHAR 209: 93 — 98.
- Śmiałowski T., Węgrzyn S. 1998. The influence of environments on the forms of the epistatic effects at some winter rye population. J. Appl. Gen. 38 A: 114.
- Śmiałowski T., Węgrzyn S. 1999. Działania genów epistatycznych kontrolujących dziedziczenie cech u wybranych populacji żyta ozimego. Biul. IHAR 211: 249 — 257.

- Śmiałowski T., Węgrzyn S. 2001. Addytywno-dominujący sposób działania genów odpowiedzialnych za dziedziczenie ważnych cech rolniczych żyta ozimego. Pam. Puł. Z. 128: 247 — 256.
- Śmiałowski T., Węgrzyn S. 2003. The influence of environments on epistatic effects of genes controlling some traits in winter rye. Plant Breeding and Seed Science 47 no. 1–2: 57 — 68.
- Śmiałowski T., Węgrzyn S. 2003. Genetyczno-statystyczne parametry dziedziczenia cech użytkowych żyta ozimego (*Secale cereale* L.). Biul. IHAR 230: 205 — 214.
- Węgrzyn S. 1985. Genetyczne podstawy niektórych cech u żyta. Prace Zespołu Hodowli Żyta, IHAR, Radzików: 14 — 21.
- Węgrzyn S., Śmiałowski T. 1989. Sposoby działania genów kontrolujących niektóre cechy morfologiczne żyta ze szczególnym uwzględnieniem epistazy. Hod. Rośl. Aklim. Nr 33 (5/6): 1 — 7.
- Węgrzyn S., Śmiałowski T. 1993. Sposoby działania genów ze szczególnym uwzględnieniem epistazy. Zesz. Nauk. Post. Nauk Rol. 223: 91 — 100.
- Węgrzyn S., Śmiałowski T. 1995. Sposoby działania genów epistatycznych, dominujących i addytywnych kontrolujących ważne cechy użytkowe w odmianach populacyjnych żyta (*Secale cereale* L.). Biul. IHAR 195/196: 273 — 281.

RENATA TOBIASZ-SALACH
DOROTA BOBRECKA-JAMRO
EWA SZPUNAR-KROK
JAN BUCZEK

Katedra Produkcji Roślinnej

Wydział Biologiczno-Rolniczy, Uniwersytet Rzeszowski

Ocena wartości gospodarczej odmian owsa nagoziarnistego uprawianych w rejonie Podkarpacia

Estimation of the economic value of hull-less oat cultivars grown in the Podkarpackie region

W pracy przedstawiono wyniki trzyletniego doświadczenia polowego założonego w latach 2001–2003 w Krasnem k. Rzeszowa. Badaniami objęto 6 nowych rodów owsa nagoziarnistego i 2 odmiany Akt i Polar, u których oceniano wielkość plonowania oraz niektóre cechy struktury plonu. Stwierdzono przydatność do uprawy owsa nagoziarnistego w rejonie Podkarpacia, szczególnie rodów STH 4770, STH 4659 i odmiany Polar.

Słowa kluczowe: elementy struktury plonu, owies nagi, odmiany, plon, rody, skład chemiczny ziarna

Results of the 3-year field experiment carried out in 2001–2003 in Krasne near Rzeszów are presented in the paper. The investigations included 6 new strains and two cultivars of hull-less oat. Grain yield and some its components were estimated. The usefulness of hull-less oat, especially of strains STH 4770 and STH 4659 and of cv. Polar, for cultivation in the Rzeszów province was evidenced.

Key words: chemical composition, cultivars, hull-less oat, strains, yield, yield components

WSTĘP

W dzisiejszych czasach obserwuje się ciągłe doskonalenie technologii produkcji i przetwórstwa żywności. Od niedawna owies stał się modnym zbożem i cieszy się dużym zainteresowaniem producentów żywności oraz konsumentów.

Obecnie w ogólnej powierzchni zasiewów zbóż stanowi on około 4%. Owies nagoziarnisty w odróżnieniu od form oplewionych doskonale nadaje się do żywienia drobiu i trzody chlewnej, przewyższając wartością odżywczą inne gatunki zbóż.

Postrzegany jest jako cenny surowiec dla przemysłu spożywczego, kosmetycznego i farmaceutycznego. Ziarno owsa, zaliczane jest do żywności prozdrowotnej, a ze skrobi owsianej produkowane są zamienniki tłuszczu (Z-Trim, Oatrim) znajdujące zastosowanie w produkcji lodów, zup, sosów, masła i żywności niskoenergetycznej (Gąsiorowski, 1999; Brand, van der Merve, 1996). Dużym jednak mankamentem owsa, szczególnie nagiego są niskie plony. Zwiększyć plon można albo poprzez przyspieszenie wzrostu, albo poprzez podwyższenie indeksu plonu. W nowoczesnej hodowli dążenia idą w kierunku podniesienia plonu ziarna kosztem redukcji plonu słomy. Dlatego w Stacjach Hodowli Roślin prowadzi się badania z nowymi kreacjami krótkosłomymi owsa nagiego. Takie formy owsa, charakteryzują się mniejszą podatnością na wyleganie i niejednokrotnie wyższym plonem (Podolska i in., 2006).

W Polsce Południowo-Wschodniej, gdzie gleby klasy IV–VI stanowią około 60% gruntów ornych uprawa owsa jest celowa. Dlatego powinno się prowadzić badania nad wprowadzaniem do produkcji rolniczej nowych form i odmian owsa przydatnych dla tego rejonu.

Celem niniejszej pracy było określenie plonu i jego cech struktury oraz składu chemicznego nowych rodów owsa nagoziarnistego uprawianych w warunkach Podkarpacia.

MATERIAŁ I METODY

Doświadczenie przeprowadzono w latach 2001–2003 w Krasnem k. Rzeszowa, na polu Stacji Dydaktyczno-Badawczej, Katedry Produkcji Roślinnej Uniwersytetu Rzeszowskiego. Doświadczenie założono na glebie brunatnej, wytworzonej z lessu o składzie mechanicznym utworu pyłowego zwykłego piaszczystego. Zawartość próchnicy wynosiła 1,5%, a pH — 5,7. Gleba charakteryzowała się średnią zawartością w przyswajalny Mg (6,3 mg/100g gleby), K₂O (19,0 mg) i P₂O₅ (10,7 mg). Zawartość mikroelementów była średnia dla Mn (186,2 mg/100g gleby), Cu (3,2 mg/100g gleby), Zn (6,6 mg/100g gleby) i Fe (1140,0 mg/100g gleby), a niska dla B (0,5mg /100g gleby). Owies wysiano w latach badań w I dekadzie kwietnia. Powierzchnia poletek do zbioru wynosiła 10 m², zaś obsada roślin 550 szt. /m². Przed siewem zastosowano nawożenie fosforowe i potasowe w ilości 70 kg P₂O₅ i 70 kg K₂O, oraz azotowe po 30 kg w dwóch dawkach przedsiewnie i pogłównie. W badaniach uwzględniono następujące rody i odmiany owsa nagoziarnistego pochodzące ze Stacji Hodowli Roślin — Strzelce: STH 4770, STH 4819, STH 13595, STH 4659, STH 13634, STH 13702, Akt, Polar. Rośliny zbierano w fazie dojrzałości pełnej. Określono plon ziarna, cechy struktury plonu, oraz zawartość białka i tłuszczu. Wyniki opracowano statystycznie metodą analizy wariancji przy poziomie istotności $p = 0,05$.

WYNIKI BADAŃ

Układ warunków pogodowych w latach 2001–2003 był sprzyjający dobremu plonowaniu owsa. Średnia temperatura powietrza kształtowała się na poziomie średniej wieloletniej (14,7°C) (tab. 2), a wahania temperatury mieściły się w granicach od 15,6°C w 2001 do 16,2°C w 2003 roku. Opady atmosferyczne były silnie zróżnicowane. Wyższe od średniej wieloletniej sumy opadów (363,00 mm) wystąpiły w latach 2001 (422,0 mm) i 2002 (404,0 mm), zaś rok 2003 charakteryzował się znacznie niższą sumą opadów (300,1 mm). Wielu autorów (Kukuła, 2001; Tobiasz-Salach, Bobrecka-Jamro, 2003) uważa, że najkorzystniejszą dla owsa jest suma opadów 200–240 mm w czasie wegetacji, z czego 10% powinno przypadać na kwiecień, 21% na maj, 19% na czerwiec i aż 50% na lipiec. W przeprowadzonych badaniach suma opadów od maja do lipca wynosiła 288 mm, czyli była wyższa od zalecanej (tab. 1).

Tabela 1

Warunki pogodowe w okresie wegetacji owsa Weather conditions during the vegetation of oat						
Rok Year	Miesiąc — Month					Średnia Mean
	IV	V	VI	VII	VIII	
	Temperatura — Temperature (°C)					
2001	8,8	14,4	15,4	20,0	19,3	15,6
2002	8,4	16,8	17,5	20,9	20,5	16,8
2003	7,4	16,4	18,1	19,5	19,7	16,2
Wielolecie Years 1972–2003	8,1	13,3	16,5	18,0	17,6	14,7
Opady — Rainfall (mm)						Suma — Total
2001	74	50	111	98,0	89	422,0
2002	44	92	112	84,0	72	404,0
2003	51	93,6	66,4	62,8	17,3	300,1
Wielolecie Years 1972–2003	48	72	78	91	74	363,0

Średnie plony owsa w trzyleciu badań wynosiły 2,2 t/ha (tab. 2). Najwyższym plonem charakteryzowały się rody STH 4770 (2,48 t/ha) i STH 4659 (2,47 t/ha), które uzyskały o 23,4% i 19,8% wyższy plon w stosunku do najniżej plonujących rodów STH 13634 (1,90 t/ha) i STH 13595 (1,99 t/ha), co udowodniono statystycznie. Istotnie wyżej (w stosunku do najniżej plonujących rodów) plonowała również odmiana Polar średnio o 18,2% i 21,8% (tab. 2). Analiza statystyczna wykazała interakcje pomiędzy badanymi formami owsa a latami badań. (tab. 2). W ciepłym i mokrym 2001 roku najwyższej plonował ród STH 13702 (3,03 t/ha) i odmiana Akt (2,97 t/ha). Plony tych owsów były o 20,1% i 18,2% wyższe w stosunku do średniej ogólnej. W roku 2002 najwyższy plon uzyskała odmiana Polar i ród STH 4659, zaś w 2003 rody STH 4770 i STH 4659 (tab. 2). Do najniżej plonujących owsów w latach 2002–2003 zaliczyć należy ród STH 13702, który wydał odpowiednio o 45,3% i 21% mniej ziarna niż odmiana Polar (tab. 2).

Najkorzystniejszym dla roślin owsa pod względem plonu ziarna były lata 2001 i 2003. Rok 2003, mimo że charakteryzował się najniższą sumą opadów, to jednak w maju, czyli w okresie o dużej wrażliwości tego zboża na suszę, istniało dobre zaopatrzenie gleby

w wodę. W roku 2002, w którym, warunki pogodowe były najbardziej zbliżone do optymalnych plony były o 26,6% niższe w porównaniu do 2003. Powszechnie uważa się, że owies należy do roślin o małych wymaganiach cieplnych i wysokich potrzebach wodnych zwłaszcza w okresie od strzelania w źdźbło do wiechowania (Panek, 1992; Rudnicki i Wasilewski, 1993). Wyniki badań Michalskiego i wsp. (1999) wskazują na spadek wydajności owsa w miarę wzrostu średniej temperatury w okresie kwiecień — lipiec. Uzyskane wyniki potwierdzają tę zależność, gdyż w roku 2002 plony były najniższe, a średnia temperatura powietrza była najwyższa w okresie przeprowadzonych badań.

Tabela 2

Plonowanie owsa nagoziarnistego
Yielding of naked oat

Rody / odmiany Strains / cultivars	Plon ziarna (t·ha ⁻¹) — Grain yield (t·ha ⁻¹)				Średnia masa 1000 ziarniaków (g) Mean 1000 grains weight (g)
	2001	2002	2003	2001-2003	
STH 4770	2,60	1,72	3,13	2,48	18,2
STH 4819	1,99	1,60	2,45	2,02	18,7
STH 13595	1,82	1,80	2,37	1,99	18,1
STH 4659	2,61	2,27	2,53	2,47	20,5
STH 13634	2,05	1,45	2,19	1,90	20,1
STH 13702	3,03	1,33	1,98	2,11	19,9
Akt	2,97	1,70	2,33	2,33	21,7
Polar	2,32	2,43	2,50	2,43	22,1
Średnia Mean	2,42	1,79	2,44	2,22	19,9
NIR p = 0,05 LSD p = 0,05	0,458	0,108	0,868	0,293	r. n.

r.n. - Różnica nieistotna; Not significant difference

Badane rody charakteryzowały się słabym wypełnieniem ziarna. (tab. 2) Najwyższą masą 1000 ziaren charakteryzowały się rośliny odmiany Polar (22,1 g), Akt (21,7 g) i rodów STH 4659 (20,5 g), oraz STH 3634 (20,1 g), zaś najniższą rodów STH 13595 (18,1 g) i STH 4770 (18,2 g) (tab. 1). Analiza wariancji nie wykazała interakcji w latach badań, co zauważył również Budzyński (Budzyński i in., 1999). Według Kozłowskiej-Ptaszyńskiej (1999) i Fabijańskiej (Fabijańska, Kozieradzka, 1995, 2002) brak plewek i niekorzystny przebieg pogody w okresie wegetacji wpływa znacznie na obniżenie masy 1000 ziaren u owsa nagoziarnistego. W przeprowadzonym doświadczeniu nie zauważono obniżania masy 1000 ziarniaków u badanych owsów spowodowanych warunkami pogodowymi w okresie wegetacji. Masa ta kształtowała się od 18,1 g u rodu STH 13595 do 22,1 g u odmiany Polar.

U owsa nagoziarnistego czynnikami kształtującymi plon są: masa 1000 ziaren, liczba wiech z jednostki powierzchni, liczba kłosek i ziaren w wieszce oraz masa ziarna z wiechy (Budzyński i in., 1999; Macierewicz-Ryś, Sokół, 1999).

Na podstawie analizy wariancji stwierdzono istotne zróżnicowanie tych czynników wśród badanych owsów nagoziarnistych (tab. 3). Największą obsadą wiech na m² w trzyleciu badań charakteryzowały się odmiany Polar i Akt odpowiednio 391 szt./m² i 365 szt./m².

Do rodów, które wykształciły największą liczbę kłosek z wiechy zaliczyć należy rody STH 13634 (31 szt.) i STH 13595 (29 szt.), zaś największą liczbą ziarniaków z wiechy charakteryzowała się odmiana Akt i ród STH 13634 (51 szt.). Istotnie najwyższą masę ziarniaków z wiechy w stosunku do pozostałych rodów wydały rośliny odmiany Polar (1,8 g) i Akt (1,7 g) (tab. 3).

Tabela 3

Struktura plonu owsa nagoziarnistego. Średnia dla lat 2001–2003
Yield structure of naked oat. Mean for 2001–2003

Rody / odmiany Strains / cultivars	Obsada roślin Plant density (szt·m ⁻¹)	Liczba kłosek z wiechy Number of spikelets per panicle	Liczba ziarniaków z wiechy Number of grains per panicle	Masa ziarniaków z wiechy Grain mass per panicle (g)
STH 4770	308	28,4	48,1	1,3
STH 4819	294	22,4	39,9	1,3
STH 13595	269	29,2	49,3	1,3
STH 4659	277	26,8	47,5	1,2
STH 13634	306	31,2	51,4	1,2
STH 13702	309	27,8	49,8	1,3
Akt	365	28,8	49,9	1,7
Polar	391	21,4	43,8	1,8
Średnia Mean	315	27,0	47,5	1,4
NIR _{p=0,05}	38,76	2,926	6,08	0,150
LSD _{p=0,05}				

Tabela 4

Zawartość białka i tłuszczu (%). Średnia dla lat 2001–2003
Content of protein and fat (%). Mean for 2001–2003

Rody / odmiany Strains / cultivars	Zawartość białka (%) Protein content (%)	Zawartość tłuszczu (%) Fat content (%)
STH 4770	14,93	4,17
STH 4819	16,33	5,17
STH 13595	15,63	4,57
STH 4659	14,50	4,30
STH 13634	16,20	4,43
STH 13702	14,87	4,79
Akt	16,20	4,25
Polar	15,13	4,17
Średnia Mean	15,47	4,48
NIR _{p=0,05}	r.n.	r.n.
LSD _{p=0,05}		

r.n.- Różnica nieistotna; Not significant difference

Owies nagoziarnisty, w porównaniu do form oplewionych, charakteryzuje się większą wartością paszową ze względu na mały udział łuski w ziarnie (około 2%) oraz dużą zawartość białka (15–17%) i tłuszczu (7,5–10,2%). Zboże to posiada ponadto większą zawartość aminokwasów egzogennych, a zwłaszcza lizyny i lepszy skład frakcyjny białek prostych, które jak np. albuminy, globuliny i gluteliny występują w dużo większej ilości, niż w ziarnie innych zbóż. Wartość energetyczna ziarna jest bardzo wysoka i wynosi 1,46

j.o. (16,28 EN) (Gąsiorowski, 1995; Kosieradzka, Fabijańska, 1995; Brand, van der Merve, 1996, Petkov i in., 2001; Fabijańska i in., 2002; Szempliński, 2003). Wielu autorów zwraca także uwagę, że owies wykazuje dużą zmienność składu chemicznego w zależności od przebiegu pogody w czasie wegetacji (Panek, 1992; Rudnicki, Wasilewski, 1993; Kosieradzka, Fabijańska, 1995; Michalski i in., 1999). W przeprowadzonym doświadczeniu badane owsy charakteryzowały się zawartością białka w granicach od 14,5% u STH 4659 do 16,20% u odmiany Akt i rodu STH 13634. Średnia zawartość tłuszczu była niska i wynosiła 4,48%, a najwięcej 5,17% zawierał go ród STH 1489. Analiza statystyczna nie wykazała istotnych różnic pomiędzy badanymi rodami i odmianami w zawartości białka i tłuszczu (tab. 4).

WNIOSKI

1. Najwyższym plonem ziarna charakteryzowały się rody STH 4770, STH 4659 i odmiana Polar.
2. Wyższe plonowanie odmiany Polar związane było z największą masą 1000 ziaren i obsadą roślin na m².
3. Największą liczbą kłosek i ziarniaków z wiechy charakteryzowały się rośliny rodu STH 13595 i odmiany Akt.
4. Zawartość białka była najwyższa u rodów STH4819, STH 13634 i u odmiany Akt.
5. W warunkach glebowo-klimatycznych woj. podkarpackiego (w Krasnem k. Rzeszowa) istnieją korzystne warunki do uprawy owsa nagoziarnistego.
- 6.

LITERATURA

- Brand T. S., van der Merve J. P. 1996. Naked oats (*Avena nuda*) as a substitute for maize in diets for weanling and grower — finisher pigs. Anim. Feed Sci. Tech. 113: 169 — 181.
- Budzyński W., Wróbel E., Dubis D. 1999. Reakcja owsa nagoziarnistego na czynniki agrotechniczne. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość. Supl. 1 (18): 97 — 104.
- Fabijańska M., Kosieradzka J. 1995. Atuty odmian nagoziarnistych. Nowoczesne Rolnictwo, nr 3.
- Fabijańska M., Kosieradzka I., Sokół J., Bekta M., Bobel B. 2002. Polskie odmiany zbóż w żywieniu zwierząt. Zesz. Nauk. PTZ Przegląd Hodowlany nr 60: 197 — 210.
- Gąsiorowski H. 1993. Owies jako surowiec dla przemysłu spożywczego. Post. Nauk Roln. nr. 40: 71.
- Kosieradzka I., Fabijańska M. 1995. Wartość biologiczna białka ziarna wybranych odmian owsa. XXV Sesja Nauk. KŻZ KNZ PAN, Poznań nr 37.
- Kozłowska-Ptaszyńska Z. 1999. Zmiany w plonowaniu, strukturze plonu i budowie przestrzennej łanu dwóch odmian owsa w zależności od gęstości siewu. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość. Supl. 1 (18): 33 — 37.
- Kukuła S. 2001. Charakterystyka i wymagania agrotechniczne odmian owsa. Biul. IHAR 218: 3 — 11.
- Macierewicz-Ryś J., Sokół J. 1999. Wartość pokarmowa ziarna owsa oplewionego (*Avena sativa* L.) i nagoziarnistego (*A. sativa* var. *nuda*). Żywność. Technologia. Jakość. Supl. 1 (18): 273 — 277.
- Michalski T., Idziak R., Menzel L. 1999. Wpływ warunków pogodowych na plonowanie owsa. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość. Supl., PTTŻ Kraków, 1: 46 — 52.
- Panek K. 1992. Działanie i współdziałanie opadów na plonowanie owsa w różnych rejonach kraju. Biul. Inf. ATR Olsztyn 33: 95 — 104.

- Petkov K., Piech M. 2001. Ocena wartości pokarmowej ziarna owsa nieoplewionego i oplewionego w żywieniu trzody chlewnej” *Rocz. Nauk Zootech.* 28 (2): 165 — 173.
- Podolska G., Maj L., Nita Z. 2006. Wielkość plonu i komponentów plonu u nagoziarnistej formy owsa karłowego w zależności od gęstości siewu i dawki nawożenia azotem. *Biul. IHAR* 239: 49 — 59.
- Rudnicki F. Wasilewski P. 1993. Wpływ doboru gatunków i ilości opadów na wydajność jarych mieszanek zbożowych. *Fragm. Agron.* 4, 40: 95 — 96.
- Szempliński W. 2003. Plonowanie nagich i oplewionych form owsa i jęczmienia jarego w siewie czystym i mieszanym” *Biul. IHAR* 229: 147 — 156.
- Tobiasz-Salach R., Bobrecka-Jamro D. 2003. Wpływ wieloskładnikowych nawozów dolistnych na plonowanie i skład chemiczny owsa”. *Acta Agrophysica* 85: 89 — 98.

ZBIGNIEW BRODA¹**AGNIESZKA TOMKOWIAK**¹**KRZYSZTOF MOLIŃSKI**²**JÓZEF ADAMCZYK**³¹Katedra Genetyki i Hodowli Roślin, Akademii Rolniczej w Poznaniu²Katedra Metod Matematycznych i Statystycznych, Akademii Rolniczej w Poznaniu³Hodowla Roślin Smolice

Badanie podobieństwa genetycznego pomiędzy formami rodzicielskimi mieszańców liniowych kukurydzy przy użyciu markerów molekularnych AFLP i RAPD

The evaluation of genetic similarity between parental components of maize hybrids by means of molecular markers AFLP and RAPD

Przedmiotem badań było dziesięć mieszańców liniowych kukurydzy wraz z komponentami rodzicielskimi. Celem pracy było wykazanie zależności efektu heterozji u form mieszańcowych od podobieństwa genetycznego określonego na podstawie markerów molekularnych RAPD i AFLP pomiędzy formami rodzicielskimi. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że u wszystkich analizowanych mieszańców większość cech struktury plonu przyjmowała istotnie wyższe średnie wartości niż średnie wartości tych cech obojga rodziców. Efekty heterozji zarówno względem lepszego z rodziców jak i względem średniej obojga rodziców korelowały się z podobieństwem genetycznym pomiędzy ich komponentami rodzicielskimi określonym na podstawie markerów AFLP. Podobieństwo genetyczne określone przy pomocy markerów RAPD nie korelowało się z efektem heterozji u form mieszańcowych.

Słowa kluczowe: heterozja, kukurydza, podobieństwo genetyczne

Ten maize hybrids and their parental lines were the major object of the work. The main purpose of the study was to prove relations between heterosis effect of hybrids and genetic similarity of their parental lines, determined by means of RAPD and AFLP molecular markers. All the hybrids, compared to the parental forms, showed significantly higher values of most of yield structure features. When related both to the better parent and to the average values of both parents, the heterosis effects correlated with genetic similarity between the parental lines, as determined with the use of AFLP markers. Genetic similarity of parental lines determined by means of RAPD markers did not correlate with the heterosis effects of the resulting hybrids.

Key words: genetic similarity, heterosis, maize

WSTĘP

W ostatnich latach hodowcy mają możliwość korzystania z nowych metod pomagających ocenić zmienność genetyczną, którą manipulują, na podstawie sprzężeń markerów z daną cechą (markery izoenzymatyczne) lub na podstawie bezpośredniej analizy DNA. Wykorzystanie markerów może zwiększyć efektywność procesu hodowlanego i skrócić czas potrzebny na wyhodowanie nowej odmiany. Zastosowanie markerów w programach hodowlanych umożliwia wprowadzenie obiektywnych kryteriów selekcji oraz zwiększa trafność doboru materiału wyjściowego do hodowli.

Jednym z niezbędnych etapów hodowli heterozyjnej jest ocena przydatności linii wsobnych biorących udział w tworzeniu przyszłej odmiany. O przydatności linii wsobnej do hodowli heterozyjnej, oprócz jej własnej wydajności, decyduje również przyrost plonu uzyskany po skrzyżowaniu jej z inną linią, czyli tak zwana wartość kombinacyjna. Coraz częściej w celu zwiększenia prawdopodobieństwa wyselekcjonowania kombinacji mieszańcowych, które wykazywałyby wysoki efekt heterozji, próbuje się selekcjonować formy rodzicielskie w oparciu o dystans genetyczny pomiędzy nimi, określany poprzez polimorfizm markerów DNA.

Wielu autorów donosi, że zjawisko heterozji jest związane z genetycznym dystansem pomiędzy liniami rodzicielskimi: Dunnington i wsp. (1991) wykazali, że prążki różniące osobniki lub próby zbiorcze DNA mogą być użyte niezawodnie do oszacowania dystansu genetycznego pomiędzy nimi.

Celem badań była analiza zróżnicowania genetycznego linii wsobnych kukurydzy wyprowadzonych z różnych materiałów wyjściowych, oraz ocena efektu heterozji mieszańców F_1 otrzymanych z tych linii.

MATERIAŁ I METODY

Doświadczenie założono w 2005 roku w układzie bloków losowanych, w trzech powtórzeniach, na poletkach o powierzchni 10 m² w RGD Dłóń.

Materiałem badawczym było 10 mieszańców kukurydzy wraz z komponentami rodzicielskimi udostępnionymi przez Hodowlę Roślin Smolice (tab. 1).

Tabela 1

Mieszańce i ich formy rodzicielskie
Hybrids and the parental forms

Mieszaniec Hybrid	Forma mateczna Female form	Forma ojcowska Male form
1	S160	S336A
2	S41336	S41324A-2
3	S50668-4	S56125A
4	S56122	S56125A
5	S245	S41789
6	S311	Co255
7	S63300	S66208A
Blask	S41796	S41324A-2
Grom	S41789	S41324A-2
Brda	S56125A	S41324A-2

Obserwacje polowe obejmowały pomiary długości kolby, średnicy kolby, długości rdzenia, średnicy rdzenia, liczby rzędów, liczby ziarniaków w rzędzie, masy ziarna z kolby, MTN i plonu. Obserwacje przeprowadzono na 10 losowo wybranych kolbach z trzech powtórzeń każdego z mieszańców oraz komponentów rodzicielskich.

Otrzymywanie markerów molekularnych RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)

Genomowy DNA izolowano z form mieszańcowych oraz komponentów rodzicielskich kukurydzy zmodyfikowaną metodą Thompsona i Henry'ego (1995).

Dyski liściowe o powierzchni 2 mm² traktowano 200 µl buforu TPS o składzie: 100 mM Tris HCl o pH 9,5; 1 M KCl; 10 mM EDTA. Inkubację przeprowadzono w probówkach Eppendorfa, w łaźni wodnej w temperaturze 95°C w czasie 15 minut.

Reakcję łańcuchową polimerazy (PCR) przeprowadzono w objętości 12,5 µl mieszaniny o składzie: woda dejonizowana; 1M Tris HCl o pH 8,3; 25 mM MgCl₂; BSA; 2 mM dNTP; starter-5pmoli/µl; Taq polimeraza-5U/µl, ekstrakt DNA-25ng/µl. Taq polimeraza pochodziła z firmy MBI-Fermentas, pozostałe odczynniki pochodziły z firmy SIGMA.

Amplifikację DNA przeprowadzono za pomocą termocyklera T3 Biometra firmy Polygen. Po wyjęciu prób z termocyklera do każdej z nich dodano 1 µl barwnika (0,25% błękit bromofenolowy; 40% sacharoza; woda dejonizowana)

Elektroforezę produktów amplifikacji przeprowadzono w 1,5% żelu agarozowym o składzie: 1,5g agarozy; 100ml buforu TBE1x (10,8g Tris base; 5,5g Boric acid; 4ml 0,5M EDTA pH 8,0); 1 µl bromku etydyny.

Otrzymywanie markerów molekularnych AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)

Izolacja genomowego DNA odbywała się metodą kolumnkową. Fragmenty liści o powierzchni 6 mm² umieszczono w probówkach z ciekłym azotem i roztarto tkankę roślinną na proszek. Do każdej próbki dodano 400 µl buforu AP1 oraz 3 µl RNAzy. Następnie inkubowano próby przez 30 minut w temperaturze pokojowej i 30 minut w 65°C. Po inkubacji dodano 130 µl buforu AP2 i mieszano na vortexie. Następnie umieszczono próby w lodzie i po 15 minutach wirowano przez 20 minut w 14000 obrotów. Po wirowaniu zebrano supernatan, który naniesiono na kolumnienki, do których dodano 60 µl buforu AP3. Próby wirowano przez 2 minuty w 8000 obrotów, a następnie dodano 450 µl buforu AW i 50 µl buforu AE. Wyizolowane DNA przechowywano w temperaturze -20°C.

Trawienie DNA przeprowadzono przy użyciu enzymów restrykcyjnych EcoRI i MseI oraz 5x read buffer. Do strawionego DNA dodano 24 µl adapter ligation solution i 1 µl T4DNA ligazy oraz inkubowano próby w temperaturze 20°C przez 3h. Do mieszaniny po ligacji dodano 90 µl buforu TE o pH 8,0. Pre-amplifikację przeprowadzono przy użyciu termocyklera T3 BIOMETRA firmy Polygen. Do rozcieńczonej matrycy DNA po ligacji dodano 40 µl pre-amp primer mix, 3,5 µl 10 × PCR buffer, 15 µl MgCl₂ oraz 1 µl Taq polimerazy (5U/µl). Do rozcieńczonej matrycy po pre-amplifikacji dodano MIX1 (startery i dNTP) oraz MIX2 (Taq polimeraza, 10 × PCR buffer i MgCl₂). Po zakończeniu reakcji PCR próby mrożono w temperaturze -20°C. Elektroforezę przeprowadzono w 5% żelu

akrylamidowym przez 2,5 h przy 60 W, 400 mA i 1400 V. Detekcja produktów PCR nastąpiła w wyniku barwienia srebrem.

Analiza umożliwiająca określenie podobieństwa pomiędzy odmianami w formie dendrogramu została sporządzona przy użyciu programu komputerowego UVIMAP w funkcji Nei i Li (1979):

$$GS = \frac{2n_{xy}}{(n_x + n_y)}$$

gdzie $2n_{xy}$ oznacza liczbę par podobnych prążków w obu genotypach, natomiast n_x oraz n_y oznaczają liczbę wszystkich prążków dla danego genotypu. Wartość GS oznacza indeks podobieństwa pomiędzy dwoma badanymi genotypami.

Effekt heterozji dla poszczególnych cech struktury plonu mieszańców obliczono względem lepszego z rodziców i względem średniej cechy obojga rodziców.

Istotność obliczonych efektów heterozji sprawdzano testem Scheffe'go korzystając z programu statystycznego DGH 2.

Korelacje pomiędzy podobieństwem genetycznym a efektem heterozji obliczono przy pomocy programu Statistica. Istotność współczynników korelacji pomiędzy efektem heterozji poszczególnych cech struktury plonu a dystansem genetycznym określano na poziomie $\alpha = 0,05$

Mieszaniec Blask jest wysokopenną odmianą komercyjną, jego linie rodzicielskie wykazują po skrzyżowaniu zdolność dawania wysokiego efektu heterozji w plonie ziarna. Świadczy to o ich dużym zróżnicowaniu genetycznym. Mieszańce Grom i Brda są również zarejestrowanymi odmianami komercyjnymi.

WYNIKI

Przetestowano 93 startery oligonukleotydowe przy pomocy markerów RAPD, 10 z nich generowało wysoki polimorfizm (79 prążków polimorficznych), z markerów AFLP przetestowano 52 kombinacje starterów, z tego 5 wygenerowało 69 prążków polimorficznych, co pozwoliło na określenie podobieństwa genetycznego pomiędzy badanymi liniami kukurydzy. Startery, kombinacje starterów oraz ich sekwencje nukleotydowe tworzące polimorfizm przedstawiono w tabeli 2.

Stopień podobieństwa genetycznego pomiędzy formami rodzicielskimi poszczególnych mieszańców określonego przy pomocy markerów AFLP mieścił się w zakresie od 7% dla mieszańca 6 i mieszańca GROM do 36% dla mieszańca 3. Stopień podobieństwa genetycznego określonego przy pomocy markerów RAPD mieścił się w zakresie od 4% dla mieszańca BRDA do 22% dla mieszańca Blask (tab. 3).

Dla długości kolby i średnicy kolby wszystkie mieszańce, z wyjątkiem 6 i 7, charakteryzowały się istotnym efektem heterozji obliczonym względem lepszego z rodziców (rys. 1 a, b, c). W przypadku tych cech efekt heterozji nie był jednak istotnie skorelowany z podobieństwem genetycznym wyznaczonym przy pomocy markerów molekularnych RAPD (tab. 4 i tab. 6).

Tabela 2

Startery i ich sekwencje nukleotydowe tworzące polimorfizm w liniach kukurydzy
Sequences of primers detecting polymorphism of maize lines

Numer startera — Primers No.		Sekwencja nukleotydowa — Sequences 5' – 3' of primers
RAPD	OPA 04	AATCGGGCTG
	OPA 07	GAAACGGGTG
	OPA 09	GGGTAACGCC
	OPA 12	TCGGCGATAG
	OPB 10	CTGCTGGGAC
	OPB 17	AGGGAACGAG
	OPF 08	GGGATATCGG
	OPH 09	TGTAGCTGGG
	OPH 20	GGGAGACATC
	OPI 12	AGAGGGCACA
AFLP	M-CTCT	GATGAGTCCTGAGTAACTCT
	E-ACGG	GACTGCGTACCAATTCACGG
	M-CTCT	GATGAGTCCTGAGTAACTCT
	E-AATT	GACTGCGTACCAATTC AATT
	M-CTCT	GATGAGTCCTGAGTAACTCT
	E-AACA	GACTGCGTACCAATTC AACA
	M-CACA	GATGAGTCCTGAGTAACACA
	E-AATT	GACTGCGTACCAATTC AATT
	M-CAAG	GATGAGTCCTGAGTAACAAG
	E-ACGG	GACTGCGTACCAATTCACGG

Tabela 3

Podobieństwo genetyczne pomiędzy formami rodzicielskimi poszczególnych mieszańców
Genetic similarity between parental forms of individual hybrids

Mieszańce Hybrids	Formy rodzicielskie Parental forms		Podobieństwo Genetyczne Genetic Similarity	
	forma mateczna — female form	forma ojcowska — male form	AFLP (%)	RAPD (%)
1	S 160	S 336A	9	8
2	S 41336	S 41324A-2	24	14
3	S 50668-4	S 56125A	36	17
4	S 56122	S 56125A	27	11
5	S 245	S 41789	22	10
6	S 311	Co255	7	10
7	S 63300	S 66208A	22	11
Blask	S 41796	S 41324A-2	9	22
Grom	S 41789	S 41324A-2	7	8
Brda	S 56125A	S 41324A-2	11	4

Dla długości rdzenia, średnicy rdzenia i ilości rzędów uzyskano nieistotny lub istotny efekt heterozji obliczony względem lepszego z rodziców, który był istotnie skorelowany z podobieństwem genetycznym wyznaczonym przez markery AFLP (tab. 4 i tab. 6). Dla liczby ziarniaków w rzędzie i masy ziarna z kolby wszystkie mieszańce charakteryzowały się istotnym efektem heterozji obliczonym względem lepszego z rodziców, który był istotnie skorelowany z podobieństwem genetycznym wyznaczonym przy pomocy markerów AFLP (tab. 4 i tab. 6). W przypadku MTN i plonu dla wszystkich mieszańców z wyjątkiem 3, 4 i Blask uzyskano istotny efekt heterozji obliczony względem lepszego

z rodziców, który również był istotnie skorelowany z podobieństwem genetycznym określonym na podstawie markerów AFLP (tab. 4 i tab. 6). Mieszańce charakteryzowały się nieistotnym lub istotnym efektem heterozji obliczonym względem średniej obojga rodziców, dla wszystkich analizowanych cech struktury plonu, który był istotnie skorelowany z podobieństwem genetycznym wyznaczonym przez markery AFLP i nieistotnie skorelowany z podobieństwem genetycznym wyznaczonym przez markery RAPD (tab. 5 i tab. 7).

Tabela 4

Wielkość efektu heterozji poszczególnych cech struktury plonu mieszańców obliczonego względem lepszego z rodziców (w %) Heterosis effect for yield and its components calculated for average feature of better parent (in %)

Mieszańce Hybrids	Długość kolby Ear length	Średnica kolby Ear diameter	Długość rdzenia Cob length	Średnica rdzenia Cob diameter	Liczba rzędów Number of rows	Liczba ziarniaków w rzędzie Number of kernels per row	Masa ziarna z kolby Weight of kernels per ear	MTN TKW	Plon Yield
1	155*	140*	146*	128*	130*	176*	281*	125*	117*
2	110*	110*	114*	87*	111	133*	232*	100*	101*
3	102*	96*	104*	86*	86*	118*	167*	85*	94*
4	121*	110*	117*	98	114*	156*	250*	102	101*
5	141*	121*	137*	124*	114*	170*	247*	117*	114*
6	129	118	135*	102*	114*	158*	237*	113*	113*
7	119	108	111*	97*	113*	165*	196*	102*	116*
Blask	103*	96*	98*	69*	95*	123*	209*	90*	114*
Grom	156*	145*	153*	128*	132*	182*	274*	131*	129*
Brda	168*	167*	168*	143*	156*	191*	325*	159*	172*

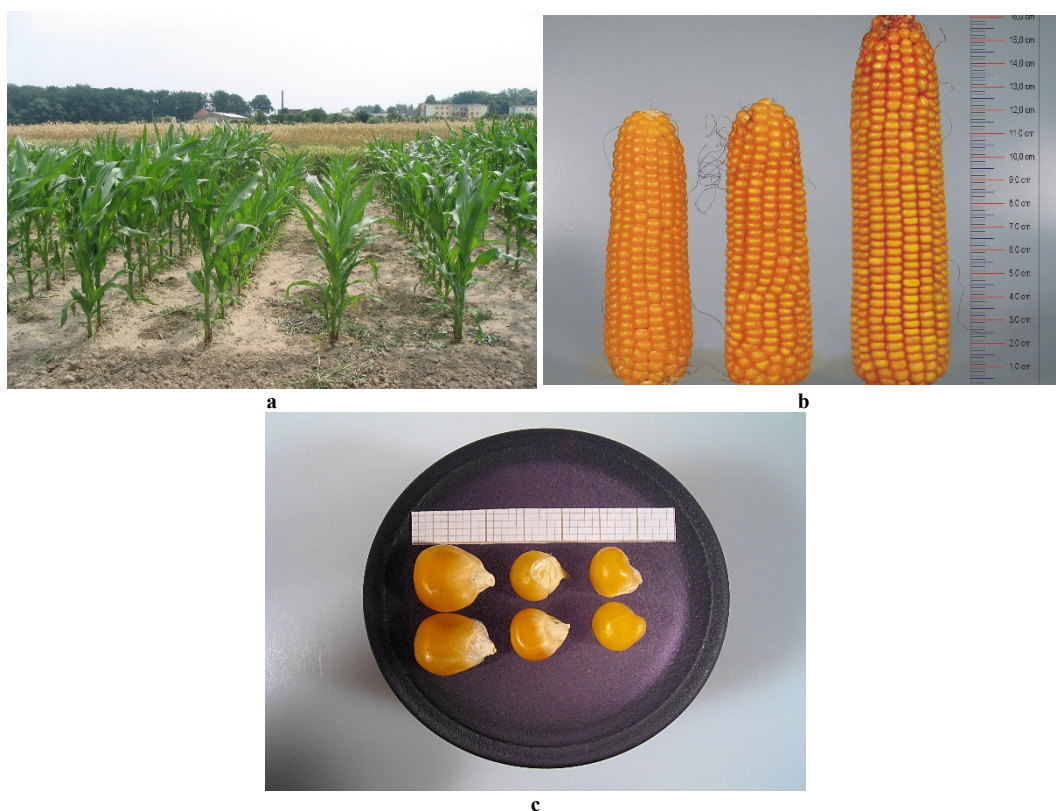
* Istotny przy $\alpha = 0,05$; *Significant at $\alpha = 0.05$

Tabela 5

Wielkość efektu heterozji poszczególnych cech struktury plonu mieszańców obliczonego względem średniej obojga rodziców (w %) Heterosis effect for yield and its components calculated for average feature of better parent (in %)

Mieszańce Hybrids	Długość kolby Ear length	Średnica kolby Ear diameter	Długość rdzenia Cob length	Średnica rdzenia Cob diameter	liczba rzędów Number of rows	liczba ziarniaków w rzędzie Number of kernels per row	Masa ziarna z kolby Weight of kernels per ear	MTN TKW	Plon Yield
1	162*	141*	151*	134*	134*	172*	268*	121*	126*
2	115*	109	116*	90*	113*	137*	230*	106	100*
3	112*	97*	108	88*	95*	127*	177*	88*	97*
4	126*	114*	118*	103	115*	169*	257*	105*	111*
5	150*	125*	138*	133*	120*	165*	268*	121*	126*
6	133*	120*	135*	106	117*	164*	263*	111*	113*
7	125*	112*	116*	102*	115*	162*	215*	111*	104*
Blask	100	97*	103	75*	101	137*	211*	97*	120*
Grom	151*	152*	153*	138*	136*	180*	293*	130*	133*
Brda	174*	172*	170*	155*	158*	193*	367*	162*	173*

* Istotny przy $\alpha = 0,05$; *Significant at $\alpha = 0.05$



Rys. 1. Efekty heterozji
Fig. 1. Heterosis effects

Tabela 6

Korelacja podobieństwa genetycznego z efektem heterozji mieszańców obliczonym względem średniej cechy lepszego z rodziców
Correlation between genetic similarity and heterosis effect calculated for average feature of better parent in respect of yield and its components

Rodzaj markera Type of marker	Długość kolby Ear length	Średnica kolby Ear diameter	Długość rdzenia Cob length	Średnica rdzenia Cob diameter	Liczba rzędów Number of rows	Liczba ziarniaków w rzędzie Number of kernels per row	Masa ziarna z kolby Weight of kernels per ear	MTN TKW	Plon Yield
	współczynniki korelacji podobieństwa genetycznego z efektem heterozji correlation coefficient of genetic similarity with heterosis effect								
AFLP	0,90*	0,85*	0,91*	0,93*	0,87*	0,91*	0,82*	0,87*	0,65*
RAPD	0,53	0,57	0,56	0,40	0,55	0,55	0,57	0,58	0,54

* Istotny przy $\alpha = 0,05$; *Significant at $\alpha = 0.05$

Tabela 7

Korelacja podobieństwa genetycznego z efektem heterozji mieszańców obliczoną względem średniej obojga rodziców

Correlation between genetic similarity and heterosis effect calculated for average feature of both parents in respect of yield and its components

Rodzaj markera Type of marker	Długość kolby Ear length	Średnica kolby Ear diameter	Długość rdzenia Cob length	Średnica rdzenia Cob diameter	Liczba rzędów Number of rows	Liczba ziarniaków w rzędzie Number of kernels per row	Masa ziarna z kolby Weight of kernels per ear	MTN TKW	Plon Yield
	współczynniki korelacji podobieństwa genetycznego z efektem heterozji correlation coefficient of genetic similarity with heterosis effect								
AFLP	0,89*	0,87*	0,90*	0,92*	0,89*	0,93*	0,79*	0,87*	0,64*
RAPD	0,57	0,56	0,56	0,39	0,55	0,51	0,59	0,57	0,56

* Istotny przy $\alpha = 0,05$; *Significant at $\alpha = 0.05$

DYSKUSJA

Nadrzędnym celem hodowli roślin jest doskonalenie istniejących form w celu uzyskania odmian o wyższej odporności na choroby, odporności na szkodniki, plenności, jakości oraz innych cech ważnych z punktu widzenia hodowlanego. Jednym z pierwszych etapów hodowli jest dobór form rodzicielskich z dostępnej puli genowej istniejących odmian. Dotychczas, aby właściwie ocenić zasoby genowe pod kątem produktywności, parametrów jakości oraz podatności na biotyczne i abiotyczne czynniki stresogenne stosowano kosztowne i pracochłonne metody opierające się na wielokrotnych krzyżowaniach i selekcji fenotypowej lub też analizie profili izoenzymatycznych (Karp i in., 1998).

We współczesnej hodowli roślin coraz szerzej stosuje się systemy markerów molekularnych, które są niezbędnym narzędziem diagnostycznym i umożliwiają pokonanie barier, których nastręczają konwencjonalne metody hodowli. Markery molekularne charakteryzują się wyższym poziomem polimorfizmu w porównaniu z markerami morfologicznymi. Obecnie najczęściej stosowanymi markerami są markery RFLP (Restriction Fragments Length Polymorphism), RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), CAPS (Clevaed Amplified Polymorphic Sequence), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), SSR (Simple Sequence Repeat) oraz SNP (Single Nucleotide Polymorphism). Przy wyborze określonego typu markera do badań powinno brać się pod uwagę następujące czynniki: typ i poziom polimorfizmu jaki dany marker potrafi zidentyfikować, ilość i czystość DNA jaka jest wymagana do analiz, typ sondy potrzebnej do detekcji sygnału, wymagania dotyczące znajomości sekwencji starterów, powtarzalność, wiarygodność, trudności techniczne jak również koszt analiz.

W niniejszej pracy wykorzystano dwa typy markerów molekularnych RAPD i AFLP. Markery RAPD zaczęto stosować na początku lat 90. Wykorzystują one reakcję PCR (Polymerase Chain Reaction) do generowania prążków. Wykazują dominujący charakter dziedziczenia, co uniemożliwia odróżnienie homozygot od heterozygot. Używane 9–11

nukleotydowe startery przyłączają się losowo zapoczątkowując amplifikację w wielu rejonach genomu jednocześnie. Produkty reakcji amplifikacji rozdzielane są na żelu agarozowym, a ich detekcja odbywa się z użyciem znaczników fluorescencyjnych lub srebra. Technika AFLP opatentowana w 1993 roku łączy trawienie enzymami restrykcyjnymi z reakcją PCR. Obydwa enzymy generują tzw. lepkie końce, do których przyłączają się 20–30 nukleotydowe fragmenty zwane adaptorami. Połączenie jest możliwe dzięki T4 DNA ligazie. Po ligacji adaptorów prowadzona jest reakcja pre-amplifikacji, po której prowadzi się amplifikację specyficzną. Rozdział produktów PCR następuje na żelu poliakrylamidowym a detekcja poprzez barwienie srebrem lub autoradiograficznie. Markery te wykazują szeroki polimorfizm, niekiedy możliwe jest rozróżnienie homo i heterozygot poprzez ocenę intensywności prążka. Nie zaleca się jednak tej techniki dla markerów dziedziczonych na zasadzie kodominacji.

Obydwa typy markerów zostały użyte do badania podobieństwa genetycznego pomiędzy formami rodzicielskimi 10 mieszańców liniowych kukurydzy. Badania wykazały, że podobieństwo genetyczne pomiędzy formami rodzicielskimi poszczególnych mieszańców określone przy pomocy markerów AFLP mieści się w zakresie od 7% dla mieszańca 6 i mieszańca Grom do 36% dla mieszańca 3. Wartość podobieństwa genetycznego określonego przy pomocy markerów RAPD mieści się w zakresie od 4% dla mieszańca Brda do 22% dla mieszańca Blask (tab. 3). Obecny stan badań nie daje nam jednoznacznej odpowiedzi na pytanie czy dystans genetyczny może być podstawą do wnioskowania o efekcie heterozji. Potrafimy wykorzystać wigor mieszańców F_1 tworząc odmiany heterozyjne, nie znamy jednak do końca zjawiska heterozji i jej mechanizmów. Na podstawie badań wykazano, że podobieństwo genetyczne określone na podstawie markerów RAPD nie koreluje się z efektem heterozji u form mieszańcowych w przeciwieństwie do podobieństwa określonego na podstawie markerów AFLP, które jest istotnie skorelowane z efektem heterozji mieszańców F_1 . Wykorzystując markery AFLP stwierdzono, że im formy rodzicielskie są bardziej spokrewnione tym efekt heterozji u form mieszańcowych jest mniejszy.

Pierwsze próby skorelowania oszacowanego dystansu genetycznego pomiędzy formami rodzicielskimi z efektem heterozji podjęto już w 1966 roku (Cross, 1966).

Godshalk i wsp. (1990) wykazali brak związku pomiędzy plonem mieszańców a heterogennością markerów molekularnych dla niespokrewnionych linii rodzicielskich.

Melchinger i wsp. (1999) w swojej pracy stwierdzili, że prognozowanie efektu heterozji pomiędzy grupami wykazującymi genetyczne podobieństwo plazmy zarodkowej nie jest możliwe na podstawie dystansu genetycznego określonego przy wykorzystaniu markerów DNA, lecz powinno być określone w doświadczeniach polowych. Na podstawie danych doświadczalnych wykazali, że podzielenie plazmy zarodkowej na zróżnicowane pule genowe jest korzystne dla optymalnego wykorzystania zjawiska heterozji.

Adamczyk i wsp. (2001) stwierdzili, że zmodyfikowana metoda PCR może być użyta do podziału materiałów hodowlanych na grupy pochodzeniowe, jednak możliwość jej bezpośredniego zastosowania do prognozowania formuł mieszańców wymaga dalszych badań.

Prowadząc analizy molekularne dla niektórych gatunków roślin uprawnych wykazano, że detekcja pokrewieństwa genetycznego pomiędzy liniami bywa niewystarczająca w przypadku tworzenia odmian mieszańcowych. Zidentyfikowano, bowiem geny kontrolujące proces rozszczepiania użytecznych cech mieszańców oraz sprzężenia genów obniżające żywotność potomstwa mieszańcowego (Fu, 1999).

Według teorii dotyczących uwarunkowań genetycznych, zjawisko heterozji jest wynikiem współdziałania genów dominujących (hipoteza dominacji) lub w obrębie heterozygotycznych *loci* (hipoteza naddominowania) (Pala, 2002). Dlatego też poszukuje się związku dystansu genetycznego z efektem heterozji wrażliwym się w plonie.

Joanna Sztuba-Solińska (2005) stwierdza, iż techniki molekularne są najbardziej efektywne w ocenie dystansu genetycznego pomiędzy liniami rodzicielskimi i umożliwiają prognozę efektywności tworzenia nowych odmian mieszańcowych wykazujących ważne użytkowo cechy.

W 1992 roku Stubber i wsp. przy użyciu markerów molekularnych zidentyfikowali czynniki związane z heterozją w mieszańcu utworzonym z linii wsobnych kukurydzy.

Ajmone Marson i wsp. (1998) stwierdzili, że istnieje związek pomiędzy plonem ziarna mieszańców a współczynnikiem dystansu genetycznego dla ich linii rodzicielskich.

Becker i wsp. (2000), którzy badali zależność dystansu genetycznego linii wsobnych kukurydzy z efektem heterozji stwierdzili, iż mieszańce kukurydzy DentxDent pochodzące z form rodzicielskich o dużym dystansie genetycznym dały największy efekt heterozji wyrażony plonem ziarna. Podobne zależności obserwowali Broda i wsp. (2002). Wykorzystując markery RAPD do analizy różnicowania genetycznego linii wsobnych żyta wykazali, że można oczekiwać wyższego efektu heterozji w mieszańcach F₁, których formy rodzicielskie pochodzą z puli genowej o znacznym dystansie genetycznym.

Na podstawie uzyskanych w tej pracy wyników stwierdzono, że markery molekularne RAPD są nie przydatne w prognozowaniu formuł mieszańców jednakże mogą znaleźć zastosowanie do grupowania linii pod względem pochodzenia, szczególnie tych, dla których dane o pochodzeniu są niepełne. Z kolei dające większy polimorfizm markery AFLP można wykorzystać do wstępnej selekcji komponentów rodzicielskich, które dalej będą testowane w warunkach polowych.

Linie należące do grup o zróżnicowanym pochodzeniu mogą być użyte do wstępnego prognozowania krzyżowań testowych w aspekcie osiągnięcia efektu heterozji (Broda i in., 2002).

WNIOSKI

1. U wszystkich analizowanych mieszańców większość cech struktury plonu przyjmowała istotnie wyższe wartości niż średnie wartości tych cech obojga rodziców.
2. Na podstawie przeprowadzonych analiz stwierdzono, że wyselekcjonowane startery zarówno w przypadku markerów RAPD, jak i AFLP generowały polimorfizm, który pozwolił na zbadanie podobieństwa genetycznego pomiędzy formami rodzicielskimi mieszańców.

3. Wstępne wyniki wskazują na to, iż podobieństwo genetyczne oparte o analizę polimorfizmu markerów molekularnych AFLP koreluje z efektem heterozji. Markery te mogą być wykorzystane do wstępnej selekcji komponentów rodzicielskich, które dalej będą testowane w warunkach polowych.
4. Markery molekularne RAPD dające mniejszy polimorfizm w porównaniu z markerami AFLP są nie przydatne w prognozowaniu formuł mieszańców, ponieważ podobieństwo genetyczne określone przy ich wykorzystaniu nie jest skorelowane z efektem heterozji.

LITERATURA

- Adamczyk J. 2001. Wprowadzenie do krajowych materiałów hodowlanych plazmy zarodkowej kukurydzy północnoamerykańskiej (*Zea mays* L.). Monografie i rozprawy naukowe IHAR. Nr 13: 52 ss.
- Ajmone Marsan P., Castiglioni P., Fusari F., Kuiper M., Motto M. 1998. Genetic diversity and its relationship to hybrid performance in maize as revealed by RFLP and AFLP markers. *Theor. Appl. Genet.* 96: 219 — 227.
- Becker H. C., Link W. 2000. Heterosis and hybrid breeding. MCC 2000 Mendel Centenary Congress: 319 — 327.
- Broda Z., Gniazdowska A., Mikołajczyk S., Szolkowski A. 2002. Wykorzystanie markerów RAPD do analizy genetycznej różnorodności linii wsobnych żyta (*Secale cereale* L.) i ich doboru do krzyżowań heterozyjnych (F₁). *PTPN Tom* 93:149 — 157.
- Cross C. E. 1966. Heterosis at the hybrid related to gene frequency differences between two populations. *Genetics* 53: 269 — 274.
- Dunnington E. A., Gal O., Siegel P. B., Haberfeld A., Cahaner A., Aavi U., Plotzky Y., Hillel J. 1991. Genetic mapping of wheat genomes using RAPD markers. *Poult. Sci.* 70: 463 — 467.
- Fu Y. B. 1999. Patterns of the purging of deleterious genes with synergistic interactions in different breeding schemes. *Theor. Appl. Genet.* 98: 337 — 346.
- Godshalk E. B., Lee M., Lamken K. R. 1990. Relationship of restriction fragment length polymorphisms to single — cross hybrid performance of maize. *Theor. Appl. Genet.* 80: 273 — 280.
- Karp A., Isaac P. G., Ingram D. S. 1998. Molecular tools for screening biodiversity: plants and animals. Chapman and Hall, London.
- Melchinger A. E. 1999. Genetic diversity and heterosis. In: *The genetics and exploitation of heterosis in crops*. Wisconsin: 99 — 118.
- Nei M., Li W. H. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of National Academy of Sciences USA*, 79: 5269 — 5273.
- Pala J. 2002. Genetyczne, fizjologiczno-biochemiczne i ekologiczne uwarunkowania plonowania roślin. W: *Fizjologia plonowania roślin*. Wydawnictwo Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie 27 — 73.
- Stubber C., Lincoln S. E., Wolff T., Helentjaris T. 1992. Identification of genetic factors contributing to heterosis in a hybrid from two elite maize inbred lines using molecular markers. *Genetics* 132: 823 — 839.
- Sztuba-Solińska J. 2006. Kosmos — problemy nauk biologicznych *PTP Tom* 54: 227 — 239.
- Thompson D., Henry R. 1995. Single step protocol for preparation of plant tissue for analysis by PCR. *Biotechniques* 19: 394 — 400.

HANNA GOŁĘBIEWSKA**MARIA KOWALCZYK¹**

Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa, Zakład Herbologii i Technik Uprawy Roli

¹Hodowla Roślin Rolniczych „Nasiona Kobierzyc” sp. z o.o.

Wrażliwość kilku odmian kukurydzy i ich form rodzicielskich na herbicydy sulfonylomocznikowe

Susceptibility of some hybrid cultivars of maize and their parental forms to sulfonylurea herbicides

W pracy przedstawiono wyniki doświadczeń prowadzonych w latach 2003–2005 nad reakcją odmian kukurydzy na herbicydy powschodowe Titus 25 WG + Trend 90 EC i Milagro 040 SC. Badano ich oddziaływanie na wzrost i rozwój odmian o różnym pochodzeniu oraz wpływ na masę kolb, plon ziarna, suchą masę i masę tysiąca ziaren w niekorzystnych dla wegetacji kukurydzy warunkach pogodowych. W doświadczeniach porównywano również tolerancję tych mieszańców na badane środki ochrony z tolerancją ich form rodzicielskich z uwzględnieniem wpływu na cechy morfologiczne i plonowanie.

Słowa kluczowe: fitotoksyczność, herbicydy sulfonylomocznikowe, odmiany mieszańcowe kukurydzy, formy rodzicielskie

The investigations on the reaction of maize cultivars to post-emergence herbicides Titus 25 WG + Trend 90 EC and Milagro 040 SC were carried out in the Lower Silesia region in the years 2003-2005. Effects of herbicides on: plant growth, number of cobs, grain yield, weight of dry matter and weight of 1000 grains in Polish and foreign cultivars grown in unfavourable weather conditions were evaluated. Susceptibility or tolerance to the herbicides of some hybrid cultivars were compared to those of the paternal forms, taking into consideration the influence of herbicides on yielding and morphological characteristics of the plants.

Key words: hybrids cultivar of maize, parental lines, phytotoxicity, sulfonylurea herbicides

WSTĘP

Mimo znaczących sukcesów w hodowli odmian o mniejszych wymaganiach termicznych, kukurydza pozostaje nadal rośliną ciepłolubną potrzebującą do swego prawidłowego rozwoju od 1300°C (odmiany wczesne) do 1600°C (odmiany późne) sum temperatur efektywnych w całym sezonie wegetacyjnym (Siódmiak, 2004). Zagrożenia początkowej fazy wzrostu kukurydzy to wiosenne chłody < 10°C, niskie uwilgotnienie gleby oraz wzrost

fitotoksyczność herbicydów, a odmiany pochodzące z cieplejszej strefy klimatycznej, o małych dobowych różnicach temperatur mogą mieć w tych warunkach obniżoną tolerancję na ich działanie. Fitotoksyczność tych środków objawia się: zahamowaniem wzrostu, przebarwieniami liści, a nawet trwałymi zmianami morfologicznymi oraz zasychaniem całych roślin i jest silnie skorelowana z warunkami pogodowymi istniejącymi w okresie ich aplikacji (Rola i in., 2003).

Zmniejszenie ryzyka wystąpienia uszkodzeń na czynniki abiotyczne powinno wiązać się z testowaniem linii oraz form rodzicielskich mieszańców kukurydzy na zalecane herbicydy na etapie hodowli. Na podstawie wieloletnich badań nad reakcją odmian kukurydzy na herbicydy, prowadzonych we współpracy z Zakładem Hodowli Roślin Rolniczych „Nasiona Kobierzyc” stwierdzono, że niektóre mieszańce tej hodowli, użytkowane na ziarno charakteryzowały się odpornością na stosowane środki, a inne reagowały zmniejszoną tolerancją.

Zakłada się, że tolerancję mieszańców na czynniki takie jak: niskie temperatury, susza czy środki ochrony, można uzyskiwać poprzez selekcję form rodzicielskich, skrzyżowaniu form o korzystnych walorach i cechach oraz ocenie wartości hodowlanej na podstawie potomstwa, czyli mieszańców F_1 .

Celem badań było porównanie reakcji mieszańców kukurydzy oraz ich form rodzicielskich traktowanych herbicydami sulfonilomocznikowymi z odmianami obcego pochodzenia w warunkach niskich temperatur i zróżnicowanego uwilgotnienia.

MATERIAŁ I METODY

Ze względu na zbyt duże zróżnicowanie materiału hodowlanego badania prowadzono w dwóch odrębnych doświadczeniach. W pierwszym doświadczeniu oceniano reakcję polskich mieszańców: Król, Koka i Iman oraz odmian obcego pochodzenia Matilda firmy Pioneer i Caraibe firmy KWS na herbicydy z grupy inhibitorów syntezy aminokwasów: Titus 25 WG + Trend 90 EC (rimsulfuron = $15 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ + adjuwant) w dawce $60 \text{ g} + 0,1\%$ oraz Milagro 040 SC (nikosulfuron = $40 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$) w dawce $1,5 \text{ l}$, stosowane w terminie powschodowym, tj. w fazie od 3 do 4 liści kukurydzy. Oddziaływanie ich na badane mieszańce obserwowano na tle istniejących w latach 2003-2005 warunków pogodowych (tab. 1). W drugim doświadczeniu obserwowano zachowanie się form rodzicielskich polskich mieszańców na te same herbicydy, stosowane w tych samych dawkach i terminach. Doświadczenia zakładano metodą split-block (równoważnych podbloków). Na całym doświadczeniu przeprowadzono przerywkę do ustalonej liczby roślin, i utrzymywano pole wolne od chwastów aż do zbiorów.

Fitotoksyczność herbicydów badano metodą bonitacyjną w skali 1:9 (1 — brak działania na roślinę uprawną, 9 — zniszczenie rośliny uprawnej), oceniając stan rośliny uprawnej po aplikacji herbicydów, przed zbiorem — krzewienie i wyleganie oraz za każdym razem porównywano z obiektem kontrolnym nie traktowanym herbicydem. Po okresie kwitnienia dokonywano pomiarów wysokości roślin. Zbiór kukurydzy przeprowadzono ręcznie w fazie dojrzałości pełnej ustalając masę kolb, plon (w przeliczeniu na 15% wilgotności) i suchą masę ziarna oraz masę tysiąca ziaren.

Tabela 1

Warunki pogodowe w sezonie wegetacyjnym w latach 2003–2005
Weather conditions in vegetation seasons in 2003–2005

Miesiące Months	Dekady Decades	2003 rok			2004 rok			2005 rok		
		średnie — mean								
		opady rainfall (mm)	temperatura temperature (°C)	dobowe różnice temperatur day/night difference (°C)	opady rainfall (mm)	temperatura temperature (°C)	dobowe różnice temperatur day/night difference (°C)	opady rainfall (mm)	temperatura temperature (°C)	dobowe różnice temperatur day/night difference (°C)
IV- Kwiecień April	II	6,5	13,2	6	0	12,7	7	30	12	6
	III	4,5	12,3	5	2,4	12,1	5	3,5	13,6	7
V-Maj May	I	26,5	8,8	10	18	8,6	11	51,8	7,1	13
	II	7,4	9,5	6	0,8	8,1	10	19	6,9	11
	III	10,7	12,1	7	10	14	8	62,9	19	5
VI- Czerwiec June	I	9,1	15,1	4	5,3	12,6	3	23	16,7	5
	II	24,5	16,1	3	19	21,3	4	32	19,4	4
	III	29,1	16,6	2	6,1	22,8	2	55	18,7	3
*Suma ET i opadów IV-X		537,6	*1887,6		238,7	*1598,2		417,7	*1695,4	
*Sum ET and rainfalls IV-X										

*) Suma efektywnych temperatur; Sum of the effective temperatures ET = 0.5 (temp. max. + temp. min.) – 6°C

Do statystycznego opracowania wyników wykorzystano metodę analizy wariancji. Istotność różnic testowano stosując 95% przedział ufności Tukeya.

WYNIKI I DYSKUSJA

Jednym z najważniejszych czynników prawidłowego rozwoju kukurydzy od samego początku wegetacji jest temperatura gleby i powietrza, a jej znaczny spadek przyczynia się do zachwiania gospodarki energetycznej i mineralnej siewek i młodych roślin (Adamczyk i in., 2004). W niektórych skrajnych przypadkach, substancje czynne herbicydów dodatkowo mogą powodować zaburzenia fotosyntezy oraz zahamowanie wzrostu tkanek merystematycznych roślin (Forlani i in., 1995). Udowodniono, że niekorzystne działanie nicosulfuronu i rimsulfuronu wyrażające się obniżeniem plonu i zahamowaniem wzrostu roślin wielu mieszańców, znacznie wzrasta w warunkach ekstremalnego przebiegu pogody, zwłaszcza pod wpływem niedostatku wilgoci w glebie i zaniżonych dla wegetacji kukurydzy temperatur (Rola i in., 1993). W tych warunkach pogodowych rozkład substancji aktywnych herbicydów ulega spowolnieniu, spada tempo przemieszczania ich w roślinie, zaburzona zostaje synteza aminokwasów (nicosulfuron) oraz przebieg fotosyntezy (rimsulfuron). Natomiast długo utrzymujące się niskie temperatury i zbyt duże uwilgotnienie również spowalniają rozkład substancji aktywnych herbicydów, szybciej wymywane są w głąb profilu glebowego i wzrasta potencjalna możliwość pobierania ich drogą korzeniową (Sadowski i in., 2004). Efektem tego mogą być stopniowe przebarwienia liści, zmiany morfologiczne i zahamowania wzrostu roślin już po 3 dniach od aplikacji.

Wpływ herbicydów na krajowe i zagraniczne odmiany w niekorzystnych warunkach pogodowych

Przyjmując, że kukurydza do uzyskania fazy dojrzałości pełnej wymaga średnio 1450 jednostek cieplnych, w badanych okresach wegetacyjnych 2003–2005 suma temperatur pozwoliła na uzyskanie pełnej dojrzałości przez badane odmiany. Były to sezony charakteryzujące się wczesnym ociepleniem sprzyjającym siewom w połowie kwietnia.

W rejonie południowo-zachodniej Polski, w latach 2003–2005, czynnikiem stresowym zakłócającym rozwój kukurydzy były niskie temperatury w okresie wczesnowiosennym. W tych warunkach pogodowych mieszańce Matilda i Caraibe pochodzące z innej strefy klimatycznej, miały niższą tolerancję na długo utrzymujące się chłody ($<10^{\circ}\text{C}$) oraz zbyt małe (2004 rok) lub zbyt duże opady (2005 rok). Długotrwały okres niskich temperatur wiosną oraz duże różnice dobowe, prowadziły do wydłużenia okresu ich kiełkowania do około 22 dni, a stosowanie herbicydów przypadło na osłabione rośliny. W tych warunkach pogodowych polskie mieszańce: Iman, Król i Koka reagowały tylko lekką chlorozą, ustępującą po kilku dniach, szybciej osiągnęły wysoki wigor i w okresie aplikacji herbicydów były w lepszej kondycji.

Po zastosowaniu herbicydów Titus 25 WG łącznie z adiuwantem oraz Milagro 040 SC, w badanym okresie 2003–2005, rośliny odmian Matilda i Caraibe zareagowały uszkodzeniami typu staśmienia i przewężenia liści, a także zwiększoną podatnością na wyleganie i krzewienie, które w przypadku Caraibe utrzymywały się aż do zbioru (tab. 2). Uszkodzenia badanych odmian zostały wysoko ocenionymi w 9-stopniowej skali bonitacyjnej i nasilały się w warunkach chłodnej i suchej wiosny 2004 roku. Reakcja odmian na stosowane herbicydy nie różniła się w latach, czyli interakcja odmian w poszczególnych latach była nieistotna. Na skutek niepełnej selektywności badanych środków ochrony w stosunku do tych odmian, nastąpiło obniżenie wysokości roślin, masy kolb, plonu oraz suchej masy ziarna w porównaniu do obiektu niechronionego chemicznie. W przypadku odmiany Caraibe, zarówno po aplikacji środka Titus 25 WG+Trend 90 EC jak i Milagro 040 SC były to różnice statystycznie udowodnione. Matilda zareagowała istotną zniżką plonu i suchej masy ziarna oraz wytworzeniem drobnych, często zdeformowanych ziaren jedynie w przypadku stosowania herbicydu Titus 25 WG z adiuwantem, a różnice na poziomie $\alpha = 0,05$ w porównaniu z obiektem kontrolnym były statystycznie istotne (tab. 2).

Natomiast badane środki chemiczne okazały się całkowicie bezpieczne w stosunku do odmian Iman i Król, selekcjonowane w polskich warunkach klimatycznych (tab. 3). W przypadku tych mieszańców tolerancja na działanie herbicydów była podobna w poszczególnych latach nawet przy wystąpieniu niekorzystnych warunków pogodowych 2004 i 2005. Spośród badanych polskich mieszańców, tylko Koka zareagował silnymi odbarwieniami liści prowadzącymi do nekrotycznych plam, deformacjami oraz zahamowaniem wzrostu po zastosowaniu Titus 25 WG+ Trend 90 EC, czego nie notowano po aplikacji Milagro 040 SC.

Tabela 2

Fitotoksyczne oddziaływanie herbicydów sulfonilomocznokowych na wzrost i rozwój odmian kukurydzy

Phytotoxic effects of sulfonyleurea herbicides on growing of maize cultivars

Odmiany Cultivars	F-fitotoksyczność- wrażliwość roślin na herbicyd w skali 1:9* Phytotoxicity - susceptibility of plants to herbicides in scale 1:9*									
	Titus 25 WG + Trend 90 EC					Milagro 040 SC				
	objawy uszkodzeń injuries	2 TYG	4 TYG	KRZ	WY	objawy uszkodzeń injuries	2 TYG	4 TYG	KRZ	WY
Obiekt kontrolny bez herbicydu Untreated control	brak uszkodzeń no injuries	1	1	1	1	brak uszkodzeń no injuries	1	1	1	1
Matilda „Pioneer”USA	plamistość i deformacje liści, nekrozy, zahamowanie wzrostu leaf spotting and malformation, necroses, stunting	4-5	3-4	1	2	lekke odbarwienia i zahamowanie wzrostu slight decolourization and leaf curling, stunting	3-4	2-3	1	1-2
Caraibe „Cargill” Francja	plamistość i deformacje liści, nekrozy, zahamowanie wzrostu leaf spotting and malformation, necroses, stunting	5-6	4-5	2	2	żółte odbarwienia i skręcenia liści, zahamowanie wzrostu yellow decolourization and leaf curling, stunting	4	2-3	1	2
Król mieszaniec tróliniowy A×B×C Triple hybrid	lekka chloroza i zahamowanie wzrostu slight chlorosis and stunting	2	1	1	1	plamistość i skręcenia liści, zahamowanie wzrostu leaf spotting and curling, stunting	1-2	1	1	1
Iman mieszaniec pojedynczy A×B Single hybrid	lekka chloroza i zahamowanie wzrostu slight chlorosis and stunting	2	1	1	1	plamistość i skręcenia liści, zahamowanie wzrostu leaf spotting and curling, stunting	1-2	1	1	1
Koka mieszaniec podwójny A×B+C×D Double hybrid	chloroza, nekrozy i skręcenia liści, zahamowanie wzrostu, wyleganie chlorosis, necroses and leaf curling, stunting, lodging	5-6	3-4	3	4	plamistość, lekka chloroza i zahamowanie wzrostu leaf spotting, slight chlorosis, stunting	2-3	1	1	1-2

*1 — Brak działania na roślinę uprawną; No effect on crop

*9 — Zniszczenie rośliny uprawnej; Crop damage

WY — Wyleganie; Lodging

2 TYG — 2 tygodnie po aplikacji; 2- weeks after application

4 TYG — 4 tygodnie po aplikacji; 4- weeks after application

KRZ — Krzewienie; Tillering

Wysoko oceniona fitotoksyczność tego środka, znacząco wpłynęła na obniżenie wysokości roślin, masy kolb, spadku plonu i suchej masy ziarna oraz wykształceniem drobnego ziarna o zaniżonej MTZ u tego mieszańca w porównaniu z obiektem nie traktowanym herbicydem, a różnice na poziomie $\alpha = 0,05$ były statystycznie udowodnione (tab. 3).

Tabela 3

**Oddziaływanie herbicydów sulfonilomocznikowych na wzrost i plonowanie odmian kukurydzy
(średnie z lat 2003–2005)**
The influence of sulfonilurea herbicide on growing and yielding of foreign maize cultivars (mean for 2003–2005)

Odmiany Cultivar	Wysokość roślin Plant height (cm)			Masa kolb Number of cobs (t/ha)			Plon ziarna Grain yield (t/ha)			Sucha masa ziarna Dry matter in grain (%)			MTZ (g)		
	H1	H2	K	H1	H2	K	H1	H2	K	H1	H2	K	H1	H2	K
Matilda „Pioneer”USA	265,5	275,5	283,0	17,57	17,53	18,57	9,61	10,91	11,18	76,89	77,32	78,36	271,3	306,5	311,3
Caraibe „Cargill” Francja	245,5	260,5	275,5	15,17	15,21	17,34	8,91	9,06	10,98	68,22	69,21	77,15	295,3	282,8	321,5
Król mieszaniec trójliniowy A×B+C Triple hybrid	275,5	280,5	283,5	19,07	19,58	20,02	10,98	11,67	11,73	80,19	80,11	81,68	272,9	274,6	288,4
Iman mieszaniec pojedynczy A×B Single hybrid	285,5	280,5	285,0	19,27	20,00	20,02	11,15	11,74	11,73	79,19	80,67	81,54	272,9	277,8	268,4
Koka mieszaniec podwójny A×B+C×D Double hybrid	245,5	255,5	285,5	9,58	17,72	18,07	5,59	9,38	10,56	76,47	78,69	79,23	252,3	264,2	273,0
Średnie dla odmian i herbicydów Mean for cultivars and herbicides	263,5	270,5	282,5	16,31	18,00	18,80	9,24	10,55	11,23	76,19	77,2	79,59	272,9	281,2	292,5
NIR; LSD _(0,05) Odmiany × herbicyd Cultivars × herbicide	23,221			1,970			1,181			1,274			15,67		

K — Obiekt kontrolny, nie traktowany herbicydem; Untreated control

H — Obiekt herbicydowy; herbicide-treated

H1 — Titus 25 WG+Trend 90 EC

H2 — Milagro 040 SC

Reakcja mieszańców kukurydzy i ich form rodzicielskich na działanie herbicydów

Mieszańce kukurydzy są bardziej tolerancyjne wobec herbicydów sulfonilomocznikowych, natomiast linie rodzicielskie reagują na nie większymi uszkodzeniami. Udowodniła to w swoich badaniach (Demczuk, 1996) wykazując, zróżnicowaną reakcję linii kukurydzy na działanie tifensulfuronu i rimsulfuronu. Podobne prace prowadził w 1993 roku Green i jego współpracownicy, którzy oceniali wpływ trzech pochodnych sulfonilomocznika: nikosulfuron, tifensulfuron-metylu i primisulfuron-metyluna 36 linii i na 28

mieszańców kukurydzy. Na 36 badanych linii przypadło 11 linii wrażliwych, natomiast z 28 badanych mieszańców tylko u jednego stwierdzono silne zahamowanie wzrostu.

Iman, Koka i Król oraz ich formy rodzicielskie dobrze zniosły niekorzystne warunki pogodowe 2004 i 2005 roku. Dość szybko osiągnęły fazę 3–4 liści, były w dobrej kondycji, co umożliwiło zastosowanie herbicydów sulfonilomocznikowych. U form ojcowskich mieszańców Król i Iman obserwowano po zastosowaniu środka chemicznego Titus 25 WG łącznie z adiuwantem słabe, szybko ustępujące odbarwienia liści, lekkie zahamowanie wzrostu i niewielkie deformacje, tj. w stopniu 2 i 3 w 9-stopniowej skali bonitacyjnej. Natomiast Milagro 040 SC był w pełni selektywny w stosunku do tych form rodzicielskich (tab. 4 i 5).

Tabela 4

Fitotoksyczne oddziaływanie herbicydów sulfonilomocznikowych na wzrost i rozwój form rodzicielskich mieszańców „Nasiona Kobierzyc”
Phytotoxic effects of sulfonilurea herbicides on growing of parental lines of hybrid cultivars „Nasiona Kobierzyc”

formy rodzicielskie parental forms	F-fitotoksyczność- wrażliwość roślin na herbicyd w skali 1:9* phytotoxicity - susceptibility of plants to herbicides in scale 1:9*									
	Titus 25 WG + Trend 90					Milagro 040 SC				
	objawy uszkodzeń injuries	2 TYG	4 TYG	KRZ	WY	objawy uszkodzeń injuries	2 TYG	4 TYG	KRZ	WY
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Obiekt kontrolny bez herbicydu Untreated control	brak uszkodzeń no injuries	1	1	1	1	brak uszkodzeń no injuries	1	1	1	1
Forma mateczna Król mieszaniec pojedynczy A×B Female parent (single hybrid)	brak uszkodzeń no injuries	1	1	1	1	brak uszkodzeń no injuries	1	1	1	1
Forma ojcowska Król linia wsobna kobierzyska C Male parent (inbred line C)	plamistość, lekka chloroza i zahamowanie wzrostu leaf spotting, slight chlorosis, stunting	3	1	1	1	brak uszkodzeń no injuries	1	1	1	1
Forma mateczna Iman linia wsobna kobierzyska A Female parent (inbred line A)	plamistość, lekka chloroza i zahamowanie wzrostu leaf spotting, slight chlorosis, stunting	2-3	1	1	1	lekka chloroza i zahamowanie wzrostu slight chlorosis and stunting	2	1	1	1
Forma ojcowska Iman linia wsobna B Male parent (inbred line B)	plamistość, lekkie deformacje i zahamowanie wzrostu leaf spotting slight deformation, stunting	2	1	1	1	brak uszkodzeń no injuries	1	1	1	1

c. d. Tabela 4

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11				
Forma														
mateczna Koka	plamistość i skręcenia					plamistość i skręcenia								
mieszaniec	liści, zahamowanie					liści, zahamowanie								
pojedynczy	wzrostu, wyleganie	3-4	2-3	1	1	wzrostu	3	2-3	1	1				
A×B	leaf spotting and curling,					leaf spotting and curling,								
Female parent	stunting, lodging					stunting, lodging								
(single hybrid)														
Forma	plamistość i skręcenia					plamistość i skręcenia								
ojcowska Koka	liści, deformacje,					liści, zahamowanie								
mieszaniec	zahamowanie wzrostu,					wzrostu	4	3	1	2				
pojedynczy	wyleganie	5-6	5	3-4	3	leaf spotting and curling,								
C×D	leaf spotting, curling and					stunting, lodging								
Male parent	malformation, stunting,					stunting, lodging								
(single hybrid)	lodging													
*1 — Brak działania na roślinę uprawną; No effect on crop						*9 — Zniszczenie rośliny uprawnej; Crop damage								
WY — Wyleganie; Lodging						KRZ — Krzewienie; Tillering								
2 TYG — 2 tygodnie po aplikacji; 2- weeks after application														
4 TYG — 4 tygodnie po aplikacji; 4- weeks after application														

Tabela 5

Oddziaływanie herbicydów sulfonilomocznikowych na wzrost i plonowanie form rodzicielskich mieszańców „Nasiona Kobierzyc” (średnie z lat 2003–2005)
The influence of sulfonyleurea herbicides on growing and yielding of parental lines of hybrid cultivars „Nasiona Kobierzyc (mean for 2003–2005)

Formy rodzicielskie Parental forms	Wysokość roślin Plant height (cm)			Masa kolb Number of cobs (t/ha)			Plon ziarna Grain yield (t/ha)			Sucha masa ziarna Dry matter in grain (%)			MTZ (g)		
	H1	H2	K	H1	H2	K	H1	H2	K	H1	H2	K	H1	H2	K
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Forma mateczna															
Król															
mieszaniec	235,0	233,3	230,0	8,00	8,06	8,12	4,38	4,46	4,56	75,56	75,75	76,32	301,1	319,6	320,6
pojedynczy A×B															
Female parent															
(single hybrid)															
Forma ojcowska															
Król															
linia wsobna	191,5	196,0	194,0	5,98	5,39	5,22	2,26	2,37	2,33	66,25	66,25	67,15	251,1	269,1	250,9
kobierzyc C															
Male parent															
(inbred line)															
Forma mateczna															
Iman															
linia wsobna	190,5	196,5	196,5	6,04	5,41	5,98	3,49	3,45	3,49	73,00	71,00	72,11	242,8	242,0	242,2
kobierzyc A															
Female parent															
(inbred line A)															
Forma ojcowska															
Iman															
linia wsobna B	200,58	215,2	211,5	4,38	3,97	4,49	2,36	2,69	2,78	67,78	67,15	68,64	224,6	241,0	237,8
Male parent															
(inbred line)															

c.d. Tabela 5

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Forma mateczna															
Koka															
mieszaniec pojedynczy A×B	222,5	224,2	250,9	5,75	6,56	7,21	3,95	4,05	4,83	67,50	68,11	68,14	279,2	263,2	284,0
Female parent (single hybrid)															
Forma ojcowska															
Koka															
mieszaniec pojedynczy C×D	214,6	214,6	247,5	3,75	6,28	7,34	1,78	2,78	3,42	60,37	68,00	69,14	256,9	266,9	285,3
Male parent (single hybrid)															
Średnie dla form rodzicielskich i herbicydów															
Mean for parental lines and herbicides	209,11	213,3	221,7	5,65	5,94	6,39	3,04	3,3	3,56	68,41	69,37	71,25	239,30	267,0	270,1
NIR, LSD _(0,05)															
Formy															
rodzicielskie. × herbicyd	28,622			2,336			0,563			1,652			12,014		
Parental lines × herbicides															
K — Obiekt kontrolny, nie traktowany herbicydem; Untreated control															
H — Obiekt herbicydowy; Herbicide-treated															
H1 — Titus 25 WG+Trend 90 EC															
H2 — Milagro 040 SC															

Ponieważ oddziaływanie herbicydów na formy rodzicielskie tych mieszańców było podobne w latach, przeprowadzono syntezę wyników z trzech lat badań. W wyniku zastosowania herbicydów na formy mateczne, jedynie u formy mieszańca Iman wystąpiła przemijająca plamistość i niewielkie deformacje na poziomie 2–3 w skali bonitacyjnej zarówno po środku Titus 25 WG, jak i Milagro 040 SC. Odzwierciedleniem dość wysokiej tolerancji form rodzicielskich na stosowane herbicydy była całkowita odporność mieszańców odmianowych Król i Iman (tab. 4 i 5).

Z badanych form rodzicielskich Koki, forma ojcowska wykazała wysoką wrażliwość na działanie herbicydu Titus 25 WG+Trend 90 EC, objawiające się silnymi uszkodzeniami zahamowaniem wzrostu oraz istotną obniżką wysokości roślin, spadkiem masy kolb, plonu i suchej masy ziarna oraz MTZ. U formy matecznej oprócz znacznego zahamowania wzrostu, pozostałe objawy były przemijające, a zniżki plonu i suchej masy ziarna były nieistotne statystycznie (tab. 4). Milagro 040 SC okazał się w mniejszym stopniu fitotoksyczny, powodował niewielkie uszkodzenia, czego efektem było jedynie istotne obniżenie wysokości roślin oraz MTZ (tab. 5). Wysoka podatność Koki na uszkodzenia w wyniku oddziaływania herbicydu Titus 25 WG + Trend 90 EC była podobna do formy ojcowskiej tego mieszańca także silnie reagującego na ten środek ochrony.

WNIOSKI

1. W wyniku oddziaływania herbicydów obserwowano u mieszańców obcego pochodzenia Matilda i Caraibe silniejsze objawy uszkodzeń, prowadzące do istotnego obniżenia plonu i suchej masy ziarna zwłaszcza w warunkach niskich temperatur oraz słabego uwilgotnienia w porównaniu z mieszańcami polskiej hodowli Król i Iman.
2. Badane środki chemiczne okazały się całkowicie bezpieczne dla mieszańców Iman i Król, selekcionowanych w polskich warunkach klimatycznych
3. Wyższa tolerancja polskich odmian na niekorzystne warunki pogodowe pochodziła od jednej z ich form rodzicielskich.
4. W stosunku do formy ojcowskiej mieszańca Król oraz do obu form rodzicielskich mieszańca IMAN mieszanina herbicydów Titus 25 WG+Trend 90 EC okazała się tylko w niewielkim stopniu fitotoksyczna
5. Herbicyd Milagro 040 SC wykazał nieco obniżoną selektywność w stosunku do formy matecznej mieszańca Iman.
6. Odzwierciedleniem tolerancji form rodzicielskich na badane herbicydy była całkowita odporność mieszańców odmianowych Król i Iman na ich stosowanie.
7. Mieszaniec Koka silnie reagował na działanie herbicydu Titus 25 WG, czego efektem było istotne obniżenie plonu ziarna i suchej masy.
8. Forma ojcowska Koki wykazała wysoką wrażliwość na działanie herbicydu Titus 25 WG+Trend 90 EC, objawiające się silnym zahamowaniem wzrostu, istotną obniżką masy kolb, plonu i suchej masy ziarna oraz MTZ, u formy matecznej były to objawy przemijające a zniżki plonu i suchej masy ziarna były nieistotne statystycznie.
9. Podatność mieszańca Koka na uszkodzenia w wyniku oddziaływania herbicydu Titus 25 WG+ Trend 90 EC pochodziła od jego formy ojcowskiej.

LITERATURA

- Adamczyk J., Rogacki J., Cygert H. 2004. Czynniki ograniczające plonowanie kukurydzy w okresie wegetacji. Stan Obecny i Perspektywy uprawy kukurydzy w Polsce. Konferencja Nauk. „Stan obecny i perspektywy uprawy kukurydzy w Polsce”. IUNG Puławy 2004.Pam. Puł.140: 127 — 136.
- Demczuk A. 1996. Wpływ herbicydów sulfonilomocznikowych na różne genotypy kukurydzy — praca doktorska. Akademia Rolnicza Wrocław.
- Forlani G., Mantelli M., Branzoni M., Nielsen E., Favilli F. 1995. Differential sensitivity of plant-associated bacteria to sulfonilurea and imidazolinone herbicides. Plant and Soil 176, 2: 243 — 253.
- Green J. M., Ulrich J. F. 1993. Response of corn (*Zea mays*) inbreds and hybrids to sulfonilurea herbicides. Weed. Sci. vol. 41: 508 — 516.
- Gołębiowska H., Rola H. 2001. Wpływ preparatu Milagro 040 SC na cechy jakościowe ziarna wybranych odmian kukurydzy. Progr. Plant Protection /Post. Ochr. Roślin, Vol. 41 (2): 873 — 876.
- Rola H., Rotkiewicz D., Kurczych S. 1993. Zachowanie się odmian kukurydzy traktowanej herbicydami w warunkach suszy. Progr. Plant Protection /Post. Ochr. Roślin, Vol. 23 (2): 274 — 277.
- Rola H., Gołębiowska H. 2003. Objawy uszkodzeń odmian kukurydzy powodowane przez herbicydy. Progr. Plant Protection /Post. Ochr. Roślin, Vol. 42 (1): 337 — 345.
- Siódmiak J. 2004. Rola odmian w nowoczesnej uprawie i ochronie kukurydzy — COBORU. Technologia produkcji kukurydzy. Słupia Wielka; 24 — 34.

- Sadowski J., Kucharski M. 2004. Wpływ czynników agrometeorologicznych na pobieranie i fitotoksyczność pozostałości herbicydów zawartych w glebie. *Progr. Plant Protection /Post. Ochr. Roślin*, Vol. 44 (1): 355 — 363.

SEBASTIAN BRZozowskiPracownia Hodowli Odpornościowej, Zakład Fitopatologii
Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Radzikowie

Reakcje krzyżowe przeciwciał poliklonalnych w teście immunofluorescencji pośredniej (IFAS) stosowanym do wykrywania *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*

Cross-reactions of polyclonal antibodies in the immuno-fluorescence antibody staining (IFAS) test used for detecting *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*

Wyizolowano z bulw ziemniaka porażonych przez bakterie *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (Cms) i wykazujących objawy choroby 19 izolatów bakterii, które dały reakcję krzyżową w teście IFAS z zastosowaniem przeciwciał poliklonalnych przeciwko Cms. Stwierdzono, że komórki bakterii siedmiu izolatów są morfologicznie zbliżone do Cms. Fakt ten wskazuje na możliwość fałszywie pozytywnej oceny w badaniach rutynowych, przy zastosowaniu przeciwciał poliklonalnych. Analiza 19 izolatów przy zastosowaniu testów biochemicznych i fizjologicznych pozwoliła na odróżnienie ich od Cms. Wykonano test patogeniczności z użyciem inokulum sporządzonego z czystych kultur bakterii dających reakcję krzyżową w teście IFAS. Żaden z izolatów nie wywołał typowych dla Cms objawów chorobowych na roślinach bakłażana.

Słowa kluczowe: bakterioza pierścieniowa ziemniaka, metody

Nineteen isolates of bacteria were detected in potato tubers infected with *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (Cms). Cross-reactions of the isolates with polyclonal antibodies applied in the IFAS test were observed. Seven isolates were morphologically similar to Cms. The occurrence of cross-reactions can lead to obtaining false positive readings in the routine tests. Biochemical and physiological methods used to analyze the 19 cross-reacting isolates made possible to distinguish them from Cms strains. A biological assay on eggplant with the use of inoculum containing pure bacteria cultures was also performed. None of the cross-reacting isolates was found pathogenic to this plant.

Key words: bacterial ring rot of potato, methods

WSTĘP

Bakterioza pierścieniowa ziemniaka wywoływana przez Cms jest jedną z groźniejszych chorób kwarantannowych ziemniaka (*Solanum tuberosum* L.). Ze względu na systemiczny charakter infekcji oraz możliwość wystąpienia bezobjawowej (latentnej) postaci choroby,

jej wykrywanie przysparza wiele trudności. Obecnie w badaniach rutynowych prób ziemniaków wykonywanych przez Państwową Inspekcję Ochrony Roślin i Nasiennictwa wykorzystywany jest między innymi test immunofluorescencji pośredniej (IFAS), test biologiczny na roślinach bakłażana oraz test oparty na reakcji hybrydyzacji *in situ* połączonej z fluorescencją (FISH). Procedura wykrywania przy pomocy testu IFAS obejmuje stosowanie zarówno przeciwciał poli-, jak i monoklonalnych (Dyrektywa 93/98/EEC; Dyrektywa EEC 2006/56/WE; Janse i Van Vaerenbergh, 1987; Rozporządzenie MRiRW z dnia 13 kwietnia 2004).

Metody serologiczne są obecnie szeroko stosowane w diagnostyce fitopatologicznej (Alvarez, 2004). Obok wielu zalet posiadają również i kilka wad. Jedną z ważniejszych przy stosowaniu przeciwciał poliklonalnych jest możliwość występowania reakcji krzyżowych. Również dla przeciwciał stosowanych do wykrywania Cms zaobserwowano reakcje krzyżowe z innymi bakteriami (De Boer i Copeman; 1980; Calzolari i in., 1982; Crowley i De Boer, 1982; De Boer, 1982). Nieswoiste reakcje serologiczne można wyeliminować stosując przeciwciała monoklonalne, co jednak znacznie zwiększa koszty badania (De Boer i Wieczorek, 1984; Halk i De Boer, 1985).

Celem pracy było zbadanie występowania bakterii nienależących do podgatunku Cms, a reagujących z przeciwciałami poliklonalnymi w teście IFAS stosowanym do wykrywania sprawcy bakteriozy pierścieniowej.

MATERIAŁ I METODY

Izolacja szczepów bakterii z ekstraktów z tkanki bulw ziemniaka

Materiałem do badań było 25 ekstraktów z bulw ziemniaka porażonych Cms. Z bulw wykazujących charakterystyczne objawy bakteriozy pierścieniowej, w których potwierdzono obecność bakterii Cms, pobierano zmacerowaną tkankę i przygotowywano ekstrakty w 1ml buforu fosforanowego PB 0,01 M, pH 7,2. Ekstrakty rozcieńczano dziesięcio-, stu- i tysiąckrotnie po czym wykonywano ich posiew powierzchniowy na półselektywną pożywkę MNTA (Jansing i Rudolph 1998) — po 50μl każdego ekstraktu i ich rozcieńczeń. Szalki inkubowano w ciemności, w stałej temperaturze 22°C. Po kilku dniach (n = 5-7) pasażowano pojedyncze kolonie (przypominające wyglądem kolonie tworzone przez Cms) na agar peptonowo-glukozowo-drożdżowy (Rozporządzenie MRiRW z dnia 13 kwietnia 2004) w celu uzyskania czystych kultur bakterii. Otrzymano w ten sposób 365 izolatów.

Test immunofluorescencji pośredniej

Wykonano po 1 ml zawiesiny wszystkich otrzymanych izolatów bakterii w buforze fosforanowym PB 0,01 M, pH 7,2. Przygotowane w ten sposób zawiesiny bakteryjne rozcieńczano dziesięcio- i stukrotnie w buforze PB 0,01 M, pH 7,2. Zarówno ekstrakty, jak i rozcieńczenia nanoszono na szkiełka wielopunktowe w ilości 20μl na okienko, suszono na płycie grzejnej w temperaturze około 40°C i utrwalano 95% alkoholem etylowym. Preparaty immunofluorescencyjne wykonano przy zastosowaniu poliklonalnych przeciwciał kozich (anty-Cms) i koniugatu króliczego znakowanego indokarbocyaniną (Cy3) z firmy Loeve. Preparaty pokryte przeciwciałami inkubowano przez 30 min.

w wilgotnej, ciemnej komorze. Następnie przeprowadzano dwukrotne płukanie w buforze PBS 0,01 M, pH 7,2 i suszenie. W ostatnim etapie na szkiełka podstawowe nanoszono 0,1 M roztwór PB z glicerolem, pH 7,6 i przykrywano je szkiełkami nakrywkowymi. Preparaty obserwowano w mikroskopie epifluorescencyjnym Nikon Eclipse E600, przy powiększeniu 1000 razy.

W przypadku uzyskania pozytywnego wyniku testu IFAS z zastosowaniem przeciwciał poliklonalnych, wykonywano dla danego izolatu test IFAS z zastosowaniem przeciwciał monoklonalnych. W tym celu zastosowano monoklonalne przeciwciała mysie (anty-cms) oraz koniugat znakowany izotiocyanianem fluoresceiny (FITC) produkcji Agdia. Procedura przygotowania preparatów była podobna jak dla przeciwciał poliklonalnych, różniła się jedynie warunkami inkubacji preparatów z przeciwciałami. Dla przeciwciał monoklonalnych zastosowano inkubację przez 1 h w wilgotnej, ciemnej komorze w temperaturze 37°C.

Testy biochemiczne i fizjologiczne

Dla izolatów, które dały pozytywną reakcję w teście IFAS z zastosowaniem przeciwciał poliklonalnych przeprowadzono szereg testów biochemicznych i fizjologicznych (tab. 1). W trakcie wykonywania testów biochemicznych zastosowano bakterie Cms (szczep 25.2) jako czynnik kontrolny. Wszystkie testy wykonano według metodyki opisanej w załączniku nr 1 do Rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 13 kwietnia 2004 „W sprawie szczegółowych sposobów postępowania przy zwalczaniu i zapobieganiu rozprzestrzeniania się bakterii Cms”.

Tabela 1

Wykaz testów biochemicznych i fizjologicznych wykorzystywanych do identyfikacji Cms Biochemical and physiological tests used for identification of Cms

Test:	Wynik charakterystyczny dla Cms Result characteristic of Cms
Oksydacyjno/fermentacyjny (O/F) — Oxidation/fermentation (O/F)	obojętna lub słabo utleniająca neutral or weak oxidation
Aktywność oksydazy — Oxidase activity	-
Aktywność katalazy — Catalase activity	+
Redukcja azotanów — Nitrates reduction	-
Aktywność ureazy — Urease activity	-
Produkcja H ₂ S — H ₂ S production	-
Produkcja indolu — Indole production	-
Wykorzystanie cytrynianu jako źródła węgla — Citrate as a source of carbon	-
Hidroliza skrobi — Starch hydrolysis	lub słaba — or weak
Wzrost w temperaturze 37°C — growth at 37°C	-
Wzrost w obecności 7% NaCl — growth at 7% NaCl	-
Hidroliza żelatyny — Gelatin hydrolysis	-
Hidroliza eskuliny — Esculin hydrolysis	+
glicerolu — glycerol	-
Produkcja kwasu z: laktozy — lactose	lub słaba — or weak
Acid produced from: ramnozy — rhamnose	-
salicyny — salicin	-

Biologiczny test patogeniczności na oberżynie

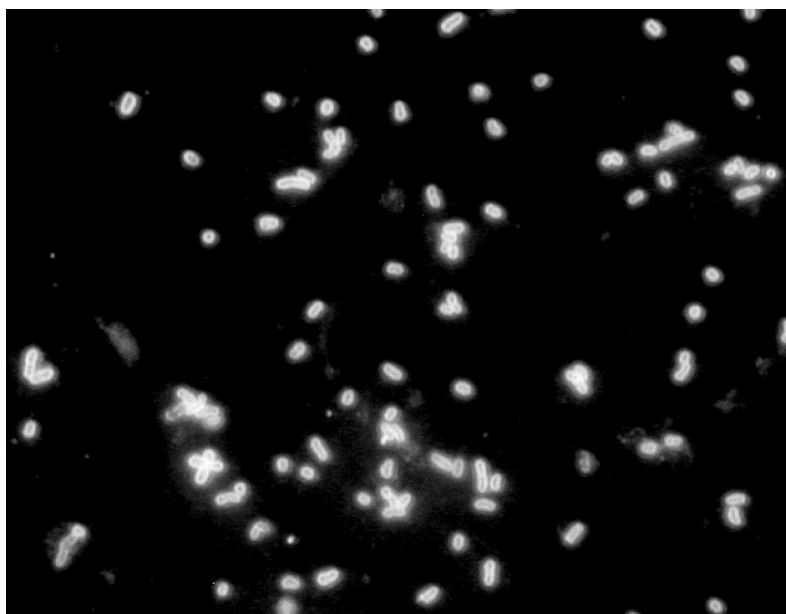
W celu określenia patogeniczności szczepów bakterii dających reakcję krzyżową w teście IFAS, wykonano szereg testów biologicznych na roślinach bakłażana (*Solanum melongena*). Z czystych kultur bakterii sporządzono inokulum, które posłużyło do zakażenia roślin testowych.

W celu przeprowadzenia testów patogeniczności wykonano następujące czynności:

- W sterylnych warunkach przygotowano po 1 ml zawiesiny każdego izolatu bakterii w sterylnej redestylowanej wodzie.
- W spektrofotometrze BioPhotometr wykonano pomiar gęstości optycznej (OD) przy długości fali $\lambda = 600$ nm, przygotowanych wcześniej zawiesin bakteryjnych.
- Wykonano rozcieńczenia zawiesin, do gęstości optycznej 0,1 aby uzyskać stężenie bakterii około 10^8 jtk/ml (jtk- jednostki tworzące kolonie)
- Dla każdej próby zastosowano po 6 roślin testowych.
- Inokulowane rośliny inkubowano w szklarni i od 5. dnia testu oceniano występowanie symptomów porażenia.

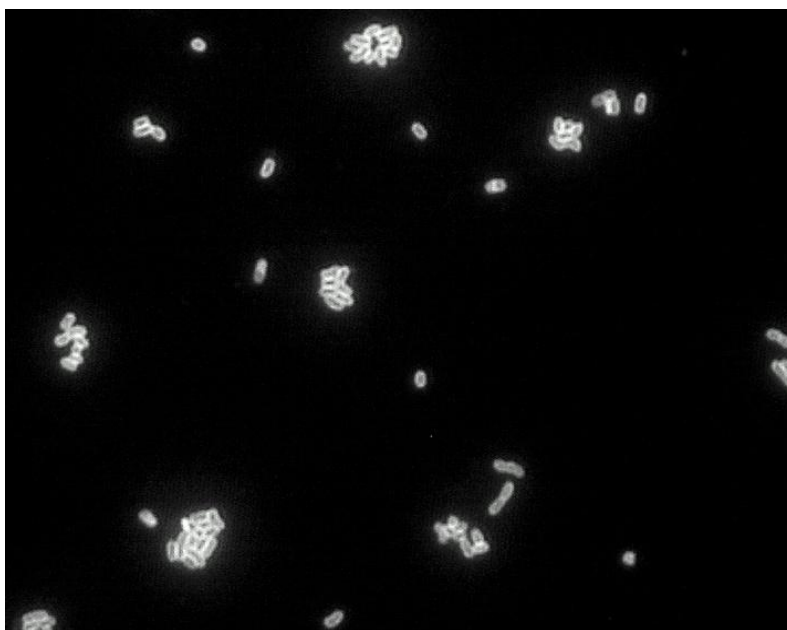
WYNIKI

Na podstawie obserwacji mikroskopowych preparatów IFAS wykonanych z zastosowaniem przeciwciał poliklonalnych stwierdzono pozytywną reakcję dla 19 izolatów bakterii spośród 365 badanych.



Rys. 1. Mikroskopowy obraz bakterii Cms uzyskany w teście IFAS z zastosowaniem przeciwciał poliklonalnych (powiększenie 1000x)

Fig. 1. Microscopic image of Cms obtained in the IFAS test using polyclonal antibodies (magnification 1000x)



Rys. 2. Mikroskopowy obraz reakcji krzyżowej izolatu bakterii 142.5 uzyskany w teście IFAS z zastosowaniem przeciwciał poliklonalnych (powiększenie 1000x)

Fig. 2. Microscopic image of cross-reacting bacterial isolate 142.5 obtained in the IFAS test using polyclonal antibodies (magnification 1000x)

Stwierdzono, że komórki bakterii 7 izolatów są morfologicznie (kształtem i wielkością) zbliżone do bakterii Cms. Test IFAS wykonany z zastosowaniem przeciwciał monoklonalnych dla wszystkich 19 izolatów dał negatywny wynik.

Na szczególną uwagę zasługuje izolat oznaczony numerem 142.5 (rys. 2), w przypadku którego kształt i wielkość bakterii są bardzo podobne do Cms. Fakt ten wskazuje na możliwość fałszywie pozytywnej oceny w badaniach rutynowych, przy zastosowaniu przeciwciał poliklonalnych.

Charakterystyka pozwoliła na wyróżnienie 17 profili dla 19 izolatów bakterii za pomocą testów biochemicznych i fizjologicznych. Stwierdzono również, iż żaden z 19 izolatów bakterii nie należy do podgatunku Cms, ponieważ izolaty wykazały inny szereg reakcji zaobserwowanych na pożywkach w porównaniu do szczepu kontrolnego Cms, 25.2 (tab. 2).

Żaden z badanych izolatów bakterii dających reakcję krzyżową nie wywołał typowych dla Cms objawów chorobowych na roślinach oberżyny w teście biologicznym.

Tabela 2

Właściwości biochemiczne i fizjologiczne izolatów bakterii dających reakcję krzyżową w teście IFAS z przeciwciałami poliklonalnymi
Biochemical and physiological properties of the bacteria cross-reacting with polyclonal antibodies in the IFAS test

Izolat Isolate	Testy biochemiczne i fizjologiczne Biochemical and physiological tests													
	O/F	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	Produkcja kwasu z: Acid produced from	
													glycerolu glycerol	ramnozy rhamnose
Gracja 3.5	F	+	+	-	+	-	-	++	-	-	-	+	n.b.	+
2390.2	F	+	+	+	+	-	+	+++	-	+	+	+	+	-
91.4	F	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+
K4.5	F	-	-	-	-	-	-	++	-	-	-	+	n.b.	+
K4.6	F	-	-	-	-	-	-	++	-	-	-	+	+	+
18.R	F	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-
16838.4	F	-	+	-	+	-	-	++	-	-	+	+	+	+
2861.5	F	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	n.b.
2759.4	F	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+
2/Rz.2	F	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-
2/Rz.3	F	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	n.b.	-
4/Rz.3	F	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	n.b.	+
142.4	F	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-
142.5	O/O	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	n.b.	-
6518.8	F	+	+	-	-	-	-	++	-	-	-	+	n.b.	n.b.
6518.11	F	+	+	-	+	-	-	+++	-	-	-	+	+	-
3667.2	O/O	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	n.b.	+
3667.3	F	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	n.b.	-
3091.9	F	-	-	-	-	-	-	++	-	-	-	+	n.b.	n.b.
Cms-25.2	O	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-

n.b. — Nie badano — Not tested

I — Aktywność oksydazy — Oxidase activity

II — Aktywność katalazy — Catalase activity

III — Aktywność ureazy — Urease activity

IV — Produkcja H₂S — H₂S production

V — Produkcja indolu — Indole production

VI — Wykorzystanie cytrynianu jako źródła węgla — Citrate as a source of carbon

VII — Hydroliza skrobi — Starch hydrolysis

VIII — Wzrost w 37°C — Growth at 37°C

IX — Tolerancja na 7% NaCl — Growth at 7% NaCl

X — Hydroliza żelatyny — Gelatin hydrolysis

XI — Hydroliza eskuliny — Esculin hydrolysis

DYSKUSJA

Występowanie reakcji krzyżowych przeciwciał poliklonalnych z bakteriami innymi niż Cms obserwowano w preparatach mikroskopowych wykonanych techniką IFAS, z ekstraktów tkankowych przygotowanych z fragmentów przystolonowych bulw ziemniaka (De Boer i Copeman 1974, 1980; Crowley i De Boer 1982; Miller 1984). Calzolari i inni (1982) zaobserwowali reakcje krzyżowe poliklonalnych przeciwciał anty-Cms z saprofitycznymi maczugowcami (*Coryneform*) z gatunku *Arthrobacter polychromogenes*.

Rozcieńczanie przeciwciał może zmniejszać ilość reakcji krzyżowych, ale jednocześnie może prowadzić do uzyskiwania fałszywie negatywnych wyników dla prób porażonych przez Cms (De Boer i Copeman, 1980). Rutynowo stosowane procedury wykrywania i identyfikacji Cms obejmują wykonanie kilku rozcieńczeń ekstraktów z tkanki ziemniaka w celu uniknięcia fałszywie negatywnych wyników badania przy wysokim rozcieńczeniu przeciwciał (Dyrektywa 93/98/EEC).

W przeprowadzonych doświadczeniach zaobserwowano reakcję krzyżową przeciwciał poliklonalnych przy relatywnie dużym rozcieńczeniu przeciwciał, a także dla zawiesin bakterii o różnym stężeniu. Reakcje krzyżowe obserwowano przy rozcieńczeniu przeciwciał anty-Cms, rzędu 10 000x. Takie rozcieńczenie jest rekomendowane przez producenta jako najodpowiedniejsze. Reakcje krzyżowe mogą być czasami rozpoznawane przez dokładną obserwację kształtu, wielkości i wzajemnego ułożenia fluoryzujących komórek bakterii. Niestety saprofityczne bakterie maczugowe, które najczęściej dają reakcję krzyżową są nie tylko podobne do Cms pod względem serologicznym, ale mają także podobny kształt i wielkość. Potwierdziły to obserwacje mikroskopowe preparatów mikroskopowych IFAS wykonanych dla szczepu 142.5.

Innym sposobem na wyeliminowanie fałszywie pozytywnych wyników testu IFAS jest zastosowanie przeciwciał monoklonalnych (De Boer i Wieczorek, 1984). Nie obserwowano dotychczas reakcji krzyżowych dla tego rodzaju przeciwciał, co wynika ze sposobu ich produkcji, a co za tym idzie wysokiej specyficzności.

Na podstawie przedstawionych w niniejszej pracy wyników szeregu biochemicznego dla 19 badanych izolatów bakterii można stwierdzić, iż należą one do 17 różnych grup taksonomicznych. Podkreślić należy, zatem fakt, że przeciwciała poliklonalne użyte w niniejszej pracy charakteryzują się niską specyficznością, co objawia się występowaniem reakcji krzyżowych. Należy, zatem stosować przeciwciała monoklonalne, które charakteryzują się wyższą specyficznością (De Boer i McNaughton, 1986; Kokoskova i Pankova, 1998; Pankova i Kokoskova, 2002). Ze względów technicznych nie możliwe jest wytworzenie poliklonalnych przeciwciał anty-Cms o wyższej specyficzności, co pozwoliłoby wyeliminować reakcje krzyżowe (De Boer i in., 1988; Gudmestad i in., 1991).

Występowanie reakcji krzyżowych może również wpływać na fałszywie pozytywną ocenę badanych prób ziemniaka. Nawet doświadczony mikrobiolog nie jest w stanie jednoznacznie odróżnić na podstawie kształtu i wielkości komórek bakterii Cms od niektórych innych bakterii dających reakcję krzyżową. Dlatego też rutynowe badania bulw ziemniaka pod kątem obecności tego patogena obejmują kilka metod, które stosowane jednocześnie pozwalają na uzyskanie wiarygodnych wyników.

WNIOSKI

1. Bakterie dające reakcję krzyżową w teście IFAS z zastosowaniem przeciwciał poliklonalnych mogą wpływać na ocenę badanego materiału pod kątem obecności Cms.
2. Konieczne jest stosowanie jednocześnie różnych metod wykrywania i identyfikacji Cms, zarówno technik serologicznych, molekularnych oraz testów biologicznych, co

pozwoli zweryfikować zarówno fałszywie pozytywne, jak i fałszywie negatywne wyniki.

LITERATURA

- Alvarez A. M. 2004. Integrated approaches for detection of plant pathogenic bacteria and diagnosis of bacterial diseases. *Annu. Rev. Phytopathol.* 42: 339 — 366.
- Anonim. 1990. Quarantine procedure. *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus*. Inspection and test methods. *Bull. OEPP/EPPO Bull.* 20: 235 — 254.
- Calzolari A., Bazzi C., Mazzucchi U. 1982. Cross- reactions between *Corynebacterium sepedonicum* and *Arthrobacter polychromogens* in immunofluorescence staining. *Potato Res.* 25: 239 — 246.
- Crowley C.F., De Boer S.H. 1982. Nonpathogenic bacteria associated with potato stems cross-react with *Corynebacterium sepedonicum* antisera in immunofluorescence. *Am. Potato J.* 59: 1 — 8.
- De Boer S. H., Copeman R.J. 1974. Endophytic bacterial flora in *Solanum tuberosum* and its significance in bacterial ring rot diagnosis. *Can. J. Plant Sci.* 54: 115 — 122.
- De Boer S. H., Copeman R.J. 1980. Bacterial ring rot testing with the indirect fluorescent antibody staining procedure. *Am. Potato J.* 57: 457 — 466.
- De Boer S. H., McNaughton M. E. 1986. Evaluation of immunofluorescence with monoclonal antibodies for detecting latent bacterial ring rot infections. *Am. Potato J.* 63: 533 — 542.
- De Boer S.H. 1982. Cross-Reaction of *Corynebacterium sepedonicum* antisera with *C. insidiosum*, *C. michiganense*, and an unidentified *Coryneform* bacterium. *Phytopathol.* 72: 1474 — 1478.
- De Boer S.H., Wieczorek A. 1984. Production of monoclonal antibodies to *Corynebacterium sepedonicum*. *Phytopathology* 74 (12): 1431 — 1434.
- De Boer S.H., Wieczorek A., Kummer A. 1988. An ELISA test for bacterial ring rot of potato with a new monoclonal antibody. *Plant Dis.* 72: 874 — 878.
- Dyrektywa EEC Nr 93/85. *Officinal Journal L* 259.18.10.1993.
- Dyrektywa EEC Nr 2006/56/WE. *Officinal Journal L* 182/1. 4.07.2006.
- Gudmenstad N. C., Baer D., Kurowski C. J. 1991. Validating immunoassay test performance in the detection of *Corynebacterium sepedonicum* during the growing season. *Phytopathol.* 81: 475 — 480.
- Halk E. L., De Boer S. H. 1985. Monoclonal antibodies in plant-disease research. *Ann. Rev. Phytopathol.* 23: 321 — 350.
- Janse J. D., Van Vaerenbergh J. 1987. Interpretation of the EC method for the detection of latent *Corynebacterium sepedonicum* infections in potato. *Bull. OEPP/EPPO Bull.* 17: 1 — 10.
- Jansing H., Rudolph K. 1998. Physiological capabilities of *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* and development of a semi-selective medium. *Z. PflKrankh. PflSch.* 105(6): 590 — 601
- Kokoskova B., Pankova I. 1998. Sensitivity and specificity of polyclonal antisera for determination of *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* and their use by the slide agglutination method. *Plant Prot. Sci.* 34: 121 — 125.
- Miller H. J. 1984. Cross- reactions of *Corynebacterium sepedonicum* antisera with soil bacteria associated with potato tubers. *Neth. J. Plant Pathol.* 90: 23 — 28.
- Pankova I., Kokoskova B. 2002. Sensitivity and Specificity of Monoclonal Antibody Mn-Cs1 for Detection and Determination of *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*, the Causal Agent of Bacterial Ring Rot of Potato. *Plant Protection Science* 38 (4): 117 — 124.
- Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 13 kwietnia 2004. W sprawie szczegółowych sposobów postępowania przy zwalczaniu i zapobieganiu rozprzestrzeniania się bakterii *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*. *Dziennik Ustaw* Nr 75, poz. 709.

JÓZEFA KAPSA

Pracownia Ochrony Ziemniaka

Zakład Nasiennictwa i Ochrony Ziemniaka w Boninie

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Radzikowie

Zastosowanie pułapki Burkarda do określania składu gatunkowego rodzaju *Alternaria* w uprawach ziemniaka

Application of the Burkard spore trap to determine a composition of the genus *Alternaria* in potato crops

Alternaria występuje powszechnie na liściach ziemniaków, szczególnie w regionach o wysokich temperaturach i wilgotności w sezonie wegetacyjnym. W warunkach polskiego klimatu choroba występuje wcześniej niż zaraza ziemniaka, powodując w ostatnich latach straty plonu w granicach 6 do 45%. W latach 1998–2006, we współpracy z Inspekcją Ochrony Roślin i Nasiennictwa przeprowadzono ocenę występowania alternariozy na plantacjach ziemniaka w Polsce. Obserwacje wykazały, że choroba wystąpiła powszechnie na większości pól produkcyjnych, przeciętnie na 86% obserwowanych upraw. Wyniki doświadczeń polowych nad oceną skuteczności fungicydów w zwalczaniu alternariozy na ziemniakach z różnych krajów i regionów wykazują często duże rozbieżności. Być może związane jest to ze składem gatunkowym rodzaju *Alternaria*. Wykorzystując pułapkę zarodników Burkarda, w sezonie 2006 analizowano populację *Alternaria* w północnej Polsce. Wyniki wykazały większy udział gatunku *A. alternata* w sezonie niż *A. solani*.

Słowa kluczowe: alternarioza, choroby grzybowe, pułapka Burkarda, ziemniaki

Early blight commonly occurs in potato foliage, particularly in the regions of high temperatures and humidity during growing seasons. In the climatic conditions of Poland the disease usually occurs earlier in the season than does late blight. In the recent years, early blight caused the reduction in potato yield ranging from 6% to 45%. In the years 1998–2006, an evaluation of the early blight occurrence in potato crops was carried out throughout Poland, in co-operation with the Plant Health and Seed Inspection Service. The disease incidence was recorded in most production areas, reaching approximately 86% of the surveyed crops. There are often considerable discrepancies in the results obtained in different regions or countries as regards the effectiveness of fungicides used in field trials to control early blight. These may result from the differences in a composition of the genus *Alternaria* in different geographical regions. A population of the genus was analyzed in 2006 in northern part of Poland, using the Burkard spore sampler. The results obtained showed that the occurrence of *A. alternata* was more frequent than that of *A. solani*.

Key words: Burkard spore trap, early blight, fungal disease, potato

WSTĘP

Alternarioza, występująca na roślinach z rodziny *Solanaceae* (psiankowatych) powodowana jest przez dwa gatunki grzyba z rodzaju *Alternaria*, należącego do grupy grzybów mitosporowych, klasy strzępczaków (*Hyphomycetes*), rzędu *Hyphomycetales* (Ainsworth i Bisby, 1995; za Marcinkowską, 1997). Są to grzyby: *A. solani* — sprawca suchej plamistości liści i *A. alternata* — sprawca brunatnej plamistości liści. Morfologiczne objawy porażenia grzybami w miarę rozwoju choroby nie różnią się, dlatego też ich występowanie ocenia się na ziemniakach łącznie.

Straty plonu bulw ziemniaka powodowane przez chorobę, w zależności od regionu jej występowania ocenia się średnio na 25%, a lokalnie na 60% (Reinoch, 1974), 20–30% (Johnson i in., 1986; Fry, 1994), 30% (Leiminger, Hausladen, 2007). W środkowo-wschodnich rejonach USA alternarioza uważana jest za najpoważniejszą ekonomicznie, chroniczną chorobę ziemniaków, a jej sprawca (*A. solani*) za gatunek endemiczny (Gudmestad, Pasche, 2007). W Polsce straty plonu spowodowane rozwojem alternariozy na polstkach niechronionych w doświadczeniach polowych wahały się w ostatnich latach w granicach 6–45% (Kapsa, Osowski, 2004).

Przyjmuje się, że w uprawach ziemniaka w Polsce dominującym gatunkiem jest *A. alternata* (Kuczyńska, 1987, 1992; Kapsa i in., 2003). Badania prowadzone we wschodnich i południowych Niemczech, w latach 2002–2006, wykazały także częstsze występowanie *A. alternata* (Hausladen, Schuller, 2003; Hausladen i in., 2004; Hausladen, Leiminger, 2007). W innych krajach (np. USA, Holandia) za dominujący gatunek uznaje się gatunek *A. solani* (Johnson, 1986; Shtienberg, 1996; Wiik, 2004; Bauwman i Rijkers, 2004; Gudmestad, Pasche, 2007).

Ze względu na różną skuteczność stosowanych w ochronie fungicydów w zależności od zwalczanego gatunku grzyba (Osowski, 2006; Zellner — inf. ustna) istotnym zagadnieniem wydaje się być ocena składu gatunkowego populacji grzybów z rodzaju *Alternaria* na danym terenie.

Do określania składu gatunkowego populacji *Alternaria* wykorzystywano w Niemczech pułapki Burkarda (Hausladen, Schuller, 2003). Możliwość zastosowania istniejących i funkcjonujących na terenie kraju pułapek zarodników była szansą na rozpoczęcie badań nad składem gatunkowym grzybów z rodzaju *Alternaria* na terenie Polski. Od 1 września 2004 roku, z inicjatywy Instytutu Genetyki Roślin PAN (IGR) i firmy DuPont-Poland na terenie Polski, działa System Prognozowania Epidemii Chorób (SPEC), obecnie największy system monitorowania suchej zgnilizny kapustnych na świecie, jednej z najbardziej rozpowszechnionych i najgroźniejszych chorób rzepaku. Podstawą systemu jest badanie stężenia zarodników workowych grzybów chorobotwórczych (*Leptosphaeria maculans* i *L. biglobosa*) w powietrzu za pomocą dziesięciu wolumetrycznych pułapek Burkarda (Burkard Manufacturing Inc., W. Brytania oraz Lanzoni, Włochy), rozmieszczonych na terenie kraju.

Opierając się na założeniu, że pułapka wolumetryczna (rys. 1) wyłapuje zarodniki różnych gatunków grzybów oraz pyłki roślin, a zarodniki grzyba *Alternaria* mają charakterystyczny kształt i określoną wielkość, w związku z czym są stosunkowo łatwo

rozpoznawalne w gąszczu innych zarodników, podjęto w ZNiOZ IHAR w Boninie badania, których celem była odpowiedź na pytanie: Czy istnieje możliwość wykorzystania pułapki Burkarda do określania sprawców chorób w uprawach ziemniaków w Polsce, a w szczególności do określania składu gatunkowego grzyba z rodzaju *Alternaria*, sprawcy alternariozy ziemniaka?

MATERIAŁ I METODY

Na podstawie wieloletnich badań ankietowych, prowadzonych przez pracowników terenowych Państwowych Inspektoratów Ochrony Roślin i Nasiennictwa, w Zakładzie Nasiennictwa i Ochrony Ziemniaka IHAR w Boninie prowadzi się analizę terminów występowania i nasilenia alternariozy i zarazy na plantacjach ziemniaka na terenie Polski. Dane ankietowe na ten temat przesyłane są i analizowane w Boninie.

W sezonie 2006, we współpracy z firmą DuPont, do określania częstości występowania gatunków grzyba z rodzaju *Alternaria* wykorzystano pułpkę Burkarda ze Stacji Doświadczalnej Oceny Odmian w Rarwinie koło Kamienia Pomorskiego. Pułapka została ustawiona w odległości ok. 40 m od pola ziemniaczanego (rys. 1).



Rys.1. Pułapka Burkarda służąca do wylapywania zarodników patogenów roślin (www.spec.edu.pl)

Fig. 1. The Burkard trap applied to sample spores of plant pathogens (www.spec.edu.pl)

Użyta w doświadczeniach siedmiodniowa pułapka wolumetryczna na zarodniki w aktywny sposób zasysa powietrze ($10 \text{ m}^3/\text{h}$) wraz ze znajdującymi się w nim zarodnikami i pyłkami roślin, które potem osadzają się w środku pułapki, na taśmie pokrytej wazeliną. Taśma ta jest przyczepiona do bębna, który obraca się z prędkością 2 mm na godzinę. Każdego tygodnia taśmę wyjmowano z bębna i cięto na odcinki długości 48 mm, co odpowiada 24 h pracy pułapki. Z wycinków taśm przygotowywano trwałe preparaty do badań mikroskopowych (www.spec.edu.pl).

Obserwacja zarodników pod mikroskopem pozwoliła na ustalenie, w którym dniu zarodniki znajdowały się w powietrzu.

Tygodniowe odcinki ocenianych w Boninie taśm obejmowały okres 10 tygodni (od 7 czerwca do 15 sierpnia 2006 roku). Każdy z wycinków taśmy był analizowany pod mikroskopem, pod kątem obecności zarodników grzybów *A. solani* i *A. alternata*.

WYNIKI I DYSKUSJA

Wyniki obserwacji polowych przedstawiane w wielu publikacjach, wskazują, że alternarioza pojawia się na wielu plantacjach pod koniec okresu wegetacji (Hadders, 2004; Wiik, 2004), często po zarazie ziemniaka. Wyniki badań ankietowych z lat 1998–2006 wskazują natomiast, że w warunkach Polski alternarioza (= early blight) występuje wcześniej niż zaraza (= late blight) — tabela 1. Jedynie w sezonie 2002 pierwsze notowane infekcje obu chorób obserwowano w tym samym czasie, gdy zaraza ziemniaka wystąpiła wyjątkowo wcześniej.

Jak już wspomniano wcześniej, wyniki badań polowych z różnych krajów, dotyczące testowania skuteczności wybranych fungicydów w ograniczaniu rozwoju alternariozy na plantacjach ziemniaka, wykazują często duże rozbieżności. Może to być związane nie tylko z metodą ochrony i stosowanych kryteriów oceny, ale również ze składem gatunkowym populacji patogena występujących w różnych rejonach Europy czy świata. Wstępne wyniki badań prowadzone w kilku ośrodkach naukowych w Europie, m.in. w IHAR w Boninie, wykazują różną skuteczność wybranych fungicydów w stosunku do obu gatunków grzyba z rodzaju *Alternaria* (Osowski, 2006; Kapsa i in., 2007).

Tabela 1

Daty pierwszych infekcji alternariozy i zarazy na polach ziemniaka w Polsce (dane ankietowe)									
Dates of the first outbreaks of early and late blight in potato fields in Poland (based on questionnaires)									
Choroba Disease	Rok obserwacji – Year of evaluation								
	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006
Zaraza ziemniaka Late blight	23.06.	02.06.	07.06.	06.06.	21.05.	11.06.	17.06.	13.06.	05.06.
Alternarioza Early blight	20.05.	21.05.	31.05.	01.06.	20.05.	27.05.	04.06.	02.06.	04.06.

Oba gatunki grzyba różnią się niektórymi cechami morfologicznymi, m.in. barwą grzybni i szybkością jej wzrostu na pożywkach, budową zarodników czy wymaganiami temperaturowymi. Sprawcy alternariozy są przykładem typowych organizmów nekrofitycznych, czyli patogenów atakujących osłabione, starsze rośliny (Rotem, 1966), bądź zainfekowane innymi patogenami np. wirusami (Nagaich, Prased 1971, Dorożkin i in., 1979; Hooker, 1980). Oba gatunki wykazują silne właściwości fitotoksyczne. Wydzielają mikotoksyny takie jak kwas tenauzonowy, alternariol, altenuen, tentoksyna (Hooker, 1980; Horoszkiewicz, 2007 — inf. ustna).

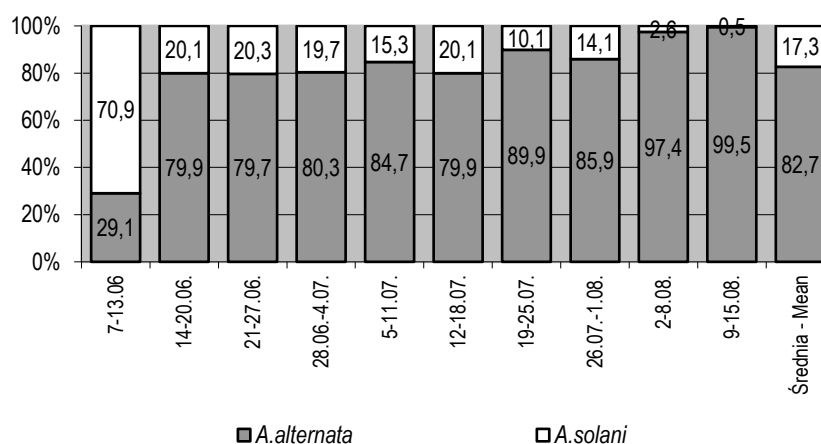
Stosunek ilościowy, w jakim występują oba gatunki jest zmienny i zależy przede wszystkim od warunków klimatycznych (Hausladen, Leiminger, 2007). W późniejszym stadium choroby, morfologiczne objawy porażenia są trudne do rozróżnienia, stąd ocenia się je łącznie jako alternariozę.

W sezonie wegetacyjnym 2006 analizowano fragmenty taśm z pułapki Burkarda, umieszczonej w Stacji Doświadczalnej Oceny Odmian w Rarwinie koło Kamienia Pomorskiego, pobieranych w ciągu 10 tygodni (od 7 czerwca do 15 sierpnia). Wśród zarodników należących do różnych grzybów, stwierdzono obecność 1782 zarodników należących do rodzaju *Alternaria*. W poszczególnych tygodniach notowano różną liczbę zarodników. Najbardziej „obfity” pojaw zarodników stwierdzono w okresie między 5 a 11 lipca (tab. 2). Zarodniki te stanowiły 28,6% wszystkich zarodników zebranych w ciągu 10 tygodni.

Tabela 2

Liczba zarodników grzybów z rodzaju *Alternaria* z pułapki Burkarda w sezonie 2006
Number of spores of the genus *Alternaria* found in the Burkard spore trap in 2006

Terminy obserwacji Time of observations	Liczba zarodników Number of spores		
	Ogółem — Total	<i>A.alternata</i>	<i>A.solani</i>
07.06.-13.06.	127	37	90
14.06.-20.06.	154	123	31
21.06.-27.06.	128	102	26
28.06.-04.07.	71	57	14
05.07.-11.07.	509	431	78
12.07.-18.07.	164	131	33
19.07.-25.07.	109	98	11
26.07.-01.08.	149	128	21
02.08.-08.08.	157	153	4
09.08.-15.08.	214	213	1
Σ	1782	1473	309



Rys. 2. Procentowy udział różnych gatunków w populacji gatunku *Alternaria* na polu ziemniaka (2006 r.)
Fig. 2. Percentage share of different species within the population of *Alternaria* in potato field (year 2006)

Wyniki analiz wykazały, że spośród 1782 zarodników 82,7% (1473 zarodniki) należało do gatunku *Alternaria alternata*, a tylko 17,3% (309 zarodników) było zarodnikami charakterystycznymi dla *Alternaria solani*.

Obserwowano także wahania sezonowe w występowaniu obu gatunków grzyba (rys. 2). Jedynie w pierwszym tygodniu obserwacji dominował gatunek *A. solani* (70,9%). W miarę upływu czasu jego udział znacznie się zmniejszył aż do 0,5% w ostatnim tygodniu zbierania zarodników (3–15 sierpnia). Te wstępne badania potwierdziły, że w sezonie wegetacyjnym gatunek *A. alternata* jest gatunkiem dominującym. Podobne fluktuacyjne nasilenie różnych gatunków z rodzaju *Alternaria* obserwowano w ostatnich latach także w Niemczech (Leiminger, Hausladen, 2007). Cytowani autorzy twierdzą ponadto, że największy „wysyp” zarodników *Alternaria* obserwowano w godzinach rannych, co nie ma wyraźnego związku z różnymi temperaturami w ciągu dnia, a natężenie poszczególnych gatunków grzyba jest różne w różnych latach.

W sezonie 2007 badania będą kontynuowane w kilku różnych miejscowościach, by wyjaśnić czy gatunek *A. alternata* dominuje także w innych rejonach Polski. Ponadto monitorowanie występowania obu gatunków zostanie wzbogacone o dane meteorologiczne by odpowiedzieć na pytanie czy dominacja któregoś z nich nie jest przypadkiem uwarunkowana rozkładem czynników klimatycznych, przede wszystkim wysokich temperatur.

WNIOSKI

1. Badania składu gatunkowego grzyba z rodzaju *Alternaria*, prowadzone w sezonie 2006 przy użyciu pułapki Burkarda wykazały jej przydatność do określania składu gatunkowego grzyba z rodzaju *Alternaria*, sprawcy alternariozy ziemniaka.
2. Wykorzystując pułapkę zarodników Burkarda stwierdzono większy udział gatunku *A. alternata* w sezonie niż *A. solani* w sezonie 2006, w rejonie Polski północnej.

LITERATURA

- Bouwmann J. J., Rijkers G. 2004. The control of *Alternaria solani* (early blight) with azoxystrobin in potatoes. Special Report no.10. Proc. 8th Workshop of an European network for development of an integrated control strategy of potato late blight. Jersey, England-France, 31st March — 4th April 2004. Eds. C. E. Westerdijk & H.T.A.M. Schepers, Applied Plant Research, Wageningen: 179 — 188.
- Dorożkin N. A., Ivanjuk V. G., Grebenščikova S. I. 1979. Vlijanie virusnoj infekcii na porazenie kartofelja rannej suchoj pjatnistost'ju (*Macrosporium solani* Ell et Mart., *Alternaria solani* Sor.). Kartoffelev. i Plodoovoščev. 4: 56 — 61.
- Fry W. E. 1994. Role of early and late blight suppression in potato pest management. In: Advances in Potato Pest Biology and Management. Zehnder G. W., Powelson M. L., Jansson R. K., Raman K. V. (eds.). The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA: 166 — 177.
- Gudmestad N. C., Pasche J. S. 2007. Role of fenamidone in the management of potato early blight — *Alternaria solani*. Euroblight Workshop, 2–5 May 2007, Bologna, Italy. Presentation: <http://www.euroblight.net>, tekst w druku.
- Hadders J. 2004. *Alternaria* control in the USA and Egypt. Proc. 8th Workshop of an European network for development of an integrated control strategy of potato late blight. Jersey, England-France, 31st March —

- 4th April 2004. Eds. C. E. Westerdijk & H. T. A. M. Schepers, Applied Plant Research Wageningen: 119 — 123.
- Hausladen H., Bässler E., Asensio N. 2004. Early blight of potato. Special Report no.10 (2004). Proc. 8th Workshop of an European network for development of an integrated control strategy of potato late blight. Jersey, England-France, 31st March — 4th April 2004. Eds. C. E. Westerdijk & H.T.A.M. Schepers, Applied Plant Research Wageningen: 173 — 177.
- Hausladen H., Schuller E. 2003. Early blight on potato — field experiments and laboratory studies in 2002. Special Report no.9 (2003). Proc.7th Workshop of an European network for development of an integrated control strategy of potato late blight. Poznań, Poland, 2–6 October 2002. Eds. Schepers H.T.A.M. & Westerdijk C.E., Applied Plant Research AGV Research Unit, Wageningen: 235 — 238
- Hooker W. J. (ed.).1980. Compendio de enfermedades de la papa. Centro Intern. de la Papa, Lima – Peru. Pp.166.
- Johnson K. B., Radcliffe E. B., Teng P. 1986. Effects of interacting populations of *Alternaria solani*, *Verticillium dahliae* and potato leaf hopper (*Empascafaba*) on potato yield. Phytopathology 76: 1046 — 1052.
- Kapsa J., Cieluch P., Kwaśniewska A. 2007. Early blight at potato crops and its control in Poland. Euroblight Workshop, 2–5 May 2007, Bologna, Italy. Presentation: <http://www.euroblight.net>, tekst w druku.
- Kapsa J., Osowski J. 2004. Occurrence of early blight (*Alternaria* spp.) at potato crops and results of its chemical control in Polish experiences. Special Report no.10 (2004). Proc. 8th Workshop of an European network for development of an integrated control strategy of potato late blight. Jersey, England-France, 31st March — 4th April 2004. Eds. C. E. Westerdijk & H.T.A.M. Schepers, Applied Plant Research Wageningen: 101 — 107.
- Kapsa J., Osowski J., Shevchuk O. 2003. Efficacy of zoxamide/mancozeb mixture against early blight (*Alternaria* spp.) and late blight (*Phytophthora infestans*) in Polish experiences. PPO-Special Report no.9 (2003). Proc. 7th Workshop of an European network for development of an integrated control strategy of potato late blight. Poznań, Poland, 2–6 October 2002. Eds. Schepers H.T.A.M. & Westerdijk C.E., Applied Plant Research AGV Research Unit, Wageningen: 85 — 94.
- Kuczyńska J. 1987. Występowanie i etiologia plamistości liści ziemniaka powodowanej przez gatunki z rodzaju *Alternaria*. Inst. Ziemn. Bonin (Rozpr. doktorska): 97 ss.
- Kuczyńska J. 1992. Rola i znaczenie grzybów z rodzaju *Alternaria* w wywoływaniu alternariozy liści i bulw ziemniaka. Biul.Inst.Ziemn. 41: 51 — 67.
- Leiminger J., Hausladen H. 2007. Early blight: influence of different varieties. Euroblight Workshop, 2–5 may 2007, Bologna, Italy. Presentation: <http://www.euroblight.net>, tekst w druku.
- Marcinkowska J. 1997. Nowe elementy w taksonomii grzybów. Mat. Z Sympozjum „Fitopatologia wczoraj, dziś i jutro”, Warszawa, 23–24 września 1997: 29 — 45.
- Nagaich B. B., Prasad B. 1971. Interaction between *Alternaria solani* and potato wiruses X and Y. Indian J. Exper. Biol. 9, 1: 88 — 90.
- Osowski J. 2006. Skuteczność wybranych fungicydów w ograniczaniu rozwoju grzybów z rodzaju *Alternaria* w badaniach laboratoryjnych. W: Nasiennictwo i Ochrona Ziemniaka. Konferencja naukowo-szkoleniowa. Kołobrzeg, 30–31 marca, IHAR ZNiOZ Bonin, Materiały: 23 — 25.
- Reinold M. 1974. Alternariozy ziemniaka. Z Prac Inst. Ziemn. 1974, 1/2, 19 — 28.
- Rotem J. 1966. Variability in *Alternaria porri* f. *solani*. Israel. J. Bot. 15: 48 — 57.
- Shtienberg D., Blachinsky D., Ben-Hador G., Dinoor A. 1996. Effects of growing season and fungicide type on the development of *Alternaria solani* and on potato yield. Plant Disease 80: 994 — 998.
- Wiik L. 2004. Potato early blight in Sweden: Results from recent field trials. Special Report no.10. Proc. 8th Workshop of an European network for development of an integrated control strategy of potato late blight. Jersey, England-France, 31st March — 4th April 2004. Eds. C. E. Westerdijk & H.T.A.M. Schepers, Applied Plant Research Wageningen: 109 — 118.
- www.spec.edu.pl.

JAN BUCZEK

EWA SZPUNAR-KROK

RENATA TOBIASZ-SALACH

DOROTA BOBRECKA-JAMRO

Katedra Produkcji Roślinnej, Wydział Biologiczno-Rolniczy
Uniwersytet Rzeszowski

Wpływ herbicydów powschodowych na zachwaszczenie i plonowanie bobiku

The effect of post-emergence herbicides on weed infestation and yielding of faba bean

W latach 2001–2003 przeprowadzono doświadczenie, którego celem było określenie wpływu efektywności stosowania herbicydów powschodowych na fitocenozę ładu i plonowanie bobiku odmiany Nadwiślański i Tim. Stwierdzono, że stosowane herbicydy spowodowały istotne zmiany w zbiorowiskach chwastów uprawianych odmian bobiku. Po ich zastosowaniu zmniejszyła się w stosunku do kontroli, liczba gatunków chwastów o 9,5–52,4%, ogólna liczba chwastów o 60,9–82,5% a także ich powietrznie sucha masa o 38,9–62,4%. Najszersze spektrum zwalczania chwastów, w tym gatunków dominujących: *Chenopodium album*, *Thlaspi arvense*, *Viola arvensis*, *Fallopia convolvulus* i *Galium aparine* w odmianie Nadwiślański i Tim wykazały Pulsar 120 SL, Basagran 600 SL oraz Sencor 70 WG, natomiast słabą skutecznością odznaczał się Butoxone M 400 SL. Najbardziej efektywnym okazał się zabieg, w którym stosowano preparat Pulsar 120 SL. Uzyskany przyrost plonu odmian Tim i Nadwiślański wynosił odpowiednio: 1,16 i 1,45 t·ha⁻¹, a najmniej skuteczny był zabieg z preparatem Butoxone M 400 SL, który powodował wzrost plonu odmian odpowiednio o: 0,39 i 0,42 t·ha⁻¹ w porównaniu z obiektem kontrolnym.

Słowa kluczowe: herbicydy powschodowe, bobik, chwasty, plon nasion

The aim of experiment conducted in the years 2001–2003 was to determine the influence of post-emergence herbicide application on phytocenosis of the protected field and yielding of faba bean cultivars Nadwiślański and Tim. The herbicides applied caused significant changes in weed communities in both faba bean cultivars. A number of weed species in treated plots was reduced by 9.5–52.4%. As compared to a control, the total number of weeds was reduced by 60.9–82.5%, and the air-dry mass by 38.9–62.4%. The most effective control of weeds, including the dominating species: *Chenopodium album*, *Thlaspi arvense*, *Viola arvensis*, *Fallopia convolvulus* and *Galium aparine*, was obtained in both cultivars using Pulsar 120 SL, Basagran 600 SL and Sencor 70 WG, whereas Butoxone M 400 SL was much less effective. The treatment with Pulsar 120 SL resulted in the increase in the yield of cvs Tim and Nadwiślański by 1.16 and 1.45 t·ha⁻¹, respectively whereas the application of Butoxone M 400 SL only raised the yield of these cultivars by 0.39 and 0.42 t·ha⁻¹, respectively.

Key words: post-emergence herbicides, faba bean, weeds, seed yield

WSTĘP

Zachwaszczenie plantacji jest jednym z głównych czynników ograniczających plonowanie. Spośród roślin uprawnych bobik odznacza się małą konkurencyjnością na zachwaszczenie, co wynika z powolnego tempa wzrostu roślin w okresie od pierwszych faz rozwojowych do zwarcia ładu. W związku z tym najbardziej skuteczną ochronę przed chwastami, stanowią zabiegi herbicydowe stosowane przed spodziewanymi wschodami bobiku (Ceglarek i in., 1995; Pawłowski i in., 1989).

Jednak w niekorzystnych warunkach pogodowych a zwłaszcza przy długotrwałej suszy w okresie wiosennym, skuteczność herbicydów doglebowych może być ograniczona. W takiej sytuacji lepsze efekty dają zabiegi wykonywane nalistnie po wschodach bobiku. Ponadto w okresie tym znany już stan zachwaszczenia, co pozwala na odpowiedni dobór herbicydów, oparty na aktualnym zagrożeniu chwastami, które dominują w ładzie (Borowiecki i in., 1997; Hruszka, 2001; Stupnicka-Rodzyńkiewicz i in., 2003; Rychcik, 2004).

Celem przeprowadzonych badań było określenie wpływu efektywności stosowania herbicydów powschodowych na fitocenozę ładu i plonowanie bobiku odmian Nadwiślański i Tim.

MATERIAŁ I METODY

Wyniki badań zebrano w ścisłym doświadczeniu polowym należącym do Stacji Doświadczalnej Uniwersytetu Rzeszowskiego, założonym w latach 2001–2003 w warunkach Pogórza Rzeszowskiego na glebie brunatnej wytworzonej z lessu, zaliczanej do klasy bonitacyjnej III a, kompleksu pszennego dobrego, o zawartości N — 0,15%, P_2O_5 — 220 $mg \cdot kg^{-1}$ gleby, K_2O — 150 $mg \cdot kg^{-1}$ gleby i $pH = 6,5$. Eksperyment założono metodą bloków losowanych, w 4 powtórzeniach, o powierzchni poletka do zbioru 15 m^2 .

Czynnikiem I rzędu były stosowane herbicydy: Pulsar 120 SL (imazamoks) — 0,3 l/ha + adiuwant 1,5 l/ha (Olbras 88 EC), Butoxone M 400 SL (MCPB) — 2,5 l/ha, Basagran 600 SL (bentazon) — w dawce dzielonej 1,2 l/ha i 0,6 l/ha (obie dawki z adiuwantem 1,5 l/ha — Olbras 88 EC), Sencor 70 WG (metrybuzyna) — 0,4 kg/ha, a czynnikiem II rzędu odmiany bobiku: Nadwiślański (typ tradycyjny) i Tim (typ samokończący).

Aplikację herbicydów w pełnych zalecanych dawkach zastosowano nalistnie po wschodach bobiku, przy użyciu opryskiwacza plecakowego z końcówką herbicydową o ciśnieniu 0,3 mPa i wydajności cieczy roboczej 300 $dm^3 \cdot h^{-1}$. Ze względu na małe zachwaszczenie bobiku taksonami jednoliściennymi zrezygnowano ze stosowania herbicydów powschodowych typowych do ich zwalczania.

W każdym roku badań przedplonem bobiku była pszenica jara, po której prowadzono typową uprawę roli oraz stosowano nawożenie zgodnie z zasadami prawidłowej agrotechniki. Bobik wysiewano na przełomie marca i kwietnia, w rozstawie rzędów 30 cm i zakładanej obsadzie 65 roślin na m^2 .

Ocenę zachwaszczenia ładu prowadzono metodą botaniczno-wagową, w ostatnim tygodniu przed zbiorem bobiku. Polegała ona na określeniu składu gatunkowego oraz liczby

i powietrznie suchej masy chwastów na dwóch losowo wybranych miejscach każdego poletka, stosując ramkę o wymiarach $0,5 \times 0,5$ m. Wyniki przeliczono na m^2 powierzchni. Skuteczność działania herbicydów na gatunki dominujące w zachwaszczeniu oceniano, wyrażając w procentach liczbę zniszczonych chwastów jednorocznych i wieloletnich w stosunku do zachwaszczenia na obiektach kontrolnych, które przyjęto za 100%.

Plon nasion bobiku określono na podstawie zbioru z poletka po przeliczeniu na 15% wilgotności. Wyniki opracowano statystycznie metodą analizy wariancji testu t-Studenta, obliczając najmniejszą istotną różnicę przy poziomie istotności = 0,05.

Okres badawczy 2001–2003 charakteryzował się zmiennym układem warunków termiczno-opadowych. Średnia dobową temperaturę powietrza, w kolejnych sezonach wegetacyjnych, kształtowała na podobnym poziomie. Wysiane w 2001 roku nasiona bobiku szybko i równomiernie kiełkowały, bowiem w kwietniu odnotowano znaczną ilość opadów. Natomiast w latach 2002 i 2003 niedobór opadów wiosennych spowodował znaczne opóźnienie wschodów bobiku. Stwierdzona w roku 2002 mniejsza ilość opadów a w roku 2003 ich niedobór utrzymujący się przez cały okres wegetacyjny spowodował jednoczesne dojrzewanie obu typów odmian (tab. 1).

Tabela 1

Warunki meteorologiczne w okresie wegetacji bobiku
Weather conditions during the vegetation of faba bean

Rok Year	Miesiąc — Month						Średnia Mean
	IV	V	VI	VII	VIII	IX	
	temperatura — temperature (°C)						
2001	8,8	14,4	15,4	20,0	19,3	12,5	15,0
2002	8,4	16,8	17,5	20,9	20,5	13,0	16,1
2003	7,4	16,4	18,1	19,5	19,7	13,7	15,8
Opady — Rainfalls (mm)							suma — sum
2001	74	50	111	98	89	130	92
2002	44	92	112	84	72	110	85
2003	51	94	66	63	17	43	68

WYNIKI I DYSKUSJA

Zbiorowisko chwastów w uprawie bobiku stanowiło łącznie 21 gatunków, w tym 18 gatunków dwuliściennych (71% gatunków należało do krótkotrwałych i 29% do wieloletnich). Ogólna liczba chwastów występująca na m^2 powierzchni była większa o 13% w łanie z odmianą Tim niż Nadwiślański. W sezonie wegetacyjnym 2001–2003 w zasiewach z odmianą Tim zanotowano na 1 m^2 260,3 sztuk chwastów, z tego 232,2 to chwasty krótkotrwałe a 27,7 to chwasty wieloletnie. Natomiast fitocenoza łąnu bobiku odmiany Nadwiślański składa się z 267,3 chwastów krótkotrwałych i 32,3 chwastów wieloletnich przy ogólnej liczbie 299,6 chwastów na m^2 (tab. 2).

Tabela 2

Liczba gatunków chwastów na m² przed zbiorem bobiku (średnie z lat 2001–2003)
Number of weed species per m² before harvest of faba bean (means for 2001–2003)

Herbicydy Herbicides	Liczba chwastów Number of weeds			Liczba gatunków chwastów Number of weed species		
	krótkotrwałe short-term	wieloletnie perennial	razem total	krótkotrwałe short-term	wieloletnie perennial	razem total
Odmiana — Cultivar — Nadwiślański						
Kontrola Control	232,6	27,7	260,3	15	6	21
Pulsar 120 SL	28,8	9,0	37,8	8	2	10
Butoxone M 400 SL	80,7	13,5	94,2	14	4	18
Basagran 600 SL	49,0	7,5	56,5	10	3	13
Sencor 70 WG	58,6	13,4	72,0	11	4	15
Odmiana — Cultivar — Tim						
Kontrola Control	267,3	32,3	299,6	15	6	21
Pulsar 120 SL	46,0	6,4	52,4	9	3	12
Butoxone M 400 SL	98,8	18,5	117,3	15	4	19
Basagran 600 SL	58,5	6,6	65,1	12	4	16
Sencor 70 WG	64,6	17,1	81,7	12	4	16

Liczba chwastów oraz gatunków występujących w odmianach bobiku uwzględnionych w omawianym doświadczeniu jest porównywalna z danymi zamieszczonymi w pracy Pawłowskiego i wsp. (1989) oraz Rychcika (2004) i większa od podawanej przez Dzieńię i Wrzezińską (2001).

Gatunkami dominującymi w zasiewach bobiku były: *Chenopodium album*, *Thlaspi arvense* i *Viola arvensis*. Wymienione gatunki oraz *Fallopia convolvulus*, *Galium aparine* i *Galeopsis terahit* występowały w przewadze na wszystkich obiektach herbicydowych obu odmian bobiku. Spośród gatunków jednoliściennych w łanie wystąpiły: *Echinochloa crus-galli*, *Poa annua* i sporadycznie *Agropyron repens*.

Po zastosowaniu herbicydów zmalała liczba gatunków chwastów o 14–52% (Nadwiślański) oraz o 9–43% (Tim). W jeszcze większym stopniu liczba chwastów na 1 m²: o 64–86% w łanie z odmianą Nadwiślański i w podobnym zakresie 61–83% w łanie z odmianą Tim.

Najszerze spektrum zwalczania chwastów w zasiewach bobiku odmian Tim i Nadwiślański wykazały preparaty Pulsar 120 SL (82,5–85,5%) i Basagran 600 SL (78,3). Skuteczność herbicydu Pulsar 120 SL w stosunku do poszczególnych gatunków dominujących w uprawie obu odmian, wahała się od 64,1–76,9% (*Viola arvensis*), 75–81,7% (*Thlaspi arvense*), 74,9–85,8% (*Fallopia convolvulus*), 80,6–83,8% (*Chenopodium album*), do 100% zniszczenia *Galeopsis terahit* i *Poa annua*. Dodatkowo w łanie bobiku odmiany Tim zanotowano całkowite zniszczenie gatunków: *Convolvulus arvensis* i *Echinochloa crus-galli*. Skuteczność Basagranu 600 SL wynosiła: 59,4–73,1% (*Viola arvensis*), 65–70,5% (*Fallopia convolvulus*), 70,8–79,7% (*Thlaspi arvensis*), 77,2–80,3% (*Chenopodium album*) i prawie 100% zniszczenia *Galeopsis terahit*. W przypadku odmiany Tim herbicyd ten prawie całkowicie zniszczył także *Cirsium arvense*.

Nieco gorsze efekty chwastobójcze w uprawie bobiku w porównaniu z Basagranem 600 SL wykazywał preparat Sencor 70 WG. Najniższą skutecznością charakteryzował się herbicyd Butoxone M 400 SL, który niszczył chwasty z odmianą Tim i Nadwiślański w granicach 60,9–63,8%. Wpływa na to miał przede wszystkim brak efektów w stosunku do gatunków dominujących: *Fallopia convolvulus*, *Galium aparine*, *Viola arvensis*, oraz *Thlaspi arvense* i *Chenopodium album* (tab. 3).

Tabela 3

Skuteczność chwastobójcza stosowanych w badaniach herbicydów (średnie z lat 2001–2003)
Efficiency of weed control by tested herbicides (means for 2001–2003)

Dominujące gatunki chwastów Dominant weed species	Odmiana Cultivar	Kontrola (szt·m ⁻²) Control (pcs·m ⁻²)	Stopień zniszczenia chwastów (%) % of weed destruction			
			Pulsar 120 SL	Butoxone M 400 SL	Basagran 600 SL	Sencor 70 WG
<i>Chenopodium album</i> L.	Nadwiślański	63,4	83,8	70,4	77,2	74,5
	Tim	68,9	80,6	68,2	80,3	76,7
<i>Thlaspi arvense</i> L.	Nadwiślański	45,2	81,7	64,0	79,7	72,8
	Tim	50,3	75,0	57,3	70,8	69,9
<i>Viola arvensis</i> MURRAY	Nadwiślański	23,4	76,9	52,1	73,1	59,8
	Tim	25,6	64,1	33,3	59,4	59,8
<i>Fallopia convolvulus</i> (L.)	Nadwiślański	18,3	85,8	44,3	70,5	62,3
	Tim	24,3	74,9	22,4	65,0	45,9
<i>Galium aparine</i> L.	Nadwiślański	18,0	82,8	55,0	76,7	48,3
	Tim	18,5	71,7	32,8	65,6	42,8
<i>Galeopsis terahit</i> L.	Nadwiślański	16,5	100,0	39,4	87,3	78,2
	Tim	20,3	99,9	45,5	99,9	74,6
<i>Stellaria media</i> (L.) VILL.	Nadwiślański	13,1	67,9	82,5	73,3	84,0
	Tim	15,2	60,3	74,8	70,2	99,9
<i>Convolvulus arvensis</i> L.	Nadwiślański	12,0	73,3	48,3	65,0	55,8
	Tim	13,3	99,9	23,3	56,7	39,2
<i>Echinochloa crus-gali</i> (L.) P. B.	Nadwiślański	10,5	78,1	40,0	46,7	37,2
	Tim	15,3	99,9	21,0	52,4	27,6
<i>Cirsium arvense</i> (L.) SCOP.	Nadwiślański	9,5	41,1	44,2	72,6	28,4
	Tim	13,2	51,6	33,7	100,0	17,9
<i>Poa annua</i> L.	Nadwiślański	5,5	100,0	36,4	36,4	61,8
	Tim	6,1	100,0	18,2	54,5	36,4
Pozostałe Others	Nadwiślański	24,9	95,9	67,5	83,7	78,9
	Tim	28,6	88,6	52,0	82,9	69,1
Razem Total	Nadwiślański	260,3	85,5	63,8	78,3	72,3
	Tim	299,6	82,5	60,9	78,3	72,7

Uzyskane wyniki znajdują potwierdzenie w badaniach Hruszki (2001), gdzie dominującymi gatunkami chwastów w bobiku były *Echinochloa crus-gali*, *Viola arvensis* i *Chenopodium album*. Stosowany nalistnie Basagran 600 SL i Fusilade Super 125 EC, ograniczyły ogólną liczbę chwastów o 63%, przy czym *Echinochloa crus-gali* o 92,2%, *Chenopodium album* o 56,7% i *Viola arvensis* o 53,8%. Według autorki lepsze efekty zwalczania chwastów w uprawie bobiku daje pielęgnacja mechaniczna. Również Stupnicka-Rodzinkiewicz i wsp. (2003) dowodzą wysokiej skuteczności stosowania herbicydów powschodowych w uprawie roślin strączkowych. Mieszanina herbicydów Pivot 100 SL i Sencor 70 WG zastosowana nalistnie w łubinie białym spowodowała

eliminację ogólnej liczby chwastów o 91% a dominującego gatunku *Chenopodium album* o 100%. Także z badań Rychcik i Zawisław (2002) wynika, że bobik uprawiany w monokulturze i płodozmianie bez ochrony herbicydowej ulega silnemu zachwaszczeniu zwłaszcza przez: *Chenopodium album*, *Fallopia convolvulus*, *Viola arvensis* oraz *Galium aparine*. Autorzy stosując herbicyd doglebowy Topogard 50 WP spowodowali redukcję liczebności chwastów w płodozmianie o 75% i w monokulturze o 60%.

Biomasa wytworzonych chwastów kształtowała się podobnie do ich liczebności i w niewielkim stopniu zależała od odmiany bobiku. Była istotnie wyższa na obiektach herbicydowych, gdzie aplikowano Pulsar 120 SL i Basagran 600 SL a niższa z Sencorem 70 WG i Butoxone M 400 SL (tab. 3). Zabiegiem najbardziej efektywnym, w którym stosowano Pulsar 120 SL ograniczono zachwaszczenie z 205,5 g·m⁻² do 77,2 g·m⁻², tj. o 62,4% w odmianie Nadwiślański i z 222,5 g·m⁻² do 79,6 g·m⁻², tj. o 64,2% łanu bobiku z odmianą Tim. W porównaniu z herbicydem najmniej skutecznym Butoxone M 400 SL zachwaszczenie ograniczono o 39% w odmianie Nadwiślański i o 40% w odmianie Tim. Ponadto biomasa chwastów była wyraźnie większa w sezonie 2001, który charakteryzował się wyższymi opadami, w porównaniu z latami 2002–2003.

Tabela 4

Wpływ herbicydów na zachwaszczenie i plonowanie bobiku
Effects of herbicides on weed infestation and faba bean yielding

Herbicyd Herbicide	Odmiana Cultivar							
	Nadwiślański				Tim			
	lata — years			średnio mean	lata — years			średnio mean
	2001	2002	2003		2001	2002	2003	
Plon nasion — Seeds yield (t·ha ⁻¹)								
Kontrola Control	2,54	2,98	2,75	2,76	2,34	2,78	2,55	2,56
Pulsar 120 SL	3,87	4,56	4,19	4,21	3,40	3,96	3,79	3,72
Butoxone M 400 SL	3,01	3,26	3,02	3,18	2,58	3,16	3,12	2,95
Basagran 600 SL	3,65	3,98	4,05	3,88	3,35	3,78	3,65	3,59
Sencor 70 WG	3,35	3,66	3,60	3,54	3,05	3,46	3,25	3,25
Średnio Mean	3,28	3,69	3,52	—	2,94	3,43	3,27	—
NIR _{0,05} LSD _{0,05}	I herbicydy — herbicides – 0,51; II odmiany; cultivars — 0,42; I × II — 0,29; II × I r.n.							
Powietrznie sucha masa chwastów — Air dry mass of weeds (g·m ⁻²)								
Kontrola Control	261,0	162,1	193,4	205,5	281,0	175,1	211,4	222,5
Pulsar 120 SL	96,2	59,1	76,2	77,2	98,3	60,3	80,3	79,6
Butoxone M 400 SL	150,2	106,3	120,1	125,5	160,1	110,5	130,2	133,6
Basagran 600 SL	98,5	65,2	85,3	83,0	97,2	96,3	89,4	85,3
Sencor 70 WG	120,1	84,3	96,2	100,2	130,1	94,2	110,1	111,5
Średnio Mean	145,2	95,4	114,2	—	153,3	107,3	124,3	—
NIR _{0,05} LSD _{0,05}	I herbicydy; herbicides – 30,1; II odmiany; cultivars — r.n.; I × II — r.n., II × I — r.n.							

Zmniejszenie liczby chwastów i ich masy po zastosowaniu herbicydów wpłynęło korzystnie na poziom plonowania obu odmian bobiku. Przyrost plonu nasion bobiku odmiany Nadwiślański na skutek zastosowania herbicydów Butoxone M 400 SL i Pulsar 120 SL wyniósł odpowiednio: 0,39 t·ha⁻¹ i 1,16 t·ha⁻¹, czyli plon zwiększyła się odpowiednio o: 13,2 i 34,5% w porównaniu z obiektem kontrolnym. Przyrost plonu nasion bobiku odmiany Tim w wyniku zastosowania herbicydów był podobny jak u odmiany Nadwiślański i wynosił po zastosowaniu Butoxone M 00 SL i Pulsar 120 SL odpowiedni: 0,42 i 1,45 t·ha⁻¹, czyli zwiększa plonu wynosiła 13,2 i 31,2% (tab. 4).

Wielkość plonu bobiku uzyskana w przeprowadzonym eksperymencie kształtowała się podobnie jak w badaniach Hruszki (2001), w których po nalistnym zastosowaniu preparatu Basagranu 600 SL poziom plonowania bobiku odmiany Nadwiślański wahał się w zakresie od 2,32 do 4,29 t·ha⁻¹. Natomiast w badaniach Podleśnego i Sowińskiego (2004) plonowanie bobiku zależało od sposobu i gęstości siewu. Bobik odmiany Nadwiślański plonował w zakresie od 2,78 do 4,50 t·ha⁻¹, a odmiany Tim mieścił się w przedziale od 2,13 do 3,29 t·ha⁻¹. Z kolei Rychcik i Zawislak (2002) podają, iż bobik odmiany Nadwiślański uprawiany w płodozmianie może plonować nawet na poziomie średnio 4,81 t·ha⁻¹, podczas gdy w monokulturze aż o ponad 40% niżej, czyli 2,82 t·ha⁻¹.

WNIOSKI

1. Stosowane herbicydy powschodowe spowodowały istotne zmiany w zbiorowiskach chwastów badanych odmian bobiku. Po ich zastosowaniu zmalała liczba gatunków chwastów o 9,5–52,4%, ogólna liczba chwastów o 60,9–82,5%, a także ich powietrznie sucha masa o 38,9–62,4%.
2. Najszersze spektrum zwalczania chwastów, w tym gatunków dominujących, takich jak: *Chenopodium album*, *Thlaspi arvense*, *Viola arvensis*, *Fallopia convolvulus* i *Galium aparine*, zarówno w łanie bobiku odmiany Nadwiślański, jak i Tim, wykazały herbicydy Pulsar 120 SL, Basagran 600 SL oraz Sencor 70 WG, natomiast słabą skutecznością odznaczał się preparat Butoxone M 400 SL.
3. Średnie plony odmian bobiku na poletkach opryskiwanych herbicydami Pulsar 120 SL i Basagran 600 SL były istotnie wyższe niż na obiektach kontrolnych, gdzie nie stosowano niszczenia chwastów.
4. Zabiegiem najbardziej efektywnym, było stosowanie preparatu Pulsar 120 SL. Uzyskano wówczas przyrost plonu bobiku odmiany Tim i Nadwiślański odpowiednio o: 1,16 i 1,45 t·ha⁻¹. Najmniej skutecznym okazał się herbicyd Butoxone M 400 SL, który spowodował przyrost plonu nasion bobiku o: 13,2% w porównaniu z obiektem kontrolnym.

LITERATURA

- Borowiecki J., Księżak J., Lenartowicz W. 1997. Wpływ gęstości siewu na plon nasion wybranych odmian bobiku uprawianego na południu kraju. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol. 446: 181 — 185.

- Ceglarek F., Bruszeńska H., Gąsiorowska B. 1995. Wpływ gęstości siewu i sposobów pielęgnacji na plonowanie bobiku w uprawie na nasiona. Zesz. Nauk. Wyższej Szkoły Rolniczo-Pedagogicznej. Seria Rolnictwo (37): 103 — 116.
- Dzienia S., Wrzesińska E. 2001. Fitocenoza ładu bobiku w warunkach zróżnicowanej uprawy roli. Post. Ochr. Roślin. 41 (1): 323 — 329.
- Hruszka M. 2001. Kształtowanie się populacji chwastów i wydajności bobiku pod wpływem proekologicznych metod regulacji zachwaszczenia. Cz. I i II. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol. 478: 173 — 186.
- Pawłowski F., Bujak K., Wesołowski. 1989. Plonowanie i zachwaszczenie kilku gatunków roślin strączkowych uprawianych na glebie lessowej w środkowej części Polski. Pam. Puł. 94: 215 — 227.
- Podleśny J., Sowiński M. 2004. Wpływ struktury przestrzennej ładu na rozwój i plonowanie bobiku. Annales UMCS, Sectio E, Vol. 59 (2): 881 — 888.
- Rychcik B. 2004. Wpływ herbicydu i następstwa roślin na zachwaszczenie bobiku. Post. Ochr. Roślin. 44 (2): 1058 — 1060.
- Rychcik B., Zawislak K. 2002. Fitosanitarne i produkcyjne efekty uprawy bobiku w płodozmianie i monokulturze. Pam. Puł. 130/II: 653 — 659.
- Stupnicka-Rodzinkiewicz E., Lepiarczyk A., Pasek T. 2003. Wpływ herbicydów powschodowych na zachwaszczenie i plonowanie łubinu białego. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol. 490: 249 — 255.

ZBIGNIEW BODZON

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Radzikowie

Wykorzystanie mutacji genowych do ulepszania produktywności nasiennej lucerny (*Medicago sativa* L.)

The usefulness of gene mutation for the improvement of seed yield productivity in alfalfa (*Medicago sativa* L.)

W doświadczeniach polowych przeprowadzono badania wpływu recesywnego genu *lp* (długie grono), wprowadzonego do odmiany Radius, oraz recesywnego genu *tf* (szczytowy kwiatostan), na produktywność nasienną lucerny. Wprowadzenie genu *lp* spowodowało zmiany pokroju kwiatostanów, w których znacznemu zwiększeniu uległa liczba zawiązywanych strąków i nasion. Nowa, syntetyczna odmiana lucerny Ulstar z długimi gronami charakteryzowała się plonem nasion większym o 15–20% w porównaniu z odmianami wzorcowymi o typowych, krótkich gronach. Dwie zmutowane rośliny wytwarzające szczytowe kwiatostany, które wyselekcjonowano z odmiany Ulstar, skrzyżowano, otrzymując kolejno mieszańce pokolenia F₁ i F₂ typu *tf*. Rośliny potomstwa F₂ wytwarzały o 60–80% więcej gron na łodygach w porównaniu z roślinami odmiany wzorcowej Ulstar, przewyższając ją także plonem nasion o 50–60%.

Słowa kluczowe: długie grono, kwiatostan szczytowy, lucerna, mutacja, plon nasion

The effects of introgression of the recessive genes *lp* (long raceme) and *tf* (top inflorescence) into alfalfa cv. Radius on seed productivity were evaluated in field experiments. Introgression of the gene *lp* resulted in the change of a type of inflorescence, significantly increasing the numbers of pods and seeds per raceme. The seed yield of a new synthetic cv. Ulstar (*lp* type) was higher by 15–20% than those of standard cultivars producing typical, short racemes. Two mutant *tf*-type plants, selected from cv. Ulstar, were intercrossed, and the F₁ and F₂ progenies containing the recessive gene *tf* were derived. In the F₂ progenies both the number of racemes per stem and the seed yield were larger than those in cv. Ulstar.

Key words: alfalfa, long raceme, mutation, seed yield, top flowering

WSTĘP

Lucerna jest gatunkiem zajmującym jedną z czołowych pozycji w światowej produkcji pasz. W ostatnich latach, również w Polsce, obserwuje się stopniowy wzrost zainteresowania uprawą tej wartościowej rośliny, będący m.in. wynikiem zastępowania w żywieniu zwierząt gospodarskich białka zwierzęcego paszami roślin wysokobiałkowych.

Zgodnie z prognozami, w najbliższych latach przewiduje się dalszy wzrost zapotrzebowania na kwalifikowany materiał siewny. Z tego też względu programy hodowlane, poza zwiększaniem poziomu odporności na choroby i czynniki stresowe oraz ulepszaniem cech jakościowych, powinny w większym niż dotychczas stopniu uwzględniać takie kierunki, jak zwiększanie plenności nasiennej oraz zapewnienie stabilności plonowania w różnych warunkach pogodowych, spełniając tym samym wysokie wymagania stawiane obecnie przed nowymi odmianami.

Prowadzone badania dowodzą, że główną przyczyną niskiej produktywności nasiennej jest złe wiązanie strąków i nasion, zwłaszcza w chłodne i deszczowe lata (Djukić i Kraljević-Balalić, 1993; Lorenzetti, 1993; Simon, 1997). Istnieje jednak możliwość zwiększenia plenności lucerny poprzez poprawę wiązania strąków i nasion metodami genetyczno-hodowlanymi (Jaranowski i Dyba, 1983; Bocsai i Pummer, 1994 i 1997). W badaniach nad uzyskaniem form lucerny charakteryzujących się wysoką produktywnością duże znaczenie ma poszukiwanie genów warunkujących cechy składowe plonu nasion, a także poszerzanie zakresu zmienności poprzez wykorzystanie mutacji (Staszewski i in., 1990 i 1992).

Spontaniczny mutant *lp* (long peduncle), został wyselekcjonowany przez Staszewskiego (1986) w linii wsobnej odmiany Vernal. Zmutowana forma odznaczała się 2–3 razy dłuższą osadką kwiatostanową, oraz 2–3 razy większą liczbą kwiatów w kwiatostanie w porównaniu z roślinami odmian wzorcowych, o krótkich gronach. Badania genetyczne dowiodły prostego sposobu dziedziczenia cechy wydłużonej osadki kwiatostanowej (Bodzon, 1998), umożliwiającego wprowadzenie warunkującego ją genu do odmiany Radius, charakteryzującej się bardzo dobrym wiązaniem strąków i nasion. Założono, że wprowadzając gen *lp* do odmiany Radius uzyska się linie hodowlane o wysokim potencjale plonowania nasiennej (Staszewski i Bodzon, 2002).

Dwie zmutowane rośliny, wytwarzające kwiatostany na wierzchołkach pędów (*tf* — top flowering), wyodrębniono w materiałach hodowlanych długogroniastej odmiany Ulstar. Wytwarzanie kwiatostanów szczytowych (cecha zdeteminowanego wzrostu) prowadzi do zakończenia fazy wzrostu, a w konsekwencji także zwiększenia równomierności zawiązywania strąków i dojrzewania nasion w obrębie całej rośliny, w porównaniu z roślinami o tradycyjnym typie wzrostu i rozwoju. Mutanty wytwarzające kwiatostany na wierzchołkach pędów obserwowano także u krótkogroniastych form lucerny (Staszewski i in., 1992 i 2001).

Celem prowadzonych badań było określenie wpływu genów *lp* i *tf* na strukturę plonu nasion oraz możliwości wykorzystania ich do zwiększenia produktywności nasiennej lucerny.

MATERIAŁ I METODY

Cecha długiej osadki kwiatostanowej

Materiał wyjściowy stanowiło 7 klonów, będących komponentami odmiany syntetycznej Radius oraz 4 linie *S*₂ mutantu, które użyto jako donor cechy wydłużenia grona i zwiększenia liczby wytwarzanych w gronie strąków. Zgodnie z metodyką opisaną przez

Staszewskiego i Bodzona (2002), stosując krzyżowania wsteczne gen *lp* wprowadzono do odmiany Radius. Przeprowadzono dwa cykle krzyżowań wstecznych uzyskując długogroniaste linie hodowlane, z których utworzono pierwszą w świecie długogroniastą odmianę syntetyczną Ulstar.

Porównania produktywności nasiennej czterech linii S_2 mutantu *lp* i odmiany Ulstar z wzorcową odmianą Radius dokonano w oddzielnych doświadczeniach polowych, oceniając długość kwiatostanów, liczbę strąków i nasion w gronie, liczbę nasion w strąku oraz masę tysiąca nasion, odpowiednio w latach 1991–1992 i 1997–1998, obejmujących pierwszy i drugi rok pełnego użytkowania roślin. Doświadczenia zakładano w układzie losowanych bloków w trzech powtórzeniach. Powierzchnia poletek wynosiła 10 m², rozstawa rzędów 0,6 m a obsada 10 roślin na m². Cechy generatywne oraz długość grona badano w oparciu o próby 30 gron zebranych z łodyg głównych 30 roślin wybranych losowo z każdego poletka. Wyniki przedstawiono jako średnie z lat prowadzonych badań, wyrażone w procentach odmiany wzorcowe Radius.

W oddzielnym doświadczeniu polowym, obejmującym trzyletni okres użytkowania (lata 1997–1999), prowadzonym w układzie losowanych bloków w czterech powtórzeniach, oceniono plon nasion polskich odmian Ulstar, Radius i Kometa oraz Barallix (Francja) i Treasure (USA). Powierzchnia poletek wynosiła 10 m². Nasiona, w ilości 400 na m², wysiano siewnikiem poletkowym Oyjord firmy Wintersteiger, stosując rozstaw rzędów 0,4 m. Zabiegi agrotechniczne wykonano według metodyki zalecanej przez COBORU (Broniarz, 1988).

Cecha zdeteminowanego wzrostu

Materiał wyjściowy stanowiły dwie zmutowane, długogroniaste rośliny wytwarzające kwiatostany na wierzchołkach pędów, wyodrębnione w liniach hodowlanych odmiany Ulstar. Rośliny te skrzyżowano otrzymując mieszańce pokolenia F_1 , a następnie krzyżując rośliny potomstw F_1 uzyskano mieszańce F_2 .

W doświadczeniu polowym, założonym metodą losowanych bloków w trzech powtórzeniach, oceniono produktywność 10 kombinacji mieszańcowych F_2 w pierwszym i w drugim roku pełnego użytkowania (lata 2005–2006). Powierzchnia poletek w doświadczeniach wynosiła 5 m², rozstawa rzędów 0,6 m, a obsada 10 roślin na m². Podstawą oceny produktywności mieszańców była analiza 9 cech obejmujących cechy o charakterze generatywnym: liczbę strąków i nasion w gronie, liczbę nasion w strąku i plon nasion z poletka, oraz cechy morfologiczne: długość grona, wysokość roślin, liczbę łodyg głównych oraz liczbę węzłów i gron na łodydze. Obiektem wzorcowym była długogroniasta odmiana Ulstar. Opisy cech przeprowadzono w oparciu o próby 30 łodyg i gron wybranych losowo z każdego poletka.

Doświadczenia polowe, będące podstawą oceny produktywności długogroniastych form lucerny oraz form o zdeteminowanym typie wzrostu, zakładano sadząc na poletkach sześciotygodniowe rośliny, pochodzące z rozsad wcześniej przygotowywanych w szklarni. Doświadczenia założono w Radzikowie na glebie bielcowej wytworzonej z glin zwałowych, zaliczanej do III klasy bonitacyjnej.

Nasiona z poszczególnych poletek zbierano jednofazowo, kombajnem poletkowym firmy Wintersteiger, zaadaptowanym do zbioru roślin drobnonasiennych. Przed zbiorem

rośliny desykowano preparatem Reglone w dawce 5 l/ha, przy czym zabieg przeprowadzano w fazie dojrzałości technicznej, gdy ok. 70–75% strąków przybrało brunatne zabarwienie.

W wyniku przeprowadzonej dwuczynnikowej analizy wariancji dla analizowanych cech generatywnych, morfologicznych i plonu nasion, z zastosowaniem testu T-Tukeya:

- w badaniach dotyczących długiej osadki kwiatostanowej porównano 5 odmian lucerny siewnej oraz zbadano ich interakcję z latami użytkowania
- w badaniach dotyczących cechy zdeterminowanego wzrostu porównano 10 mieszańców F_2 typu *tf* i odmianę wzorcową Ulstar oraz zbadano ich interakcję z latami badań

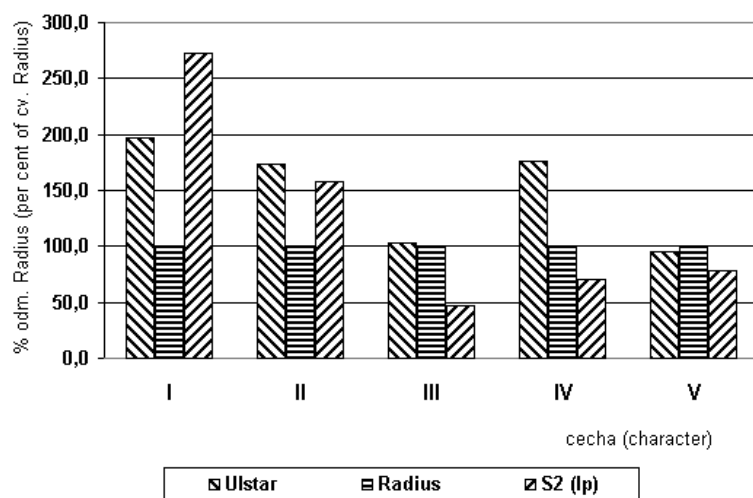
OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

Cecha długiej osadki kwiatostanowej

Cztery badane linie S_2 mutanta *lp* odznaczające się średnio ponad dwuipółkrotnie dłuższymi osadkami kwiatostanowymi wytwarzały o ok. 60% więcej strąków w porównaniu z odmianą Radius, natomiast pod względem pozostałych cech generatywnych formy krótkogroniaste przewyższały linie S_2 (rys. 1). Dwukrotnie mniejsza liczba nasion w strąkach linii S_2 zmniejszyła liczbę nasion w gronach, które ponadto były drobniejsze w porównaniu z nasionami odmiany Radius. Niska produktywność nasienna długogroniastych linii S_2 , która, jak można sądzić, była spowodowana depresją wsobną, uniemożliwiała bezpośrednie wykorzystanie potomstw mutanta jako materiału wyjściowego do tworzenia wartościowych gospodarczo odmian lucerny. Natomiast zwiększona liczba strąków wytwarzanych w owocostanach jest cechą, która może być wykorzystana w hodowli odmian o wysokim potencjale plonowania nasiennego. Prosty sposób dziedziczenia cechy długiej osadki kwiatostanowej, pozwolił na wprowadzenie genu *lp* do genotypów klonów odmiany Radius, odznaczających się bardzo dobrym wiązaniem strąków i nasion.

Wysoką produktywność nasienną odmiany Radius potwierdzają, przeprowadzone w latach 1982–1986, badania Skalskiej (1993), która stwierdzała o ok. 20–50% wyższy plon nasion tej odmiany w porównaniu z odmianami zagranicznymi i o ok. 10–30% w porównaniu z polskimi wzorcami. Podobne wyniki z doświadczeń, prowadzonych w kilku miejscowościach w latach 1993–1997, uzyskał Broniarz (1997) porównując plonowanie nasienne polskich odmian lucerny. Wprowadzenie genu *lp* do odmiany Radius umożliwiło uzyskanie linii hodowlanych charakteryzujących się wysokim potencjałem plonowania nasiennego (Staszewski i in., 2001). Z pięciu, najlepszych linii, utworzono pierwszą na świecie syntetyczną długogroniastą odmianę Ulstar (Staszewski i Bodzon, 2002).

Rośliny odmiany Ulstar, charakteryzujące się dwukrotnie dłuższymi kwiatostanami, wiązały o ok. 75% więcej strąków i nasion w gronie w porównaniu z odmianą Radius. Liczba nasion w strąku i masa tysiąca nasion tej odmiany kształtowała się na poziomie wzorca (rys. 1).



I — Długość grona — Raceme length NIR (LSD)_{0,05} = 17,1
 II — Liczba strąków w gronie — No of pods per raceme NIR (LSD)_{0,05} = 14,6
 III — Liczba nasion w strąku — No of seeds per pod NIR (LSD)_{0,05} = 10,0
 IV — Liczba nasion w gronie — No of seeds per raceme NIR (LSD)_{0,05} = 16,4
 V — Masa tysiąca nasion — Thousand seeds weight NIR (LSD)_{0,05} = 10,7

Rys. 1. Cechy generatywne linii S2 mutanta lp (średnia z 4 linii), długograniastej odmiany Ulstar i wzorcowej Radius, w procentach wzorca

Fig. 1. Generative characters of mutation S2 lines (mean for four lines), a long-raceme cv. Ulstar and standard cv. Radius in per cent of standard

Tabela 1

Plonowanie nasienne długograniastej odmiany Ulstar i odmian wzorcowych (1997–1999)
Seed yield of long-raceme cv. Ulstar and standards (1997–1999)

Odmiana Cultivar	1997		1998		1999	
	kg/ha	% odm. (cv.) Radius	kg/ha	% odm. (cv.) Radius	kg/ha	% odm. (cv.) Radius
Ulstar (PL)	433,7	123,2	381,6	120,2	361,0	116,3
Radius (PL)	352,0	100,0	317,5	100,0	310,4	100,0
Kometa (PL)	283,0	80,1	239,1	75,3	227,8	73,4
Barallix (F)	310,5	88,2	256,2	80,7	237,5	76,5
Treasure (USA)	243,2	69,1	195,9	61,7	181,3	58,4
NIR — LSD (Tukey) 0,05	48,46					
A/B *						
NIR — LSD (Tukey) 0,05	13,62					
B/A *						

*A/ B — do porównania odmian w roku użytkowania (to compare cultivars within a particular year of utilization)

*B/A — do porównania odmiany w latach użytkowania (to compare a cultivar between years of utilization)

Trzyletnie badania poziomu produktywności nasiennej dowiodły, że rośliny odmiany Ulstar przewyższały plonem nasion odmianę Radius od ok. 23% w pierwszym do ok. 16% w trzecim roku badań (tab. 1). Różnice w plonowaniu nasiennym w stosunku do

pozostałych odmian były jeszcze większe. Z roślin odmiany Kometa i nowej francuskiej odmiany Barallix, w kolejnych latach użytkowania zbierano po ok. 40%, a z amerykańskiej odmiany Treasure po ponad 50% mniej nasion w porównaniu z długogroniastą odmianą Ulstar.

Porównanie poziomu produktywności nasiennej badanych odmian lucerny wykazało, że w kolejnych latach użytkowania plon nasion zmniejszał się. Obserwowane obniżenie produktywności roślin może być związane z przebiegiem warunków pogodowych występujących w kolejnych latach użytkowania, a także może wiązać się z naturalnym fizjologicznym procesem starzenia się roślin i obniżania się ich plenności wraz z wiekiem.

Cecha zdeteterminowanego wzrostu (samokończenia) roślin

W doświadczeniu polowym oceniono 10 mieszańców F_2 otrzymanych w wyniku krzyżowania roślin pokolenia F_1 o zdeteterminowanym typie wzrostu. Badania produktywności nasiennej przeprowadzono w pierwszym i w drugim roku pełnego użytkowania. W obu latach badań, pod względem ocenianych cech morfologicznych tj. długość kwiatostanów, wysokość roślin, liczba łodyg głównych i liczba węzłów na łodygach, rośliny samokończące na ogół nie różniły się od roślin wzorcowych (tab. 2). Wyjątek stanowiły dwie kombinacje mieszańcowe, $tf\ 7 \times tf\ 6$ i $tf\ 8 \times tf\ 10$, które zarówno w pierwszym, jak i w drugim roku pełnego użytkowania wytwarzały więcej węzłów na pędach w porównaniu z roślinami odmiany Ulstar. W drugim roku badań rośliny większości ocenianych mieszańców F_2 oraz odmiany wzorcowej odznaczały się większą wysokością i liczbą węzłów na łodygach, a także wytwarzały dłuższe kwiatostany, natomiast liczba łodyg była mniejsza w porównaniu z pierwszym rokiem badań. Rośliny o zdeteterminowanym typie wzrostu wytwarzały o ok. 80% więcej gron na łodygach w pierwszym i o ok. 60% w drugim roku badań w porównaniu z roślinami odmiany Ulstar. Zarówno rośliny samokończące, jak i wzorcowe tworzyły więcej gron w drugim roku pełnego ich użytkowania.

Samokończące formy lucerny charakteryzowały się dobrym osadzaniem strąków i nasion. Pod względem liczby strąków i nasion w gronie oraz liczby nasion zawiązywanych w strąku, w obu latach badań nie różniły się od roślin wzorcowych (tab. 3). Dobre wiązanie strąków i nasion a także większa liczba wytwarzanych gron zdecydowały o plonie nasion roślin samokończących, które pod względem tej cechy przewyższyły odmianę Ulstar o 57% w pierwszym i o 49% w drugim roku użytkowania. Zarówno samokończące formy lucerny, jak i rośliny wzorcowe odznaczały się wyższym poziomem wiązania strąków i nasion a także wyższym plonem zebranych nasion w drugim roku prowadzonych badań. Obserwowane różnice w wartości badanych cech morfologicznych i generatywnych w latach użytkowania, jak można sadzić, mogą mieć związek z przebiegiem warunków pogodowych panujących w okresie wegetacyjnym.

Przeprowadzone badania udowodniły przydatność genów *lp* i *tf* do kreowania dalszego postępu w plonowaniu nasiennym lucerny. Na podstawie oddzielnych badań, prowadzonych w populacji roślin długogroniastych, stwierdzono wysoką korelację liczby strąków w gronie oraz liczby nasion w strąku z plonem nasion, wynoszącą odpowiednio 0,69–0,74 i 0,76–0,84 (Bodzon, 2004). Podobne wyniki uzyskali m.in. Bocsai i Pummer (1994) i Huyghe i wsp. (1998 i 1999) w badaniach prowadzonych nad różnymi odmianami

lucerny o typowych, krótkich gronach. Biorąc pod uwagę te zależności, wprowadzenie genu *lp* do odmiany Radius umożliwiło uzyskanie form lucerny charakteryzujących się wyższym poziomem obu tych cech w porównaniu z wzorcami, a zatem także wyższą produktywnością nasienną. Wysoką produktywność nasienną długogroniastych form lucerny, otrzymanych przy użyciu genu *lp*, potwierdził także w swoich badaniach Użik (1997).

Tabela 2

Cechy morfologiczne mieszańców F₂ otrzymanych ze skrzyżowania mieszańców F₁ typu *tf* (mieszańce F₁ otrzymano krzyżując dwie zmutowane rośliny typu *tf*). Radzików (2005–2006)
Morphological characters of F₂ hybrids obtained by intercrossing F₁ *tf*- type hybrids (F₁ hybrids were obtained by intercrossing two mutant *tf*- type plants). Radzików (2005–2006)

Mieszaniec Hybrid	Długość grona Raceme length (cm)	Wysokość roślin Plant height (cm)	Liczba łodyg głównych No. of main stem per plant	Liczba węzłów na łodydze głównej No. of nodes per main stem	Liczba gron na łodydze No. of racemes per stem
2005					
tf 1 × tf 3	10,3	120,9	24,2	23,4	72,9
tf 2 × tf 4	10,0	123,9	23,2	26,7	80,5
tf 3 × tf 13	12,5	124,4	24,0	29,1	65,7
tf 4 × tf 7	11,0	124,7	24,1	25,9	67,1
tf 6 × tf 8	9,7	122,3	22,6	25,1	75,6
tf 7 × tf 6	10,4	123,3	23,0	31,4	76,8
tf 8 × tf 10	12,9	128,9	24,0	31,1	72,5
tf 9 × tf 11	10,6	131,3	23,5	31,9	65,4
tf 12 × tf 14	12,8	114,7	22,6	26,5	94,4
tf 14 × tf 5	11,5	124,1	23,9	28,0	65,3
Średnia Mean	11,2	123,9	23,5	27,9	73,6
Ulstar (cv.)	10,9	124,9	23,3	26,1	40,2
2006					
tf 1 × tf 3	11,0	127,3	21,2	24,6	79,5
tf 2 × tf 4	10,6	129,5	21,4	25,7	86,3
tf 3 × tf 13	11,9	129,2	22,2	30,5	69,9
tf 4 × tf 7	11,6	129,3	22,1	26,7	73,3
tf 6 × tf 8	10,3	128,5	21,8	23,9	69,2
tf 7 × tf 6	11,0	128,5	22,7	32,8	82,4
tf 8 × tf 10	12,4	135,7	21,9	32,1	78,7
tf 9 × tf 11	11,5	136,7	21,9	30,8	71,8
tf 12 × tf 14	12,1	119,9	22,0	27,7	101,2
tf 14 × tf 5	12,4	129,8	23,3	26,6	59,7
Średnia Mean	11,5	129,5	22,1	28,1	77,2
Ulstar (cv.)	11,7	131,5	21,8	27,8	46,9
NIR — LSD _{(Tukey)0,05} A/B*	1,62	16,63	2,61	3,84	10,20
NIR — LSD _{(Tukey)0,05} B/A*	0,51	5,39	0,68	1,07	3,14

*A/ B — Do porównania odmian w roku użytkowania — To compare cultivars within a particular year of utilization

*B/A — Do porównania odmiany w latach użytkowania — To compare a cultivar between years of utilization

W przypadku mutantów tworzących kwiatostany szczytowe, niski, jak można sadzić, stopień ich spokrewnienia i brak obserwowanych efektów depresji wsobnej u mieszańców pokolenia F₁ i F₂, umożliwił zastosowanie klasycznej metody krzyżowania. Uzyskane samokończące formy lucerny charakteryzujące się dobrym wiązaniem strąków i nasion oraz większą liczbą gron wytwarzanych na łodygach, odznaczały się wyższym poziomem plonowania nasiennego w porównaniu z wzorcami o tradycyjnym typie wzrostu i rozwoju. Badania dotyczące możliwości wykorzystania form samokończących do zwiększenia produktywności nasiennej lucerny są kontynuowane.

Tabela 3

Cechy generatywne mieszańców F₂ otrzymanych ze skrzyżowania mieszańców F₁ typu *tf* (mieszańce F₁ otrzymano krzyżując dwie zmutowane rośliny typu *tf*). Radzików (2005–2006)
Generative characters of F₂ hybrids obtained by intercrossing F₁ *tf*- type hybrids (F₁ hybrids were obtained by intercrossing two mutant *tf*- type plants). Radzików (2005–2006)

Mieszaniec Hybrid	Liczba strąków w gronie No. of pods per raceme	Liczba nasion w gronie No. of seeds per raceme	Liczba nasion w strąku No. of seeds per pod	Plon nasion z poletka Seed yield per plot (g)
2005				
tf 1 × tf 3	24,6	80,4	3,3	129,7
tf 2 × tf 4	22,4	73,1	3,2	136,8
tf 3 × tf 13	30,1	88,6	2,9	125,1
tf 4 × tf 7	25,9	92,2	3,6	134,4
tf 6 × tf 8	19,9	69,2	3,5	121,2
tf 7 × tf 6	21,3	67,9	3,2	115,7
tf 8 × tf 10	24,1	80,5	3,3	130,2
tf 9 × tf 11	21,5	89,3	4,2	125,2
tf 12 × tf 14	23,2	80,8	3,5	165,9
tf 14 × tf 5	27,1	109,6	4,0	138,1
Średnia Mean	24,0	83,2	3,5	132,2
Ulstar (cv.)	25,3	90,6	3,6	84,1
2006				
tf 1 × tf 3	27,6	101,0	3,7	146,3
tf 2 × tf 4	25,3	97,5	3,8	151,6
tf 3 × tf 13	32,9	108,9	3,3	138,7
tf 4 × tf 7	29,1	115,0	4,0	150,8
tf 6 × tf 8	22,7	83,5	3,7	136,4
tf 7 × tf 6	24,3	92,1	3,8	133,1
tf 8 × tf 10	26,8	100,6	3,7	143,9
tf 9 × tf 11	24,3	115,9	4,8	139,8
tf 12 × tf 14	25,7	99,5	3,9	182,5
tf 14 × tf 5	30,5	135,2	4,4	152,3
Średnia Mean	26,9	104,9	3,9	147,5
Ulstar (cv.)	27,7	110,1	4,0	98,5
NIR — LSD _{(Tukey)0,05} A/B*	3,84	12,70	0,41	23,51
NIR — LSD _{(Tukey)0,05} B/A*	1,05	4,36	0,15	7,54

*A/ B — Do porównania odmian w roku użytkowania — To compare cultivars within a particular year of utilization

*B/A — Do porównania odmiany w latach użytkowania — To compare a cultivar between years of utilization

Zgodnie z nie publikowanymi dotychczas wynikami badań prowadzonych przez autora, również cecha samokończenia u lucerny warunkowana jest jednym genem w układzie czterech alleli recesywnych *tf tf tf tf*. Badania prowadzone przez wielu autorów dowodzą, że cechy warunkowane przez pojedyncze geny, dziedziczące się w prosty sposób, są najbardziej przydatne w hodowli lucerny (Hill i in., 1988; Staszewski i in., 1990 i 1992; Rumbaugh i in., 1988). Metoda krzyżowania wstecznego, wykorzystana w badaniach nad zwiększeniem produktywności nasiennej, może być stosowana do większości cech morfologicznych a także dziedziczących się w prosty sposób cech ilościowych takich jak wczesność, wysokość roślin, kształt i wielkość nasion (Allard, 1968).

WNIOSKI

1. Wykorzystywanie w hodowli lucerny genów zmieniających zarówno morfologię roślin, jak i organów generatywnych umożliwia uzyskanie istotnej poprawy plonowania nasiennego. Pod tym względem korzystnym wydaje się także poszerzanie zakresu zmienności poprzez wykorzystywanie, poza zmiennością rekombinacyjną, również zmienności mutacyjnej.
2. Wprowadzając gen *lp*, warunkujący cechę długiego grona, do odmiany Radius, charakteryzującej się bardzo dobrym wiązaniem strąków i nasion, otrzymano nowe formy lucerny odznaczające się zwiększonym potencjałem plonowania nasiennego.
3. Wykorzystanie genu *tf*, warunkującego tworzenie na wierzchołkach pędów kwiatostanów szczytowych, umożliwiło otrzymanie samokończących form lucerny charakteryzujących się wysokim poziomem plonowania nasiennego.

LITERATURA

- Allard R. W. 1968. Krzyżowanie wsteczne w: Podstawy hodowli. PWRiL, Warszawa: 160 — 175.
- Bocsa I., Pummer L. 1994. Eleven year selection for seed productivity improvement of lucerne. Rep. of the XXXIVth Alfalfa Improvement Conference. Guelph: 95.
- Bocsa I., Pummer L. 1997. Seed production and breeding for stability of fertility. Proc. of the XIIth Eucarpia Meeting of the Group *Medicago*. Brno: 87 — 93.
- Bodzon Z. 1998. Inheritance of spontaneous long peduncle mutation in alfalfa (*Medicago sativa* L.) Plant Breed. and Seed Sci. 42/1: 3 — 9.
- Bodzon Z. 2004. Correlations and heritability of the characters determining the seed yield of the long raceme alfalfa (*Medicago sativa* L.). J. Appl. Gen. Vol. 45 (1): 49 — 59.
- Broniarz J. 1988. Metodyka badania wartości gospodarczej odmian (WGO) roślin uprawnych. Rośliny rolnicze. Motylkowate drobnonasienne. Wyd. I, COBORU, Słupia Wielka.
- Broniarz J. 1997. Syntezy wyników doświadczeń odmianowych. Motylkowate drobnonasienne. COBORU, Słupia Wielka, z. 1114: 27 — 40.
- Djukić D., Kraljević-Balalić M. 1993. Variability of seed yield components of random pollinated alfalfa. Proc. of the Xth Eucarpia Conference, Medicago Group. Lodi: 422 — 428.
- Hill R. R. Jr., Shenk J. S., Barnes R. F. 1988. Breeding for yield and quality in Monog. 29: Alfalfa and alfalfa improvement (Hanson A. A., Barnes D. K., Hill R. R. Jr. — eds.), Am. Soc. Agron.: 809 — 825.
- Huyghe C., Bolaños-Aguilar E. D., Ecalle C., Julier B. 1998. Distribution of the seed in an alfalfa canopy. Rep. of the XXXVIth Alfalfa Improvement Conference. Bozeman: 57.

- Huyghe C., Bolaños-Aguilar E. D., Ecalle C., Hacquet J., Julier B. 1999. The seed weight per inflorescence as a selection criterion for seed yield in alfalfa. Proc. of the XIIIth Eucarpia Medicago Group Meeting: 65 — 70.
- Jaranowski J., Dyba S. 1983. Genetyczno-hodowlane możliwości poprawiania plonowania nasion lucerny mieszańcowej. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol. 253: 25 — 33.
- Lorenzetti F. 1993. Achieving potential herbage seed yield in species of temperate regions. Proc. of XVIIth Grassland Congress: 1621 — 1628.
- Rumbaugh M. D., Caddel J. L., Rowe D. E. 1988. Breeding and quantitative genetics in Monog. 29 Alfalfa and alfalfa improvement (Hanson A. A., Barnes D. K., Hill R. R. Jr. (eds.), Am. Soc. Agron.: 777 — 808.
- Simon U. 1997. Environmental effects on seed production in lucerne. Proc. of the XIIth Eucarpia Meeting of the Group Medicago, July 2–5 1996, Brno, Czech Republic: 123 — 134.
- Skalska M. 1993. Plonowanie odmian lucerny siewnej i mieszańcowej w uprawie na nasiona. Biul. IHAR 186: 103 — 111.
- Staszewski Z. 1986. Long peduncle *lp* mutation — a promise for seed yield improvement of alfalfa. Rep. of the XXXth North American Alfalfa Improvement Conference. University of Minnesota: 75
- Staszewski Z., Bodzon Z. 2002. Przydatność genu *lp* do zwiększenia plonowania nasiennego lucerny siewnej (*Medicago sativa* L.). Biul. IHAR 221: 167 — 173.
- Staszewski Z., Bodzon Z., Staszewski L. 2001. Influence of some recessive genes on plant and inflorescence characteristics in alfalfa. Plant Breed. Seed Sci. 45/1: 43 — 53.
- Staszewski Z., Jagodziński J., Jakubowska B., Osiński R. 1990. Lucerne mutations useable for increasing seed yields. Proc. of Meeting Fodder Crops Section of Eucarpia. Wageningen: 18 — 19.
- Staszewski Z., Staszewski L., Osiński R. 1992. Top flowering — spontaneous mutation of *Medicago sativa* L. The future of lucerne. Proc. of the Xth Eucarpia Meeting of the Group Medicago. Lodi.: 392 — 395.
- Užik M. 1997. Perspective of alfalfa selection for raceme length and seed yield. Proc. of the XIIth Eucarpia Meeting of the Group Medicago, Brno: 71 — 73.

KRZYSZTOF KLIMONTInstytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin Radzików
Krajowe Centrum Roślinnych Zasobów Genowych

Przydatność wybranych gatunków roślin miododajnych do rekultywacji osadników wapna poflotacyjnego wzbogaconego osadami ścieków komunalnych

The application of some species of honey plants in reclamation of tanks of flotation lime enriched with municipal sewage

W latach 2004–2006 badano przydatność wybranych gatunków roślin miododajnych do rekultywacji wapna poflotacyjnego wzbogaconego osadami ściekowymi na poeksploatacyjnym terenie Kopalni Siarki „Jeziorko”. Wapno poflotacyjne nawieziono osadami ścieków komunalnych w dawce 500 m³/ha. Corocznie wiosną stosowano również nawożenie mineralne w ilości 70 kg N, 75 kg P₂O₅ i 100 kg K₂O na 1 ha. Oceniano 45 gatunków roślin miododajnych jednorocznych, dwuletnich i wieloletnich. Badano wschody polowe, fazy rozwojowe oraz przydatność wybranych gatunków roślin miododajnych do rekultywacji wapna poflotacyjnego, poprzez ocenę ich bujności w 10-stopniowej skali. Stwierdzono, że najlepiej wschodziły nasiona ogórecznika lekarskiego, przegorzanu węgierskiego, pospolitego i ruskiego oraz serdecznika syberyjskiego i pospolitego, a także obydwu form nostrzyka białego- jednorocznego i dwuletniego, bazylii pachnącej, pszczelnika mołdawskiego, facelii błękitnej, gryki zwyczajnej i ostropestu plamistego, słabiej kłosowca pomarszczonego, fenkułowego i olbrzymiego, chabru nadreńskiego i marzymięty grzebieniastej, a najslabiej groszku leśnego, niecierpka Roylego i ślázowca pensylwańskiego. Z badanych roślin miododajnych najbardziej przydatne do rekultywacji, wśród jednorocznych okazały się: nostrzyk biały, ogórecznik lekarski, gryka zwyczajna, bazylia pachnąca, a najmniej niecierpek Roylego. Z dwuletnich: nostrzyk biały, urzetz barwierski, chaber nadreński i wiesiołek dwuletni. Wśród wieloletnich, największą bujnością na tym podłożu cechowały się: nawłóć późna i kanadyjska oraz mikołajek płaskolistny, a nieco mniejszą ślázówka turyngska, farbownik lekarski i kłosowiec fenkułowy, a najslabszą groszek leśny. Stwierdzono korzystny wpływ roślin miododajnych na kształtowanie się chemicznych właściwości wapna poflotacyjnego.

Słowa kluczowe: ścieki komunalne, rekultywacja, rośliny miododajne, tereny zdewastowane, wapno poflotacyjne

In the years 2004–2006 a suitability of some species of honey plants for reclamation of the soil-less ground of flotation lime enriched with sludge in the post-exploitation area of the Jeziorko Sulphur Mine was evaluated. The flotation lime was fertilized with sediments of municipal wastes at a dose of 500 m³/ha. Every year, in spring, mineral fertilization (70 kg N, 75 kg P₂O₅ and 100 kg K₂O per 1 ha) was

also applied. Forty-five species of annual, biennial or perennial honey plants were tested. Field germination, development phases and usability of the plants in reclamation of flotation lime were evaluated in a 9-grade scale used to assess plant luxuriance. The best germination was found with *Borago officinalis*, *Echinops commutatus*, *E. ritro*, *E. ruthenicus*, *Leonurus sibiricus*, *L. cardiaca* as well as with both forms (annual and biennial) of *Melilotus albus*, *Ocimum basilicum*, *Dracocephalum moldavicum*, *Phacelia tanacetifolia*, *Fagopyrum esculentum* and *Silybum marianum*. The germination of *Agastache rugosa*, *A. anethiodora*, *A. nepetoides*, *Centaurea rhenana* and *Elsholtzia cristata* was weaker. *Lathyrus silvester*, *Impatiens glandulifera* and *Sida hermaphroditis* showed the weakest germination of all the tested species. Among the annual honey plants the most usable in land reclamation turned out *M. albus*, *B. officinalis*, *F. esculentum* and *O. basilicum*, whereas *I. glandulifera* was the least useful. Among the biennial forms *M. albus*, *Isatis tinctoria*, *C. rhenana* and *Oenothera biennis* were found suitable. From the perennial plants the most luxuriant on this ground appeared *Solidago serotina*, *S. canadensis* and *Eryngium planum*, while such plants as *Lavatera thuringiaca*, *Anchusa officinalis* and *Agastache anethiodora* showed lower vigour. *Lathyrus silvester* was found to be the least exuberant among the evaluated plants. The positive effects of honey plants upon the formation of chemical properties of flotation lime were observed.

Key words: devastated areas, land reclamation, flotation lime, honey plants, municipal sewage

WSTĘP

Grunty zdewastowane gospodarką człowieka zajmują coraz większą powierzchnię kraju. Kalinowska (1994) podaje, że powierzchnia gruntów zdegradowanych przekracza nawet 10% powierzchni kraju. Grunty te wymagają rekultywacji, której celem jest wznowienie procesów glebotwórczych i inicjacja życia biologicznego w podłożu oraz odtworzenie szaty roślinnej (Góral, 2001). Gatunki roślin przydatnych do rekultywacji gruntów bezglebowych powinny spełniać warunki, umożliwiające ich uprawę na utworach bardzo zróżnicowanych pod względem uwilgotnienia, kwasowości, zwięzłości podłoża, zasobności w składniki pokarmowe oraz zawartości substancji szkodliwych.

Uzyskiwanie siarki metodą otworową w okolicach Tarnobrzega przyczyniło się do dewastacji dużych obszarów gruntów użytkowanych uprzednio rolniczo (Siuta, 2001). Na terenie Kopalni Siarki „Jeziorko” pH gleby osiągnęło około 4,0 lub było poniżej tej wartości (Motowicka-Terelak, Dudka, 1991). Rekultywacja gruntów po eksploatacji siarki metodą podziemnego wytopu polega na neutralizacji ich kwasowości poprzez wapnowanie, a następnie użyźnianie i wprowadzanie odpowiednich roślin. Wapno poflotacyjne (szlamy poflotacyjne) będące odpadem powstającym w procesie uzdatniania rudy siarkowej wydobywanej metodą odkrywkową wykorzystywane do odkwaszania terenów poeksploatacyjnych siarki wydobywanej metodą otworową jest biologicznie martwe.

Aby zainicjować procesy glebotwórcze w wapnie poflotacyjnym rozpoczęto jego rekultywację użyźniając go osadami ścieków komunalnych (Siuta, Jońca, 1997; Jońca, 2000). Wyniki badań prowadzonych przez Siutę i wsp. (1996) oraz Klimonta i Górala (2001) wykazały, że wybrane gatunki traw, roślin motylkowych i topinamburu należą do najbardziej przydatnych do rekultywacji wapna poflotacyjnego. Jabłoński (2000) mówi o celowości zakładania tzw. pastwisk pszczelich poprzez wysiewanie na gruntach odłogujących i ugorujących wieloletnich gatunków roślin nektarodajnych i pyłkodajnych, które dają „pożytki pszczele”. Pożytkami pszczelimi nazywamy zasób występujących

w przyrodzie surowców pochodzenia roślinnego służących pszczołom jako pokarm. Do surowców tych należy pyłek kwiatowy, pełnowartościowy pokarm kwiatowy dla pszczół oraz nektar i spadź. Rośliny dostarczające pszczołom wymienionych surowców nazywamy miododajnymi. Na pastwiska pszczele z bylin nadają się: nawłóć późna, przegorzan węgierski, ślázówka turyngska, kłosowiec fenkułowy i koniczyna biała. Natomiast nostrzyk biały (forma dwuletnia) z powodzeniem może być wykorzystany na stanowiskach piaszczystych i żwirowatych odłogów oraz na składowiskach popiołów paleniskowych i zwalówiskach przy kopalniach odkrywkowych ze względu na głęboki palowy system korzeniowy i fakt, że jako roślina motylkowata współżyje z bakteriami brodawkowymi (*Rhizobium meliloti*), korzystając z wolnego azotu atmosferycznego. W innych badaniach Kołtowski i Jabłoński (2001) wymieniają spośród roślin miododajnych 12 gatunków bylin, 4 gatunki dwuletnie i 1 roczny przydatne na słabe gleby piaszczyste utrzymywane bez pielęgnacji.

Rekultywacja wapna poflotacyjnego polegała na wymieszaniu wierzchniej warstwy podłoża z osadami ścieków komunalnych, a następnie wprowadzeniu wybranych gatunków roślin miododajnych. Metoda ta wydaje się być racjonalna, ponieważ pozwala na utylizację jednocześnie odpadów przemysłowych i bytowych oraz odtworzenie szaty roślinnej w postaci roślin miododajnych, które stanowią jednocześnie pożytek dla pszczół.

Celem badań była selekcja odpowiednich gatunków roślin miododajnych przydatnych do rekultywacji wapna poflotacyjnego oraz próba określenia ich glebotwórczego oddziaływania na podłoże.

MATERIAŁ I METODY

Badania prowadzono na terenie poeksploatacyjnym Kopalni Siarki „Jezioro” koło Tarnobrzega pokrytym wapnem poflotacyjnym. Według danych literaturowych (Gołda, 1993) wapno poflotacyjne, można uznać za glinę lekką pylastą, zawierającą następujące ilości frakcji:

- piasek (1,0–0,1 mm)–35%,
- pył (0,1–0,02 mm)–29%,
- cząstki spławiane <0,02 mm–36%, przy zawartości 6% iłu koloidalnego (<0,002 mm).

Wiosną 2002 roku wapno poflotacyjne nawieziono osadami ścieków komunalnych w ilości 500 m³/ha i dokładnie z nim wymieszano. Następnie zastosowano nawożenie mineralne w ilości 70 kg N/ha, 75 kg P₂O₅/ha i 100 K₂O/ha. Nawozy mineralne w formie saletry amonowej oraz polifoski stosowano corocznie wiosną. Na przygotowanym podłożu wysiano nasiona 19 gatunków roślin miododajnych, które uzupełniono 6 gatunkami w roku następnym, tj. 2003.

W prezentowanej pracy przedstawiono wyniki 3 letnich obserwacji prowadzonych w latach 2004–2006, dokonanych na 45 wybranych gatunkach roślin miododajnych jednorocznych 2-letnich i wieloletnich pod względem ich przydatności do rekultywacji bezglebowego podłoża wapna poflotacyjnego wzbogaconego osadami ściekowymi. Są one kontynuacją badań rozpoczętych w 2002 roku, a ich wyniki za lata 2002–2003 (25 gatunków roślin) wykorzystano w dyskusji niniejszej pracy.

Doświadczenie prowadzono przez trzy lata z następującymi gatunkami roślin miododajnych:

Bazylika pachnąca — <i>Ocimum basilicum</i> L.	Facelia błękitna — <i>Phacelia tanacetifolia</i> Benth.
Gryka zwyczajna — <i>Fagopyrum esculentum</i> Moench.	Koniczyna krwistoczerwona — <i>Trifolium incarnatum</i> L.
Marzymięta grzebieniasta — <i>Esslholtzia cristata</i> Willd.	Niecierpek Roylego- <i>Impatiens glandulifera</i> Royle
Nostrzyk biały — <i>Melilotus albus</i> Med. (forma jednoroczna)	Ogórecznik lekarski — <i>Borago officinalis</i> L.
Ostropest plamisty — <i>Silybum marianum</i> (L.) Gaertn.	Pszczelnik mołdawski — <i>Dracocephalum moldavicum</i> L.
Rukiew siewna — <i>Eruca sativa</i> DC.	Śluz mauretański — <i>Malva mauritiana</i> L.
Śluzówka ogrodowa — <i>Lavatera trimestris</i> L.	Zmijowiec grecki — <i>Echium creticum</i> S.S.
Arcydzięgiel litwor — <i>Arhangelica officinalis</i> Hoffm.	Chaber nadreński — <i>Centurea rhenana</i> Bor.
Nostrzyk biały — <i>Melilotus albus</i> Med. (forma 2-letnia)	Ostrzeń pospolity — <i>Cynoglossum officinale</i> L.
Przegorzan kulisty — <i>Echinops sphaerocephalus</i> L.	Serdecznik syberyjski — <i>Leonurus sibiricus</i> L.
Szczęć sukiennicza — <i>Dipsacus fullonum</i> L.	Urzet barwierski — <i>Isatis tinctoria</i> L.
Wiesiołek dwuletni — <i>Oenothera biennis</i> L.	Chaber driakiewnik — <i>Centauera scabiosa</i> L.
Czosnek cuchnący — <i>Allium odorum</i> L.	Dzięgiel leśny — <i>Angelica silvestris</i> L.
Farbownik lekarski — <i>Achusa officinalis</i> L.	Groszek leśny — <i>Lathyrus silvester</i> L.
Kłosowiec fenkułowy — <i>Agastache anethiodora</i> (Pursh.) Kuntze	Kłosowiec olbrzymi — <i>Agastache nepetoides</i> (L.) Kuntze
Kłosowiec pomarszczony — <i>Agastache rugosa</i> Kuntze	Kocimietka właściwa — <i>Nepeta cataria</i> L.v.citriodoris Dum.
Kocimietka naga — <i>Nepeta nuda</i> L.	Mikołajek płaskolistny — <i>Eryngium planum</i> L.
Nawłóć kanadyjska — <i>Solidago canadensis</i> L.	Nawłóć późna — <i>Solidago serotina</i> Ait.
Przegorzan pospolity — <i>Echinops ritro</i> L.	Przegorzan ruski — <i>Echinops ruthenicus</i> Bieb.
Przegorzan węgierski — <i>Echinops commutatus</i> Juratz.	Ruta ogrodowa — <i>Ruta graveolens</i> L.
Serdecznik pospolity — <i>Leonurus cardiaca</i> L.	Szałwia okrągowa — <i>Salvia verticillata</i> L.

Ślázowiec pensylwański — *Sida*. Ślázówka turyngska — *Lavatera thuringiaca* L.
hermaphroditis Rusby (sadzunki)

Hyzop lekarski — *Hyssopus officinalis* L.

Aby corocznie mogły być oceniane te same gatunki roślin miododajnych (45 gatunków), każdego roku wiosną wysiewano nasiona gatunków roślin jednorocznych i dwuletnich oraz wieloletnich, które wypadły z poletek badawczych. Nasiona badanych roślin wysiewano ręcznie w rzędy w drugiej lub trzeciej dekadzie kwietnia w zależności od warunków pogodowych. Oceniano wschody polowe, fazy rozwojowe roślin, przydatność badanych gatunków roślin do rekultywacji wapna, poprzez ocenę ich bujności w skali 10-stopniowej, a także ich glebotwórcze oddziaływanie na wapno, poprzez oznaczenie zawartości materii organicznej oraz składników pokarmowych: P_2O_5 , K_2O i Mg w wierzchniej warstwie wapna.

Przebieg pogody w czasie prowadzenia eksperymentu był zróżnicowany (tab. 1).

Tabela 1

Suma opadów miesięcznych oraz średnia miesięczna temperatura powietrza w latach 2004–2006
Monthly rainfall and mean air temperature in the years 2004–2006

Miesiąc Month	Lata — Years					
	2004		2005		2006	
	suma opadów rainfall (mm)	temperatura temperature (°C)	suma opadów rainfall (mm)	temperatura temperature (°C)	suma opadów rainfall (mm)	temperatura temperature (°C)
Styczeń January	27,6	-5,1	35,5	-0,2	26,5	-7,8
Luty February	44,0	-0,5	19,9	-3,6	26,6	-3,5
Marzec March	27,2	3,4	20,5	0,3	61,8	-0,4
Kwiecień April	35,5	9,0	17,3	9,4	44,3	9,5
Maj May	52,3	12,3	51,9	14,0	70,8	13,8
Czerwiec June	60,8	16,3	32,6	16,4	62,1	17,5
Lipiec July	90,2	18,3	61,1	20,2	15,1	22,3
Sierpień August	55,9	18,5	37,6	17,8	10,2	17,9
Wrzesień September	10,5	13,5	26,0	15,6	21,6	16,2
Październik October	39,3	10,1	8,7	9,3	19,7	10,6
Listopad November	48,8	3,7	25,5	2,8	41,3	5,3
Grudzień December	17,0	1,1	59,9	-0,6	18,4	2,6
RO	509,1	8,4	388,5	8,4	409,2	9,4

RO — Roczna suma opadów i średnia roczna temperatura powietrza; Annual amount of rainfall and average air temperature

Pierwszy rok badań (2004) był wilgotny i ciepły, co korzystnie wpłynęło na przebieg wegetacji. Rok drugi (2005) był ciepły, ale niezbyt obfity w opady, co niezbyt korzystnie wpłynęło na wzrost i rozwój roślin miododajnych. Rok trzeci (2006) był wyjątkowo ubogi w opady i upalny, szczególnie w miesiącach letnich. Utrudniło to wegetację roślin.

WYNIKI I DYSKUSJA

Wyniki trzyletnich badań związanych z oceną przydatności wybranych gatunków roślin miododajnych do rekultywacji wapna poflotacyjnego użyźnionego osadem ściekowym, wskazują, że wschody polowe poszczególnych roślin były bardzo zróżnicowane zarówno latach badań, jak też między badanymi gatunkami. Najlepiej wschodziły nasiona ogórecznika lekarskiego, przegorzanu węgierskiego, pospolitego i ruskiego, oraz jednorocznej formy nostrzyku białego, bazylii pachnącej, pszczelnika mołdawskiego, facelii błękitnej, gryki zwyczajnej i ostropestu plamistego. Słabiej kiełkowały nasiona kłosowca fenkułowego i pomarszczonego, a naj słabiej niecierpka Roylego, ślázowca pensylwańskiego i groszku leśnego. Coroczne obserwacje przebiegu wegetacji czynione na przełomie czerwca i lipca wskazywały na duże różnice w rozwoju badanych gatunków roślin. Prawie wszystkie gatunki roślin rozwijały się bujnie. Wyjątek stanowiły tylko rośliny niecierpka Roylego, ślázowca pensylwańskiego i groszku leśnego, których zostało tylko po kilkanaście na poletku. Wiąże się to ściśle ze słabszymi wschodami polowymi tych gatunków.

Trzyletnie obserwacje wskazują, że wśród roślin jednorocznych najbardziej przydatne do uprawy na wapnie poflotacyjnym okazały się: gryka zwyczajna, nostrzyk biały, ogórecznik lekarski, bazylia pachnąca, facelia błękitna i żmijowiec grecki, z dwuletnich: również nostrzyk biały (forma dwuletnia), urzet barwierski, chaber nadreński, wiesiołek dwuletni, szczeń sukiennicza i przegorzan kulisty. Wśród wieloletnich największą bujnością na tym podłożu wykazały się nawłóć późna i kanadyjska, mikołajek płaskolistny, ślázówka turyngska, farbownik lekarski i kłosowiec fenkułowy, średnią przegorzan węgierski, pospolity i ruski, kłosowiec pomarszczony, szalwia okrągowa, ślázowiec pensylwański i chaber driakiewnik a naj słabszą groszek leśny (tab. 2).

Według danych literaturowych (Jabłoński 2000) obydwie formy nostrzyku, chaber nadreński i przegorzan kulisty mogą z powodzeniem rozwijać się na każdym podłożu, facelia błękitna i gryka zwyczajna dobrze znoszą gleby lekkie, ale niezbyt suche. Z roślin wieloletnich nawłóć późna i kanadyjska oraz farbownik lekarski mogą rosnąć na każdym podłożu, a mikołajek płaskolistny wymaga gleb zwięźlejszych i zasobniejszych, ale nie podmokłych. Właśnie te gatunki charakteryzowały się największą bujnością na badanym wapnie poflotacyjnym (Jabłoński 2000). Konieczna krwistoczerwona, serdecznik pospolity, kocimiętka właściwa, a przede wszystkim niecierpek Roylego, które według literatury (Jabłoński 1994; Jabłoński 2000) wymagają gleb zasobnych w składniki pokarmowe, a dzięgiel leśny oprócz tego gleb wilgotnych, na ubogim gruncie rozwijały się słabo.

Tabela 2

Ocena przydatności wybranych gatunków roślin miododajnych użytych wykorzystanych do rekultywacji terenów poeksploatacyjnych kopalni siarki, nawożonych wapnem poflotacyjnym wzbogaconym osadami ściekowymi. (2004–2006)

Evaluation of the usefulness of some honey plants used in the areas of post- exploitation sulphur mines to regenerate soil fertilized with flotation line enriched with municipal sewage (2004–2006)

Lp. No.	Gatunek rośliny Plant species	Bujność roślin — Skala 0–9° Plant vigor — Scale 0–9°
1	Bazylia pachnąca — <i>Ocimum basilicum</i> L.	8
2	Facelia błękitna — <i>Phacelia tanacetifolia</i> Benth.	8
3	Gryka zwyczajna — <i>Fagopyrum esculentum</i> Moench.	9
4	Koniczyna krwistoczerwona — <i>Triforium incarnatum</i> L.	3
5	Niecierpek Roylego — <i>Impatiens glandulifera</i> Royle	1
6	Nostrzyk biały — <i>Melilotus albus</i> Med. (forma jednoroczna)	9
7	Marzmięta grzebieniasta — <i>Elsholzia cristata</i> Willd.	3
8	Ogórecznik lekarski — <i>Borago officinalis</i> L.	8
9	Ostropest plamisty — <i>Silybum marianum</i> (L.) Gaertn.	3
10	Pszczelnik mołdawski — <i>Dracocephalum moldavicum</i> L.	4
11	Rukiew siewna — <i>Eruca sativa</i> DC.	3
12	Śláz mauretański — <i>Malva mauritiana</i> L.	6
13	Ślázówka ogrodowa — <i>Lavatera trimestris</i> L.	6
14	Zmijowiec grecki — <i>Echium creticum</i> S.S.	7
15	Arcydziegiel litwor — <i>Arhangelica officinalis</i> Hoffm.	3
16	Chaber nadreński — <i>Centurea rhenana</i> Bor.	8
17	Nostrzyk biały — <i>Melilotus albus</i> Med. (forma 2-letnia)	9
18	Ostrzeń pospolity — <i>Cynoglossum officinale</i> L.	3
19	Przegorzan kulisty — <i>Echinops sphaerocephalus</i> L.	7
20	Serdecznik syberyjski — <i>Leonurus sibiricus</i> L.	5
21	Szczęć sukiennicza — <i>Dipsacus fullonum</i> L.	7
22	Urzet barwierski — <i>Isatis tinctoria</i> L.	9
23	Wiesiołek dwuletni — <i>Oenothera biennis</i> L.	8
24	Chaber driakiewnik — <i>Centauera scabiosa</i> L.	5
25	Czosnek cuchnący — <i>Allium odorum</i> L.	3
26	Dziegiel leśny — <i>Angelica silvestris</i> L.	3
27	Farbownik lekarski — <i>Achusa officinalis</i> L.	7
28	Groszek leśny — <i>Lathyrus silvester</i> L.	2
29	Kłosowiec fenkułowy — <i>Agastache anethiodora</i> (Pursh.) Kuntze	6
30	Kłosowiec olbrzymi — <i>Agastache nepetoides</i> (L.) Kuntze	4
31	Kłosowiec pomarszczony — <i>Agastache rugosa</i> Kuntze	5
32	Kocimiętka właściwa — <i>Nepeta cataria</i> L.v.citriodori Dum.	3
33	Kocimiętka naga — <i>Nepeta nuda</i> L.	5
34	Mikołajek płaskolistny — <i>Eryngium planum</i> L.	8
35	Nawłóć kanadyjska — <i>Solidago canadensis</i> L.	9
36	Nawłóć późna — <i>Solidago serotina</i> Ait.	9
37	Przegorzan pospolity — <i>Echinops ritro</i> L.	5
38	Przegorzan ruski — <i>Echinops ruthenicus</i> Bieb.	5
39	Przegorzan węgierski — <i>Echinops commutatus</i> Juratz.	5
40	Ruta ogrodowa — <i>Ruta graveolens</i> L.	3
41	Serdecznik pospolity — <i>Leonurus cardiaca</i> L.	3
42	Szałwia okrągowa — <i>Salvia verticillata</i> L.	5
43	Ślázowiec pensylwański — <i>Sida hermaphroditi</i> Rusby (sadzonki)	5
44	Ślázówka turyngska — <i>Lavatera thuringiaca</i> L.	7
45	Hyzop lekarski — <i>Hyssopus officinalis</i> L.	7

0° — Brak roślin; No survival

9° — Rośliny bujne (gęsto, równomiernie i obficie porastające podłoże); Vigorous plants

Z kolei ogórecznik lekarski dobrze rozwijający się na glebach zasobnych w składniki pokarmowe i wodę, wiesiołek dwuletni preferujący stanowiska gliniaste i zasobne w wapń oraz ślázówka turyngska, dobrze rosnąca na glebach zwięźlejszych niezbyt ubogich (Jabłoński, 1994; Karaczan, 1996; Jabłoński, 2000) wspaniale rozwijały się na ubogim w składniki pokarmowe wapnie poflotacyjnym. Wcześniejsze wyniki dwuletnich obserwacji za lata 2002–2003 na 25 wybranych gatunkach roślin miododajnych, uzyskane z niniejszego doświadczenia w aspekcie ich wykorzystania do rekultywacji terenów poeksploatacyjnych siarki wskazywały, że wśród jednorocznych najbardziej przydatny na wapno poflotacyjne okazał się nostrzyk biały i ogórecznik lekarski, a najmniej niecierpek Roylego, z dwuletnich nostrzyk biały (forma dwuletnia), urzet barwierski i chaber nadreński, a z wieloletnich nawłóć późna i kanadyjska, mikołajek płaskolistny, ślázówka turyngska i farbownik lekarski, a najsłabszą groszek leśny (Klimont, 2004) były podobne do prezentowanych.

Uprawa roślin miododajnych wpłynęła korzystnie na właściwości chemiczne wapna poflotacyjnego wzbogaconego osadami ściekowymi, zwiększając w nim zawartość materii organicznej w tworzącej się warstwie próchnicznej do 4,04% (w wariancie kontrolnym tylko 0,86%), zawartość składników pokarmowych w kompleksie sorpcyjnym do 7,2 P₂O₅, 4,3 K₂O i 4,2 Mg mg/100 g gleby (kontrola odpowiednio 1,2, 2,1 i 1,2 mg/100 g gleby).

WNIOSKI

1. Wybrane gatunki roślin miododajnych mogą być z powodzeniem wykorzystywane do rekultywacji wapna poflotacyjnego wzbogaconego osadami ścieków komunalnych.
2. Spośród roślin miododajnych jednorocznych najbardziej przydatnych do uprawy na wapnie poflotacyjnym okazały się gryka zwyczajna, nostrzyk biały, ogórecznik lekarski, bazylia pachnąca, facelia błękitna i żmijowiec grecki; mniej przydatne były koniczyna krwistoczerwona, marzymięta grzebieniasta, ostropest plamisty i rukiew siewna, a najmniej niecierpek Roylego, z dwuletnich nostrzyk biały (forma dwuletnia), urzet barwierski, chaber nadreński, wiesiołek dwuletni, szczyt sukiennicza i przegorzan kulisty. Wśród roślin wieloletnich największą bujnością rozwoju na wapnie poflotacyjnym cechowały się nawłóć późna i kanadyjska, mikołajek płaskolistny, ślázówka turyngska i farbownik lekarski, nieco niższą kłosowiec fenkułowy, średnią: przegorzan węgierski, ruski i pospolity, kłosowiec pomarszczony, szalwia okrągowa, ślázowiec pensylwański i chaber driakiewnik, słabą: dzięgiel leśny, kocimiętka właściwa, ruta ogrodowa serdecznik pospolity, a najsłabszą groszek leśny.
3. Uprawa roślin miododajnych wpłynęła korzystnie na właściwości chemiczne wapna poflotacyjnego wzbogaconego osadami ściekowymi, zwiększając w nim zawartość materii organicznej i składników pokarmowych niezbędnych w życiu roślin.

LITERATURA

- Gołda T. 1993. Przemiany siarki elementarnej zawartej w szlamach poflotacyjnych pod wpływem rekultywacyjnych zabiegów uprawowych. Zesz. Nauk. AGH. Nr 1496, Sozologia i Socjotechnika z. 37: 67 — 75.

- Góral S. 2001. Roślinność zielna w ochronie i rekultywacji gruntów. Inżynieria Ekologiczna 3, PTIE Bydgoszcz: 161 — 178.
- Jabłoński B. 1994. Ogródek pszczelarski. Oddz. Pszczelnictwa. Puławy: 5 — 53.
- Jabłoński B. 2000. Krótka charakterystyka roślin wybranych do uprawy pożytków pszczelich, w: O potrzebie i możliwościach poprawy pożytków pszczelich. Oddz. Pszczelnictwa. ISiK Puławy: 24 — 71.
- Jońca M. 2000. Zastosowanie osadów ściekowych w rekultywacji gruntów Kopalni Siarki „Jezioro”. Inżynieria Ekologiczna 1, PTIE Baranów Sandomierski: 27 — 30.
- Kalinowska A. 1994. Ekologia-wyбір przyszłości. Warszawa, Editions, „Spotkania”.
- Karaczun W., Osińska E., Suchorska K., Węglarz Z. 1996. Rośliny zielarskie, w: Nowe rośliny uprawowe na cele spożywcze i przemysłowe jako odnawialne źródło energii. SGGW Warszawa: 149 — 176.
- Kołtowski Z., Jabłoński B. 2001. Attempt to develop an assortment of herbaceous honey-producing plants to be used for the improvement of bee pastures on idle lands. Journal of Apicultural Science. vol. 45: 21 — 27.
- Klimont K., Góral S. 2001. Glebotwórcze działanie traw i topinamburu na gruncie wapna poflotacyjnego. Inżynieria Ekologiczna 3, PTIG Bydgoszcz: 198 — 207.
- Klimont K., 2004. Przydatność wybranych gatunków roślin użytkowych do rekultywacji terenów zdewastowanych. Zesz. Prob. Post. Nauk Rol., 497; 673 — 684.
- Motowicka-Terelak T., Dudka S. 1991. Degradacja chemiczna gleb zanieczyszczonych siarką i jej wpływ na rośliny pastewne. JUNG Puławy (224): 95 ss.
- Siuta J., Wasiak G., Chłopecki K., Kazimierzczuk M., Jońca M., Mamełka D., Sułek S. 1996. Przyrodniczo techniczne przetwarzanie osadów ściekowych w kompost. Synteza wyników programu KBN, IOŚ, Warszawa: 40 ss.
- Siuta J., Jońca M. 1997. Rekultywacyjne działanie osadu ściekowego na wapnie poflotacyjnym w Kopalni Siarki „Jezioro”. Mat. z Konf. „Przyrodnicze użytkowanie osadów ściekowych”. IOŚ. Puławy-Lublin-Jezioro: 39 — 48.
- Siuta J. 2001. Rekultywacja gruntów w górnictwie siarkowym. Inżynieria Ekologiczna 3, PTIE Bydgoszcz: 192 — 198.

URSZULA SKOMRAInstytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa
Państwowy Instytut Badawczy w Puławach

Ocena materiałów hodowlanych chmielu zwyczajnego pod względem odporności na mączniaka prawdziwego

The assessment of resistance to powdery mildew in hop breeding material

Przedmiotem badań były potomstwa chmielu zwyczajnego uzyskane w wyniku skrzyżowania odmiany Magnum będącej źródłem wysokiej zawartości alfa kwasów, ale jednocześnie wrażliwej na mączniaka prawdziwego, z czterema osobnikami męskimi o małej wrażliwości na tę chorobę. Odporność roślin na mączniaka prawdziwego chmielu oceniano w warunkach naturalnej presji infekcyjnej w dwóch etapach. Pierwszy obejmował wszystkie rośliny z badanego potomstwa i polegał na szacunkowej ocenie występowania objawów choroby na liściach oraz szyszkach w stadium dojrzałości technologicznej. W drugim etapie, z roślin, u których nie stwierdzono objawów choroby w trakcie oceny polowej pobierano losowo 250 szyszek do szczegółowej analizy porażenia. Oceniano odsetek szyszek z objawami choroby oraz stopień ich porażenia. Obserwowano zróżnicowanie porażenia w poszczególnych potomstwach badanych roślin. Najmniejszym odsetkiem roślin z objawami mączniaka prawdziwego charakteryzowało się potomstwo dzikiego chmielu męskiego znalezione w Bieszczadach. W żadnym potomstwie nie stwierdzono roślin całkowicie odpornych na mączniaka prawdziwego, jednak część roślin charakteryzowała się częściową odpornością na tę chorobę. Stanowiły one w zależności od potomstwa od 12,8 do 21,1%. Objawy mączniaka prawdziwego obserwowano częściej na szyszkach niż na liściach chmielu.

Słowa kluczowe: hodowla odpornościowa, *Humulus lupulus*, odporność polowa, *Podosphaera macularis*

Hop progenies from the crosses between hop cv. Magnum, used as a source of high alpha acid content but showing sensitivity to hop powdery mildew, and four male plants partially resistant to this disease, were studied. The resistance to powdery mildew was assessed under natural infection pressure in two stages. The first stage included all plants from the studied progenies and it based on the estimation of disease symptoms on leaves and cones at the stage of technological maturity. The second stage only covered the plants that had been found healthy during the field estimation. A random sample of 250 cones from each plant was assessed for the presence of disease symptoms. The percentage of diseased cones and infection severity were determined. Differences between the studied progenies in the infection level were observed. The lowest percentage of infected plants was recorded for the progenies of the wild male hop found in Bieszczady. No plants fully resistant to hop powdery mildew were found in the progenies, although some of them expressed a high level of partial resistance to this disease. The percentage of plants with partial resistance to hop powdery mildew ranged from 12.8 to

21.1, depending on the progeny. Powdery mildew symptoms were more frequently observed on hop cones than on leaves.

Key words: breeding for resistance, *Humulus lupulus*, field resistance, *Podosphaera macularis*

WSTĘP

Zainteresowanie przemysłu piwowarskiego, będącego głównym odbiorcą surowca chmielowego skupia się wokół odmian o wysokiej zawartości alfa kwasów w szyszkach, lepiej przystosowanych do produkcji ekstraktów i granulatów, które w procesie warzenia piwa zastąpiły chmiel prasowany. Nowoczesne odmiany chmielu, oprócz wysokiej zawartości alfa kwasów, powinny charakteryzować się również odpornością lub przynajmniej mniejszą podatnością na najgroźniejsze choroby, wśród których coraz większego znaczenia nabiera mączniak prawdziwy chmielu powodowany przez grzyb *Podosphaera macularis* Braun & Takamatus; synonimy: *Sphaerotheca macularis* (Wallr.:Fr) Lind, *Sphaerotheca humuli* DC.(Burrill.). Patogen atakuje liście, kwiaty oraz szyszki chmielu (Seigner i in., 2003). Straty z powodu obniżenia wielkości i jakości plonu oraz zwiększenia kosztów chemicznej ochrony roślin są ogromne. W USA w latach 1999–2000 przekraczały one 30 mln. USD (Mahaffee i in., 2003). W Niemczech same koszty ochrony plantacji chmielu przed mączniakiem prawdziwym w latach 1998–2003 wahały się od 180 do 350 EUR na ha (Engelhard, 2005). W Polsce do końca lat dziewięćdziesiątych choroba występowała sporadycznie. Obecnie obserwuje się jej nasilenie.

Duże straty powodowane bezpośrednio przez mączniaka prawdziwego oraz generowane w wyniku konieczności prowadzenia intensywnej ochrony chemicznej skłoniły hodowców chmielu do zintensyfikowania prac nad uzyskaniem odmian odpornych na tę chorobę (Darby, 2005; Seigner i in., 2005). Bardzo ważnym etapem hodowli odpornościowej jest ocena uzyskanych mieszańców pod względem odporności na mączniaka prawdziwego.

Celem przeprowadzonych badań było określenie polowej odporności na mączniaka prawdziwego materiałów hodowlanych chmielu uzyskanych w wyniku skrzyżowania odmiany Magnum będącej źródłem wysokiej zawartości alfa kwasów, ale jednocześnie wrażliwej na mączniaka prawdziwego z osobnikami męskimi o zróżnicowanej zawartości alfa kwasów oraz małej wrażliwości na tę chorobę. Badania te pomogą również ocenić wpływ formy ojcowskiej na poziom odporności potomstwa.

MATERIAŁ I METODY

Przedmiotem badań były potomstwa chmielu zwyczajnego uzyskane w wyniku skrzyżowania odmiany Magnum z czterema osobnikami męskimi o zróżnicowanej zawartości alfa kwasów oraz małej wrażliwości na mączniaka prawdziwego. Charakterystykę komponentów rodzicielskich przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1

**Pochodzenie form rodzicielskich przeznaczonych do krzyżowań oraz liczba roślin badanych
w poszczególnych potomstwach**
Origin of parental forms used for crossing and number of plants tested in particular progenies

Formy rodzicielskie Parental forms				Potomstwo Progeny	
Mateczna — Female		Ojcowska — Male		oznaczenie designation	liczba badanych roślin number of tested plants
nazwa name	pochodzenie origin	oznaczenie designation	Pochodzenie Origin		
Magnum	Odmiana wyhodowana w Niemczech w latach 80. XX w., pochodząca od amerykańskiej odmiany Galena. Sprowadzona do Polski w 1995 r. Obecnie jest uprawiana na powierzchni około 300 ha, co stanowi 14% arealu chmielu w Polsce The cultivar bred in Germany in the 80s of the 20 th century, originated from American cv. Galena. Brought to Poland in 1995. Currently cultivated on the area of about 300 ha (14% of the total area of hop cultivation in Poland)	4/24	Roślina męska znaleziona na plantacji produkcyjnej odmiany chmielu Izabella, powstała prawdopodobnie w wyniku mutacji z rośliny żeńskiej Male plant found on plantation of hop cv. Izabella; probable effect of a female plant mutation	KG1	40
		4/18	Roślina pozyskana ze stanowiska naturalnego w Bieszczadach w okolicach Polańczyka w 1997 r. Plant brought in 1997 from natural environment in the Bieszczady	KG2	44
		4/11	Roślina pochodząca ze skrzyżowania amerykańskiej odmiany Galena z rośliną 4/24 Plant originated from crossing between American cv. Galena and the 4/24 plant	KG3	45
		5/2	Roślina pochodząca ze skrzyżowania polskiej odmiany Pałacowy z rośliną 4/24 Plant originated from crossing between Polish cv. Pałacowy and the 4/24 plant	KG4	45

Krzyżowania wykonano w 2000 roku. Siewki wysadzono wiosną 2002 r. na miejsce stałe na plantacji hodowlanej. Obserwacje prowadzono w latach 2004–2006 w warunkach naturalnej presji infekcyjnej, bez stosowania zabiegów ochrony roślin.

Odporność roślin na mączniaka prawdziwego chmielu oceniano w dwóch etapach. Pierwszy obejmował wszystkie rośliny z badanych pokoleń i polegał na szacunkowej ocenie występowania objawów chorobowych. Na przełomie lipca i sierpnia obserwowano występowanie mączniaka prawdziwego na liściach. Pod koniec sierpnia w fazie dojrzałości technologicznej prowadzono szacunkową ocenę porażenia szyszek.

W drugim etapie, z roślin, u których nie stwierdzono objawów choroby w trakcie oceny polowej pobierano losowo 250 szyszek do szczegółowej analizy porażenia. Oceniano odsetek szyszek z objawami choroby oraz stopień ich porażenia wg metody opisanej przez Skomrę (2004).

WYNIKI I DYSKUSJA

Wstępnej, szacunkowej ocenie występowania mączniaka prawdziwego poddano w latach 2004–2005 wszystkie rośliny z badanych potomstw, tj. 156 pojedynków (tab. 2). Obserwowano zróżnicowanie porażenia w poszczególnych potomstwach. W obu latach badań najmniejszym odsetkiem roślin z objawami mączniaka prawdziwego na liściach charakteryzowało się potomstwo KG2. Wyróżniało się ono również stosunkowo niskim porażeniem szyszek. Natomiast najwięcej roślin z objawami mączniaka prawdziwego na szyszkach obserwowano w obu latach badań w potomstwie KG1, które charakteryzowało się również najsilniejszym porażeniem liści w roku 2005.

Tabela 2

Półowa ocena występowania objawów mączniaka prawdziwego na liściach i szyszkach chmielu w latach 2004–2005

Field estimation of hop powdery mildew incidence on hop leaves and cones in the years 2004–2005

Potomstwo Progeny	Liczba badanych roślin Number of tested plants	% roślin z objawami mączniaka prawdziwego na: % of plants with hop powdery mildew symptoms on:			
		liście — leaves		szyszki — cones	
		2004	2005	2004	2005
KG 1	36	44,4	16,7	80,6	44,4
KG 2	41	24,4	9,8	73,2	29,3
KG 3	39	46,2	12,8	79,5	43,6
KG 4	40	30,0	12,5	67,5	37,5
Średnia Mean		36,3	13,0	75,2	38,7

Zróżnicowanie odporności potomstw pochodzących od jednej rośliny matecznej świadczy o wpływie formy ojcowskiej na tę cechę. Potwierdzają to badania Darby'ego i wsp. (1989). Spośród osobników męskich użytych do krzyżowań najbardziej wartościowa była roślina 4/18 znaleziona w Bieszczadach, bowiem jej potomstwo (KG2) charakteryzowało się najmniejszą wrażliwością na mączniaka prawdziwego.

Objawy mączniaka prawdziwego obserwowano częściej na szyszkach niż na liściach chmielu (tab. 2). W roku 2004, średni odsetek roślin z objawami choroby na szyszkach był około dwukrotnie wyższy niż przy ocenie liści, w roku 2005 różnica ta była jeszcze większa. Jest to związane ze zróżnicowaną wrażliwością poszczególnych organów roślin chmielu na mączniaka prawdziwego. Według badań Seigner i wsp. (2003) szyszki chmielu są bardzo wrażliwe na infekcję i mogą być porażane w każdym etapie rozwoju. W przypadku liści występuje odporność związana z wiekiem. Najbardziej wrażliwe na porażenie są młode, rozwijające się liście, natomiast liście starsze nie ulegają porażeniu (Seigner i in., 2003; Turechek i in., 2001). Duży wpływ na rozwój infekcji mają również warunki pogodowe, a szczególnie temperatura i uśłonecznienie. Rozwój grzyba odbywa się w szerokim zakresie temperatur, ale warunki optymalne to 18°C (Mahaffee i in., 2003). Temperatura przekraczająca 30°C oraz bezpośrednie promieniowanie słoneczne ograniczają rozwój mączniaka prawdziwego chmielu (Engelhardt i in., 2001; Mahaffee i in., 2003). W początkowym okresie wegetacji chmielu czynnikiem ograniczającym rozwój infekcji może być promieniowanie słoneczne, które z łatwością dociera do młodych

rozwijających się liści wrażliwych na porażenie. W fazie generatywnej, rośliny chmielu są mocno rozbudowane, a do wrażliwych na infekcję kwiatów i szyszek dociera głównie promieniowanie rozproszone, które nie wykazuje negatywnego oddziaływania na patogena. Tym prawdopodobnie można tłumaczyć silniejsze porażenie szyszek w porównaniu z liśćmi. Natomiast w okresie kwitnienia i zawiązywania szyszek czynnikiem ograniczającym porażenie chmielu może być wysoka temperatura. Duże usłonecznienie wiosną oraz silne upały w lipcu 2005 roku mogły być jedną z przyczyn mniejszego nasilenia objawów mączniaka prawdziwego na liściach i szyszkach chmielu w porównaniu z rokiem 2004. Darby i wsp. (1989) wykazali, że istnieje ścisły związek pomiędzy występowaniem objawów mączniaka prawdziwego na liściach i szyszkach chmielu podczas sztucznej inokulacji roślin. Podobną zależność stwierdzili Turechek i wsp. (2001) w warunkach naturalnej presji infekcyjnej w USA. Wyniki uzyskane w niniejszych badaniach wskazują, że w naszych warunkach klimatycznych pewniejszą metodą oceny odporności chmielu na mączniaka prawdziwego jest obserwacja objawów choroby na szyszkach.

Odporność chmielu na mączniaka prawdziwego determinowana jest przez pojedyncze, dominujące geny odporności, swoiste w stosunku do rasy patogena (Darby, 2001; Seigner i in., 2001). Odporność tego typu często bywa nietrwała. W przypadku chmielu odporność determinowana przez większość ze znanych genów została przełamana przez nowe rasy patogena (Seigner i in., 2001). W poszukiwaniu nowych źródeł odporności zwrócono uwagę na odporność częściową, która może w wystarczającym stopniu zabezpieczać rośliny przed chorobą, a jest bardziej trwała (Johnson, 1984). W żadnym z badanych potomstw nie stwierdzono roślin całkowicie odpornych na mączniaka prawdziwego, jednak część roślin charakteryzowała się częściową odpornością na tę chorobę. U tych roślin objawy mączniaka prawdziwego miały niewielkie nasilenie tak, że podczas oceny szacunkowej rośliny te uznawano za zdrowe. Objawy choroby stwierdzono dopiero podczas szczegółowej obserwacji szyszek prowadzonej w laboratorium. Tak małe nasilenie choroby nie ma znaczącego wpływu na wartość technologiczną uzyskiwanego surowca. Liczba roślin o mniejszym nasileniu choroby była zróżnicowana w poszczególnych potomstwach i latach (tab. 3). Najwięcej takich roślin występowało w potomstwie KG2, stanowiły one średnio 21,1%, natomiast najmniej roślin częściowo odpornych było w potomstwie KG3 (12,8%). Średni odsetek szyszek z objawami choroby wahał się od 13,7 w potomstwie KG3 do 25,3 w potomstwie KG1. Współczynniki porażenia były zazwyczaj niskie od 2,0 do 9,5%, co świadczy o tym, że większość szyszek, na których obserwowano objawy chorobowe była uszkodzona w niewielkim stopniu obejmującym mniej niż 0,25% powierzchni szyszki. Wyjątek stanowiło potomstwo KG1 w 2004 roku, u którego współczynnik porażenia wynosił 19,2% i był wyższy niż u matecznej odmiany Magnum. Odmiana Magnum, która została użyta w krzyżowaniach jako źródło wysokiej koncentracji alfa kwasów charakteryzuje się bardzo dużą wrażliwością na mączniaka prawdziwego (Seigner i in., 2003, 2005).

Tabela 3

Występowanie objawów mączniaka prawdziwego na szyszkach roślin charakteryzujących się częściową odpornością polową na tę chorobę

Incidence of hop powdery mildew on cones of hop plants with partial field resistance

Potomstwo/ odmiana Progeny /cultivar	Rok Year	Badane rośliny Tested plants		% szyszek z objawami choroby % of cones with disease symptoms	Średni współczynnik porażenia Mean infection coefficient
		liczba number	%		
KG1	2004	5	13,9	42,8	19,2
	2005	8	22,2	13,9	3,9
	2006	4	11,1	19,1	5,9
Średnia — Mean		5,7	15,7	25,3	9,7
KG2	2004	9	22,0	22,9	9,5
	2005	11	26,8	9,0	2,3
	2006	6	14,6	10,3	3,1
Średnia — Mean		8,7	21,1	14,1	5,0
KG3	2004	4	10,3	20,3	9,1
	2005	7	17,9	7,8	2,0
	2006	4	10,3	12,9	5,2
Średnia — Mean		5,0	12,8	13,7	5,4
KG4	2004	7	17,5	18,9	8,8
	2005	7	17,5	13,5	3,5
	2006	5	12,5	11,0	3,6
Średnia — Mean		6,3	15,8	14,5	5,3
Magnum	2004			28,4	12,8
	2005			25,2	6,3
	2006			22,4	8,5
Średnia — Mean				25,3	9,2

Celem hodowlanym było uzyskanie roślin o koncentracji alfa kwasów podobnej lub wyższej niż u odmiany matecznej oraz mniej podatnych na mączniaka prawdziwego chmielu. Rośliny spełniające oba warunki występowały w potomstwie KG1 i KG3. Niestety w potomstwie KG2, które charakteryzowało się najmniejszą wrażliwością na mączniaka prawdziwego nie stwierdzono roślin o tak wysokiej koncentracji alfa kwasów.

WNIOSKI

1. Stwierdzono zróżnicowanie odporności badanego potomstwa chmielu na mączniaka prawdziwego, co świadczy o wpływie formy ojcowskiej na tę cechę.
2. W żadnym z badanych potomstw nie stwierdzono roślin całkowicie odpornych na mączniaka prawdziwego, ale we wszystkich występowały rośliny charakteryzujące się częściową odpornością, mniej podatne na tę chorobę niż mateczna odmiana Magnum.
3. W naszych warunkach klimatycznych pewniejszą metodą oceny odporności polowej chmielu na mączniaka prawdziwego jest obserwacja objawów choroby na szyszkach, bowiem na liściach występują one znacznie rzadziej.

LITERATURA

- Darby P., Godwin J. R., Mansfield J. W. 1989. The assessment of partial resistance to powdery mildew disease in hops. *Plant Pathology* 38: 219 — 225.
- Darby P. 2001. Single gene traits in hop breeding. Proc. Scientific Commission of the International Hop Growers' Convention. Kent, England, 5–7 August: 76 — 80.
- Darby P. 2005. The assessment of resistance to diseases in the UK breeding programme. Proc. Scientific Commission of the International Hop Growers' Convention. George, South Africa, 20–25 February: 7 — 11.
- Engelhard B., Goldbrunner Ch., Seigner E. 2001. Investigations on biology of hop powdery mildew (*Sphaerotheca humuli*) as a basis for specific strategies of control. Proc. Technical Commission of the International Hop Growers' Convention. Canterbury, England, 6–10 August: 29 — 45.
- Engelhard B. 2005. The impact of weather conditions on the behaviour of powdery mildew in infecting hop (*Humulus*). *Acta Hort.* 668: 111 — 116.
- Johnson R. 1984. A critical analysis of durable resistance. *Annual Review of Phytopathology* 22: 309 — 330.
- Mahaffee W. F., Turechek W. W., Ocamb C.M. 2003. Effect of variable temperature on infection severity of *Podosphaera macularis* on hops. *Phytopathology* 93, no. 12: 1587 — 1592.
- Seigner E., Seefelder S., Haugg B., Hesse H., Rösch H., Felsenstein F. 2001. Investigations on the virulence spectrum of hop powdery mildew (*Sphaerotheca humuli*). Proc. Scientific Commission of the International Hop Growers' Convention. Kent, England, 5–7 August: 33 — 37.
- Seigner E., Seefelder S., Haugg B., Engelhard B., Hasyn S., Felsenstein F. 2003. Infektionspotenzial des echten Mehltaus (*Sphaerotheca humuli*) in Abhängigkeit vom Entwicklungsstadium des Hopfens (*Humulus lupulus*). *Gesunde Pflanzen*, 55. Jahrg., Heft 2: 29 — 33.
- Seigner E., Lutz A., Radic-Miehle H., Seefelder S., Felsenstein F. 2005. Breeding for powdery mildew resistance in hop (*Humulus* L.): strategies at the Hop Research Center, Huell, Germany. *Acta Hort.* 668: 19 — 29.
- Skomra U. 2004. Ocena wybranych odmian chmielu pod względem podatności na mączniaka rzekomego i prawdziwego chmielu. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 497: 581 — 589.
- Turechek W. W., Mahaffee W.F., Ocamb C.M. 2001. Development of management strategies for hop powdery mildew in the Pacific Northwest. Online. *Plant Health Progress* doi: 10.1094/PHP-2001-0313-01-RS.

MIECZYŚLAW STASIAK

Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa — PIB
Zakład Hodowli i Uprawy Roślin Specjalnych, Puławy

Wpływ rodzaju sadzonek na plonowanie chmielu

The influence of a kind of cuttings on hop yielding

Dotychczas w Polsce istniały dwie metody sadzenia roślin przy zakładaniu chmielników: wiosną przy użyciu sadzonek nieukorzenionych tzw. „sztobrów”, a jesienią sadzonek ukorzenionych. Nasadzenie plantacji chmielu tymi metodami wymaga jednak trzyletniego okresu oczekiwania dla uzyskania pełni plonowania. Powoduje to zachwianie podaży surowca na rynku chmielarskim i straty finansowe plantatora. Obecnie po wdrożeniu do zastosowania praktycznego w IUNG-PIB szklarniowej metody wegetatywnego rozmnażania sadzonek z części zielonych i metody bezwirusowej *in vitro* istnieje możliwość opracowania technologii umożliwiającej skrócenie czasu do uzyskania pełnego zbioru. Badania realizowano w latach 2003–2006 w formie doświadczenia polowego metodą spit-plot (losowane bloki) w RZD IUNG Kępa po usunięciu starych roślin jesienią 2002 r. Doświadczenie dwuczynnikowe (sadzonki, termin) obejmuje 3 rodzaje sadzonek odmiany goryczkowej Lunga (sztobry, sadzonki ukorzenione, sadzonki doniczkowe *in vitro*) oraz trzy terminy wysadzania (jesień, wiosna, lato) w czterech powtórzeniach. Wielkość poletka wynosiła 112,5 m² (24 poletka × 24 sadzonki). Podczas badań określano wielkość plonu szyszek (kg) z poletka w przeliczeniu na hektar oraz zawartość alfa kwasów (%) (składnik technologiczny jakości chemicznej szyszek). Wyniki badań potwierdziły możliwość uzyskania stosunkowo wysokich plonów już w pierwszym roku po wysadzeniu roślin z sadzonek rozmnażanych wegetatywnie *in vitro*. Nie stwierdzono występowania istotnych różnic pomiędzy poziomami zawartości alfa kwasów w szyszkach badanych obiektów.

Słowa kluczowe: chmiel, plonowanie, sadzonki, alfa-kwasy, termin sadzenia

In Poland we have the several year hop plantations that need a quick adaptation of the cultivation structure to new requirements from the European brewery industry. Planting of hop plantations using traditional methods („bud cuttings” or rooted cuttings) requires as long as a three- year period to get the maximum yielding. This fact makes the supply of the hop market unstable, and is the main factor of farmers, financial losses. Currently, using at the IUNG-PIB of a greenhouse method of cuttings production by vegetative propagation from green parts and the *in vitro* method makes possible to develop a technology, which would allow shortening of the time needed to get maximum yields. The field experiment using a split-plot method was carried out in four replications at the IUNG Kępa Experimental Station in 2003–2006, after removing the old plants in the autumn 2002. A two-factorial trial (cuttings, time of planting) included with three kinds of cuttings of the bitter variety IUNGA (bud cutting, rooted cuttings, potted cuttings *in vitro*) and three dates of planting (autumn, spring, summer). The size of plot was 112.5 m² (24 plots × 24 cuttings). Yield of hop cones from the plot was estimated in kilos per hectare. Moreover, the content of alpha acids (technological element of chemical quality of hop cones) was determined. The results of obtained confirmed the possibility of reaching a relatively

high yield as early as the first year after planting from cuttings propagated vegetative *in vitro*. No essential differences between the experimental variants in the alpha acid content of cones were found.

Key words: hop, yielding, cuttings, alpha acids, time of planting

WSTĘP

Chmielarstwo na świecie wykazuje dużą elastyczność w dostosowywaniu odmianowym do potrzeb przemysłu piwowarskiego. Wieloletnie utrzymywanie w kraju dotychczasowych odmian o niewystarczającym poziomie alfa kwasów jest nieefektywne. Istnieje więc konieczność szybkiej wymiany roślin na plantacjach chmielu.

Dotychczas w praktyce dla celów produkcyjnych związanych z zakładaniem nowych plantacji chmielu sadzonki pozyskiwane były wegetatywnie przez ukorzenianie części rośliny matecznej (Migdal, 1996). Z części podziemnej rozłogów uzyskuje się sadzonki nieukorzenione tzw. „sztobry” wysadzone wiosną lub ukorzenione wysadzone jesienią. Stosowanie sadzonek nieukorzenionych powoduje opóźnienie pełnego plonowania chmielników co najmniej o trzy lata oraz wypadanie sadzonek, co zmusza do uzupełniania braków. Metoda zakładania plantacji sadzonkami ukorzenionymi jest korzystniejsza (Dwornikiewicz, 2006) ponieważ sadzonki przyjmują się łatwiej a plantacja o rok wcześniej wchodzi w pełnię plonowania (Zub, 1977).

Mimo zalet metody nasadzeń sadzonkami ukorzenionymi, powszechniejszą metodą było nasadzenie „sztobrami”, gdyż produkcja sadzonek ukorzenionych wymagała dużych nakładów roboczo-materiałowych związanych z zakładaniem specjalnych szkółek wymagających całorocznego nadzoru związanego z pielęgnacją agrotechniczną i chemicznym zabezpieczeniem przed chorobami i szkodnikami (Wirowski, 1983).

Bardzo skuteczną metodą produkcji sadzonek gwarantującą przyjmowanie się ich na plantacji jest labolatoryjna metoda rozmnażania roślin metodą kultur tkankowych z merystemów *in vitro* (Brits, Linsley-Noakes, 2003) lub z części zielonych pędów roślin. Pozwala na otrzymywanie dużej liczby sadzonek z jednej rośliny, a przede wszystkim, umożliwia produkcję sadzonek pozbawionych wirusów i wiroidów. Metoda ta powstała w końcu XX wieku i stosowana jest m.in. z dużym powodzeniem w Czechach (Tikal, 2007). Odwirusowane sadzonki pozwalają na uzyskanie znacznie wyższych plonów chmielu (Kopecky, 2006). Zalecenia wykorzystania tak uzyskiwanych sadzonek podawane są w corocznych zaleceniach (Hopfen, 2006). W Polsce produkcja sadzonek chmielu tą metodą stosowana jest jedynie w IUNG-PIB w Puławach.

Przypuszcza się, że w wyniku porównania różnych sposobów stosowania sadzonek i przeprowadzonych badań określi się najbardziej optymalną metodę zakładania plantacji przyspieszającą osiągnięcie pełni plonowania chmielników.

MATERIAŁ I METODY

Doświadczenie polowe dwuczynnikowe realizowano w latach 2004–2006 w RZD IUNG Kępa na glebie: mada brunatna kompleksu pszennego IIb. Odczyn gleby wynosił 5,13 pH. Zawartość makroelementów w 100g gleby (oznaczenie wg. Egnera) wynosiła: P₂O₅ — 10,0

mg, K₂O — 18,6 mg, Mg — 13 mg. Doświadczenie zlokalizowano na plantacji chmielu, z której usunięto poprzednio rosnące stare rośliny chmielu jesienią 2002 roku, a następnie zastosowano nawożenie obornikiem 40 t·ha⁻¹ i głęboką orkę. Wiosną 2003 roku plantację obsiano poplonem gorczycy w ilości 10 kg nasion·ha⁻¹ przyorany przed kwitnieniem. Badania realizowano w formie doświadczenia polowego dwuczynnikowego metodą split-plot (losowane bloki), 6 kombinacji w 4 powtórzeniach, łącznie 24 poletka każde o pow. 112,5 m². Sadzonki roślin (po 24 szt.) umieszczono co 1,5 m w rzędach o rozstawie 3 m. Pierwszy czynnik stanowił rodzaj sadzonek (sztobry dwuoczkowe, sadzonki ukorzenione i sadzonki doniczkowe rozmnażane wegetatywnie z części zielonych *in vitro*), drugim czynnikiem był termin sadzenia. W badaniach zastosowano sadzonki nowej odmiany chmielu goryczkowego Iunga. Wydajność plonu z poletek określano podczas zbioru chmielu w pełni dojrzałości technologicznej (druga dekada września). Określano masę świeżych szyszek z pędów owocujących na danym poletku, średnią masę szyszek z rośliny w danej kombinacji, którą przeliczono na plon z hektara (2200 roślin). Szyszki zrywano maszyną do zbioru chmielu „Allaey’s M-22”, a suszono w żaluzjowej suszarni chmielarskiej w temperaturze 62°C w czasie ok. 8 h, do uzyskania wilgotności poniżej 5% (łamliwość osadki). Masę chmielu surowego z poszczególnych poletek określano na wadze elektronicznej z dokładnością do 0,00), a wilgotność badano metodą suszarkową według PN-R-50255. Zawartość alfa kwasów określano konduktometrycznie według metody analitycznej EBC 7.5.

WYNIKI I DYSKUSJA

W pierwszym roku zbiorów (2004) nie uzyskano plonu z poletek obsadzonych wiosną sztobrami, a sadzonki *in vitro* sadzone jesienią i wiosną wykazały znikome nieopłacalne praktycznie kilkukilogramowe plony szyszek (tab. 1). Poletka obsadzone sadzonkami ukorzenionymi jesienią 2003 i wiosną 2004 plonowały odpowiednio 980 kg·ha⁻¹ i 630 kg·ha⁻¹ suchej masy szyszek. Natomiast sadzonki *in vitro* wysadzone latem 2003 r., po ich dobrym ukorzeniu (bez naprowadzania pędów na przewodniki), podczas pierwszych zbiorów w 2004 roku plonowały prawie dwukrotnie lepiej (1490 kg·ha⁻¹) niż uzyskane z sadzonek ukorzenionych sadzonych wiosną (630 kg·ha⁻¹) i były porównywalne ze średnimi plonami krajowymi uzyskiwanymi z produkcyjnych plantacji chmielu goryczkowego (ok. 1448 kg·ha⁻¹) (GIJHARS, 2007). W drugim i trzecim roku badań (2005, 2006) stwierdzono, że największy plon szyszek uzyskały również rośliny rozmnażane wegetatywnie (doniczkowe) sadzone latem — kolejno 3070 kg·ha⁻¹ i 2800 kg·ha⁻¹). Poletka obsadzone jesienią 2003 roku sadzonkami ukorzenionymi plonowały w drugim i trzecim roku zbiorów odpowiednio 2460 kg·ha⁻¹ (2005) i 2470 kg·ha⁻¹ (2006). Ze wszystkich kombinacji najsłabiej plonowały rośliny ze sztobrów sadzonych wiosną 2004 roku — brak plonu (2004), 400 kg·ha⁻¹ (2005) i 1350 kg·ha⁻¹ (2006).

Tabela 1

Plony szyszek chmielu w zależności od metody i terminu wysadzenia
Yields of hop cones according to the method and time of planting

Rodzaj sadzonki Cutting type	Plon świeżej masy szyszek Fresh weight (kg-roślina ⁻¹)			Plon świeżej masy szyszek Fresh weight (t·ha ⁻¹)			Plon suchej masy szyszek Dry matter (t s.m·ha ⁻¹)		
	2004	2005	2006	2004	2005	2006	2004	2005	2006
I	—	0,70 f	2,21 c	—	1,56 e	5,12 b	—	0,40 e	1,35 b
II	1,09 c	3,87 c	3,98 b	2,42 b	8,60 bc	8,84 a	0,63 bc	2,26 bc	2,32 a
III	1,63 b	4,21 b	4,23 b	3,72 b	9,36 b	9,40 a	0,98 ab	2,46 b	2,47 a
IV	2,55 a	5,27 a	4,79 a	5,66 a	11,67 a	10,65 a	1,49 a	3,07 a	2,80 a
V	0,17 e	2,56 e	3,97 b	0,37 c	5,73 d	8,82 a	0,10 c	1,51 d	2,32 a
VI	0,35 d	3,06 d	4,78 a	0,78 c	6,80 cd	10,63 a	0,26 bc	1,79 cd	2,79 a
Średnia Mean	1,17	2,82	4,01	2,59	7,29	8,91	0,69	1,91	2,34
NIR $\alpha = 0,05$ Tukey	0,16	0,27	0,25	1,51	1,89	1,90	0,74	0,50	0,50
LSD $\alpha = 0,05$									

I — Sztobry sadzone wiosną; Bud cuttings — planted in spring

II — Sadzonki ukorzenione sadzone wiosną; Rooted cuttings — planted in spring

III — Sadzonki ukorzenione sadzone jesienią; Rooted cuttings — planted in autumn

IV — Sadzonki *in vitro* sadzone latem; *In vitro* cuttings — planted in summerV — Sadzonki *in vitro* sadzone jesienią; *In vitro* cuttings — planted in autumnVI — Sadzonki *in vitro* sadzone wiosną; *In vitro* cuttings — planted in spring

Tabela 2

Zawartość alfa kwasów w szyszkach chmielu w zależności od metody i terminu wysadzenia (%)
Alpha-acids content in hop cones according to the method and time of planting (%)

Rodzaj sadzonki Cutting type	Zawartość α -kwasów w materiale technologicznym Alpha-acids content in technological material			Zawartość α -kwasów w suchej masie Alpha-acids content in dry matter		
	2004	2005	2006	2004	2005	2006
I	—	9,29	9,48	—	10,03	10,22
II	12,60	8,80	8,84	13,60	9,50	9,54
III	12,70	9,20	9,15	13,70	9,94	9,88
IV	13,60	10,10	9,55	14,70	10,95	10,33
V	13,40	10,60	9,64	14,50	11,42	9,31
VI	13,10	10,05	9,50	14,10	10,88	10,14
Średnia Mean	13,08	9,67	9,36	14,12	10,45	9,90

I — Sztobry sadzone wiosną; Bud cuttings — planted in spring

II — Sadzonki ukorzenione sadzone wiosną; Rooted cuttings — planted in spring

III — Sadzonki ukorzenione sadzone jesienią; Rooted cuttings — planted in autumn

IV — Sadzonki *in vitro* sadzone latem; *In vitro* cuttings — planted in summerV — Sadzonki *in vitro* sadzone jesienią; *In vitro* cuttings — planted in autumnVI — Sadzonki *in vitro* sadzone wiosną; *In vitro* cuttings — planted in spring

Zbiór szyszek z sadzonek *in vitro* wysadzonych wiosną 2004 roku w pierwszym roku był nieopłacalny (260 kg·ha⁻¹), natomiast w drugim i trzecim roku plony były zadowalające i wynosiły kolejno 1790 kg·ha⁻¹ i 2790 kg·ha⁻¹. Sadzonki *in vitro* wysadzane jesienią podobnie jak wysadzane wiosną w pierwszym roku ukorzeniały się a dopiero w drugim i trzecim roku zbioru osiągały efektywny plon ok. 1510 kg·ha⁻¹ i 2320 kg·ha⁻¹, ale był on znacząco mniejszy niż w przypadku sadzonek *in vitro* wysadzanych latem.

Uzyskiwane plony szyszek z rośliny najwyższe były w ciągu całego okresu badań dla sadzonek *in vitro* sadzonych latem, dopiero w trzecim roku plony sadzonek ukorzenionych wysadzanych jesienią i *in vitro* wysadzanych wiosną plonowały na zbliżonym poziomie.

Nieuzasadnione jest zakładanie plantacji sadzonkami *in vitro* jesienią i wiosną, ponieważ plony w pierwszym roku zbiorów są zbyt małe w porównaniu do poniesionych nakładów, delikatne sadzonki uniemożliwiają zastosowanie zalecanej jesiennej wsiewki poplonu na majowe przyoranie.

Analizując zawartości alfa kwasów w szyszkach (tab. 2) z poszczególnych nasadzeń, stwierdzono, że plantacje z sadzonkami doniczkowymi mają najlepszą jakość technologiczną surowca we wszystkich latach badań. Wysoka zawartość składnika alfa w pierwszym roku badań (ponad 14%) spowodowana była sprzyjającymi warunkami agrometeorologicznymi w porównaniu do następnych lat badań (9–10% alfa kwasów).

WNIOSKI

1. Metoda nasadzeń chmielu sadzonkami *in vitro* wysadzanymi pod koniec lipca umożliwia uzyskanie wysokich plonów już w pierwszym roku po założeniu plantacji
2. Niezależnie od warunków atmosferycznych najwyższą zawartość alfa kwasów wykazują szyszki roślin chmielu z sadzonek doniczkowych *in vitro* rozmnażanych wegetatywnie wysadzanych latem i jesienią.
3. Zakładanie plantacji sztoalami nieukorzenionymi jest nieefektywne i opóźnia plonowanie i zwrot poniesionych kosztów o trzy lata.
4. Opracowana metoda pozwala na całoroczną produkcję sadzonek metodą *in vitro* oraz na sprawne wykonywanie corocznych wielohektarowych nasadzeń chmielników bez ujemnego wpływu na podaż surowca chmielowego na rynek produktów chmielarskich i ich cennego składnika alfa kwasów.

LITERATURA

- Brits G., Linsley-Noakes G. C. . 2003. Producing optimal first year yields in hops. International Hop Growers Convention. I. H. G. C. Proceedings of the Scientific Commission, Dobrna-Žalec, Slovenia, 24–27 06. 2003.
- Bayerische Landesanstalt für Bodenkultur und Pflanzenbau: Hopfen 1999–2006.
- Dwornikiewicz J. 2006. Fitosanitarne i agrotechniczne zasady sadzenia chmielu. Instrukcja upowszechnieniowa nr 114, IUNG — PIB Puławy.
- GIJHARS. 2007. Główny Inspektorat Jakości Handlowej Artykułów Rolno-Spożywczych. Raport kwiecień 2007, Warszawa.
- Kopecky J. 2006. Prakticke zkussenosti s propirawkem Singeri na UK Steknik. Chmelarstvi 10/2006: 124 ss.
- Migdal J. 1996. Poradnik plantatora Chmielu, IUNG Puławy: 75 — 82.
- Tikal V. 2007. Mozditelsky a vysadbovy material chmele — 2006. Chmelarstvi 1/2007: 5 s.
- Wirowski Z. 1983. Polowa metoda ukorzeniania sadzonek chmielu. Instrukcja Wdrożeniowa, IUNG Puławy.
- Zub L. 1977. Wyniki doświadczeń z ukorzenianiem chmielu na skalę produkcyjną. Informator Rolniczy WOPR Końskowola.

TERESA DOROSZEWSKA

Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa — Państwowy Instytut Badawczy w Puławach

Uzyskanie stabilnych linii hodowlanych tytoniu z czynnikami odporności na różne izolaty wirusa Y ziemniaka (PVY) od dzikiego gatunku *Nicotiana africana* Merxm.

Obtaining of stable tobacco breeding lines with resistance factors to different PVY isolates from the wild species *Nicotiana africana* Merxm.

Badania nad przeniesieniem odporności na wirus Y ziemniaka (*Potato virus Y*, PVY) z dzikiego gatunku *Nicotiana africana* Merxm do tytoniu uprawnego prowadzono w pokoleniach BC₂ – BC₂F₆. Badania cytologiczne obejmowały ustalenie liczby chromosomów mitotycznych, obserwacje konfiguracji meiotycznych i badanie żywotności pyłku w kolejnych pokoleniach mieszańcowych. Obserwowano zmienną liczbę chromosomów mitotycznych w poszczególnych pokoleniach. Wraz z eliminacją chromosomów pochodzących z *N. africana* następował wzrost żywotności pyłku. Stabilne 48-chromosomowe linie stwierdzono w pokoleniu BC₂F₄. W badaniach odpornościowych prowadzonych w warunkach szklarniowych, przy użyciu bardzo wirulentnego szczepu Y^{NZ} obserwowano wzrost udziału roślin odpornych w kolejnych pokoleniach BC₂, BC₂F₁ i BC₂F₂. W wyniku selekcji prowadzonej w obrębie dalszych pokoleń BC₂F₃–BC₂F₆ w kierunku odporności na Y^N w warunkach naturalnej infekcji polowej, wyodrębniono linie (BPA) odporne bądź tolerancyjne na występujące izolaty wirusa Y ziemniaka. Inokulacja stabilnych linii BPA, przy użyciu sześciu izolatów należących do różnych szczepów nie wywołała objawów nekrotycznych, natomiast część roślin wykazywała przejaśnienia nerwów i wirus był wykrywany metodą serologiczną. Przeprowadzone badania odpornościowe uzyskanych linii hodowlanych wykazały, że ich odporność jest wyższa niż odmian uprawnych *N. tabacum*, co przejawia się brakiem reakcji nekrotycznych na roślinie, natomiast nieco niższa niż użytego do transferu odporności gatunku *N. africana*. Jednakże w sytuacji coraz częstszych infekcji, przejawiających się objawami nekrotycznymi odmian w obrębie *N. tabacum*, uzyskane linie stanowią cenny materiał hodowlany.

Słowa kluczowe: izolaty, krzyżowanie, *Nicotiana africana*, odporność, tytoń, wirus Y ziemniaka

The investigations on the transfer of *Potato virus Y* (PVY) resistance from the wild species *Nicotiana africana* Merxm. to cultivated tobacco were conducted in the BC₂–BC₂F₆ generation. Cytological investigations covered counts of mitotic chromosomes, meiotic configurations and pollen viability in the successive hybrid generations. A number of mitotic chromosomes varied in the generations studied. As *N. africana* chromosomes were eliminated, there was increase in the pollen viability. Stable 48-chromosome lines were found in the BC₂F₄ generation. In the resistance studies using a very virulent strain Y^{NZ} the increase in the percentage of resistant plants with each of the

advancing generations BC₂, BC₂F₁ and BC₂F₂ was observed. As the result of selection for resistance to PVY, carried out in further generations BC₂F₃ – BC₂F₆ in the conditions of natural field infection, breeding lines expressing the resistance to or tolerance of the occurring PVY isolates were selected. Plants of the BPA line inoculated using six different isolates representing different strains failed to develop necrotic symptoms, but some of them showed vein clearing, and virus was detected by serological methods. Resistance ratings of the breeding lines appeared to be higher than those of *N. tabacum* cultivars, as it was seen in the absence of necrotic reaction. However, they were lower than that in the *N. africana* donor species. Since infection pressure of the isolates producing necrotic symptoms in *N. tabacum* is currently relatively high, the stable breeding lines that carry *N. africana*-derived resistance factors to various PVY strains/isolates, are the source of a very valuable germplasm to be used in breeding.

Key words: hybridization, isolates, *Nicotiana africana*, resistance, tobacco, *Potato virus Y*

WSTĘP

Nekrotyczne szczepy PVY^N powodują brunatną nekrozę nerwów liści tytoniu, chorobę o bardzo dużym znaczeniu ekonomicznym dla uprawy i przemysłu tytoniowego w świecie (Lucas, 1975; Delon i in., 1993). Nekroza nerwów hamuje transport wody i soli mineralnych do tkanek liści, zaś nekroza blaszki liściowej ogranicza powierzchnię i zdolność asymilacyjną oraz wymianę gazową, a tym samym wzrost roślin (Wen i in., 1999). Obecność wirusa Y wpływa też niekorzystnie na szlaki metaboliczne, prowadząc do wzrostu zawartości azotanów w liściach (Verrier i in., 2001).

Hodowla odmian odpornych tytoniu (*Nicotiana tabacum* L.) [2n = 48] jest ograniczona wąskim zakresem źródeł odporności. Istniejąca obecnie odporność na PVY wśród większości odmian uprawnych warunkowana jest pojedynczym recesywnym genem *va* uzyskanym w wyniku działania promieni X na odmianę Virgin A Mutant (Koelle, 1961) oraz jej formy alleliczne (Wernsman, 1992; Ano i in., 1995). Jak wykazały badania Noguchi i wsp. (1999) odporność ta warunkowana jest delecją genu odpowiedzialnego za podatność odmian. Podobny mechanizm odporności obecny jest w wielu polskich odmianach tytoniu; przykładem jest powszechnie uprawiana odmiana Wiślica, stosowana też w badaniach jako odmiana testowa, różnicująca poszczególne izolaty (Chrzanowska i Doroszevska, 2004). Odporność obecna w odmianach polskich i zagranicznych nie jest jednak efektywna w zetknięciu z nowymi izolatami wirusa Y ziemniaka występującymi w wielu krajach świata (Doroszevska i Verrier, 2004). W 1994 roku stwierdzono na tytoniu w Polsce izolaty z grupy Y^{NTN} (Chrzanowska i in. 2002). Ich udział wzrasta w ostatnich latach także w wielu krajach Europy (Doroszevska i Verrier, 2004; Chrzanowska i in., 2002). Większość izolatów z grupy Y^{NTN} wykazuje zdolność przełamывania głównych źródeł odporności istniejących w obrębie *N. tabacum*, w tym odmiany VAM i polskich odmian uznawanych dotychczas za odporne. Ponadto stwierdzono obecność izolatów z grupy Y^{NW} również przełamujących odporność odmian uprawnych (Doroszevska i Verrier, 2004). Głównym źródłem infekcji tytoniu przez PVY są ziemniaki. Prowadzone wieloletnie badania we współpracy z IHAR — Oddział w Młochowie wykazały, że te same izolaty zdolne są do zakażenia ziemniaka i tytoniu (Chrzanowska i Doroszevska, 1997; Chrzanowska i in., 2002).

Gatunkiem o wysokim stopniu odporności na PVY okazał się *N. africana* Merxm. [2n = 46] (Lucas i in., 1980). Przeprowadzone badania odpornościowe *N. africana* z wykorzystaniem wysoce wirulentnych izolatów PVY pochodzących z tytoniu i z ziemniaka potwierdziły wysoką odporność (zwaną immunią) tego gatunku (Doroszevska, 2002; Doroszevska i Verrier, 2004). Badania nad transferem czynników odporności były możliwe, dzięki pomyślnemu skrzyżowaniu podatnej na PVY odmiany tytoniu uprawnego cv. BP-210 [2n = 48] z *N. africana* oraz uzyskaniu żywotnych form mieszańcowych F₁ [2n = 47] na drodze kultury liścieni w warunkach *in vitro* (Doroszevska i Berbec, 1996; Doroszevska, 1994) i przywróceniu płodności przez podwojenie liczby chromosomów. Płodne amfidiploidy [2n = 94] skrzyżowano wstecznie z tytoniem uzyskując pokolenie seskwidiploidalne [2n = 71] (Doroszevska i Berbec, 2000).

Głównym celem prezentowanych badań było otrzymanie stabilnych linii hodowlanych i ocena ich odporności przy użyciu najważniejszych gospodarczo izolatów PVY. Z uwagi na fakt, że pozytywne efekty introgresji cechy odporności od odległego gatunku często obniżają wartość gospodarczą tytoniu, prace nad przeniesieniem odporności prowadzono w oparciu o systematyczne testowanie kolejnych pokoleń przy użyciu różnych szczepów PVY, z jednoczesną selekcją form najbardziej zbliżonych do odmiany uprawnej.

MATERIAŁ I METODY

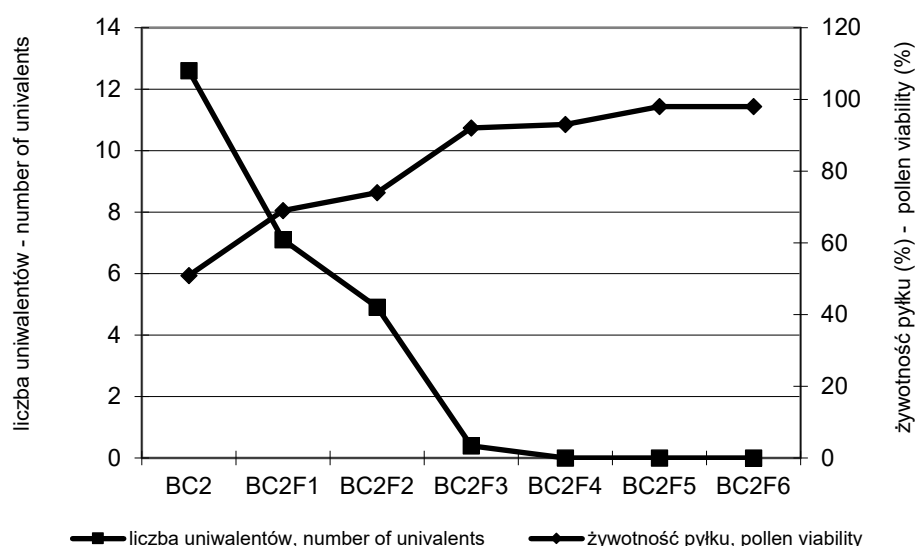
Materiałem wyjściowym w badaniach nad przeniesieniem odporności na PVY z dzikiego gatunku *N. africana* do tytoniu uprawnego było pokolenie poseskwidiploidalne (BC₂), uzyskane w wyniku krzyżowania wstecznego formy seskwidiploidalnej z tytoniem uprawnym odmiany BP-210: [(*N. tab.* cv. BP-210 × *N. africana*) × *N. tab.* cv. BP-210] × *N. tab.* cv. BP-210. W badaniach uwzględniono następujące pokolenia: BC₂F₁ — potomstwo pokolenia BC₂ uzyskane z samozapylenia; BC₂F₂–BC₂F₆ — potomstwo kolejnych pokoleń uzyskanych w wyniku samozapylenia; linie BPA — stabilne linie hodowlane będące potomstwem kolejnych pokoleń, wyprowadzonych z pokolenia BC₂F₆. Analizy cytogenetyczne obejmowały ustalenie liczby chromosomów mitotycznych (Burns, 1964), oraz konfiguracje meiotyczne w komórkach macierzystych pyłku (Burns, 1982). Badania roślin mieszańcowych pokolenia BC₂, BC₂F₁, BC₁F₂ prowadzono w doświadczeniach szklarniowych w kierunku odporności na Y^{NZ}, jeden z bardziej agresywnych szczepów PVY (Gajos, 1971; Doroszevska, 2002). Inokulacje prowadzono w stadium 5–6 liści. Pokolenia BC₂F₃–BC₂F₆ oraz linie BPA badano w doświadczeniach polowych o charakterze szkółki hodowlanej, po ok. 50 roślin na poletku. Obserwowano stan odporności roślin na PVY w warunkach naturalnej infekcji polowej. Ponadto przeprowadzono inokulację linii BPA w fitotronie, w kontrolowanych warunkach temperatury i długości dnia, przy użyciu następujących izolatów PVY pochodzących z tytoniu: Y^{NW1} — pozyskany w Polsce, nie przełamuje odporności VAM i Wiślicy; Y^{NW2} — pozyskany w Polsce, nie przełamuje odporności VAM; Y^{NW3} — pozyskany w Polsce, przełamuje odporność VAM i Wiślicy; Y^{NTNPL} — pozyskany w Polsce, przełamuje odporność VAM i Wiślicy; Y^{NTNGe} — pozyskany z Niemiec, przełamuje odporność VAM i Wiślicy; Y^{NTNFr} — pozyskany z Francji, przełamuje odporność VAM

i Wiślicy. Testowano po 20 roślin linii BPA oraz po 10 roślin odmian uprawnych i dzikiego gatunku *N. africana*, każdym z izolatów.

Zainfekowanie roślin inokulowanych jak również pochodzących z doświadczeń polowych stwierdzano testem DAS-ELISA (Double-Antibody Sandwich Enzyme Linked Immunosorbent Assay), używając przeciwciał monoklonalnych, skierowanych przeciwko różnym szczepom wirusa Y (MoAbs anti Y) — IgG112911, określanych jako ELISA*1, oraz skierowanych przeciwko szczepom nekrotycznym tego wirusa (MoAbs anti Y^N) — IgG112712, określanych jako ELISA**2, produkowanych przez firmę Bioreba (Gugerli i Fries, 1983). Za zdrowe uznawano rośliny bez objawów chorobowych o wartościach absorbancji poniżej 0,1.

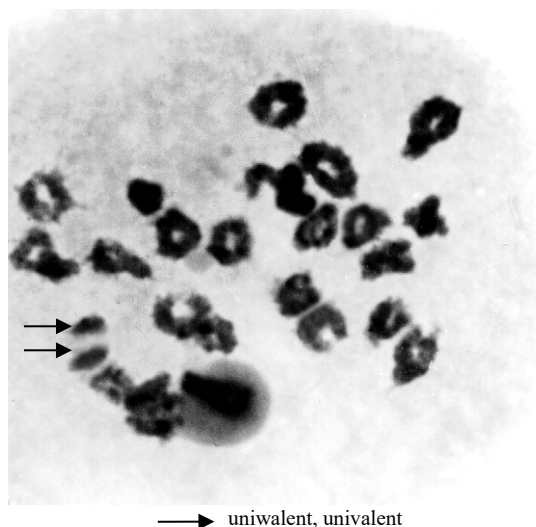
WYNIKI

W kolejnych pokoleniach roślin mieszańcowych BC₂–BC₂F₄ obserwowano stopniową eliminację chromosomów pochodzących od dzikiego gatunku *N. africana*. Wraz ze spadkiem liczby uniwalentów następował wzrost żywotności pyłku (rys. 1).



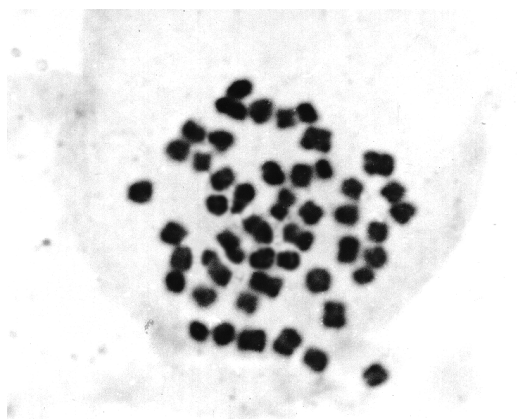
Rys. 1. Frekwencja uniwalentów i żywotność pyłku w pokoleniach BC₂–BC₂F₆
Fig. 1. Univalent frequency and pollen viability in the BC₂–BC₂F₆ generation

Wzrost homozygotyczności roślin obserwowano w pokoleniu BC₂F₃, gdzie większość roślin zawierała 48 chromosomów w komórkach somatycznych; tylko niektóre rośliny zawierały 50 chromosomów. W diakinezie i metafazie I komórek macierzystych pyłku roślin 50-chromosomowych widoczne były dwa uniwalenty (rys. 2), które pozostawały jako chromosomy opóźnione w dalszych stadiach mejozy.



→ uniwalent, univalent
Rys. 2. Diakineza roślin pokolenia BC₂F₃ 24 biwalenty i 2 uniwalenty
Fig.2. Diakinesis of BC₂F₃ generation, 24 bivalents and 2 univalents

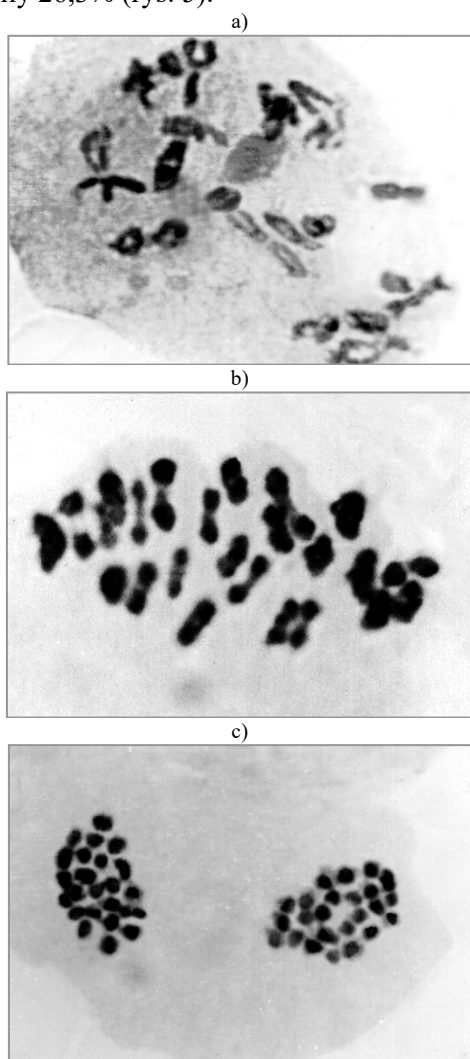
Stabilne linie stwierdzono w pokoleniu BC₂F₄; wszystkie badane rośliny miały po 48 chromosomów w komórkach somatycznych (rys. 3). Przebieg mejozy był bardzo regularny, w diakinezie (rys. 4 a) i metafazie I (rys. 4 b) komórek wszystkich badanych roślin obserwowano 24 biwalenty oraz po 24 chromosomy w metafazie II (rys. 4 c).



Rys. 3. Chromosomy mitotyczne roślin pokolenia BC₂F₄ (48 chromosomów)
Fig. 3. Mitotic chromosomes of the BC₂F₄ generations (48 chromosomes)

W wyniku inokulacji 160 roślin pokolenia BC₂ szczepem PVY^{NZ}, 108 roślin uległo porażeniu, wykazując nekrozy nerwów oraz chlorotyczne i nekrotyczne plamy na blaszce liściowej. Pozostałe, bezobjawowe 52 rośliny poddano testom ELISA z udziałem dwóch rodzajów przeciwciał. Wśród roślin bezobjawowych, testy ELISA wykazały obecność

wirusa w dziesięciu roślinach przy użyciu obydwu rodzajów przeciwciał. Rośliny odporne w tym pokoleniu stanowiły 26,3% (rys. 5).



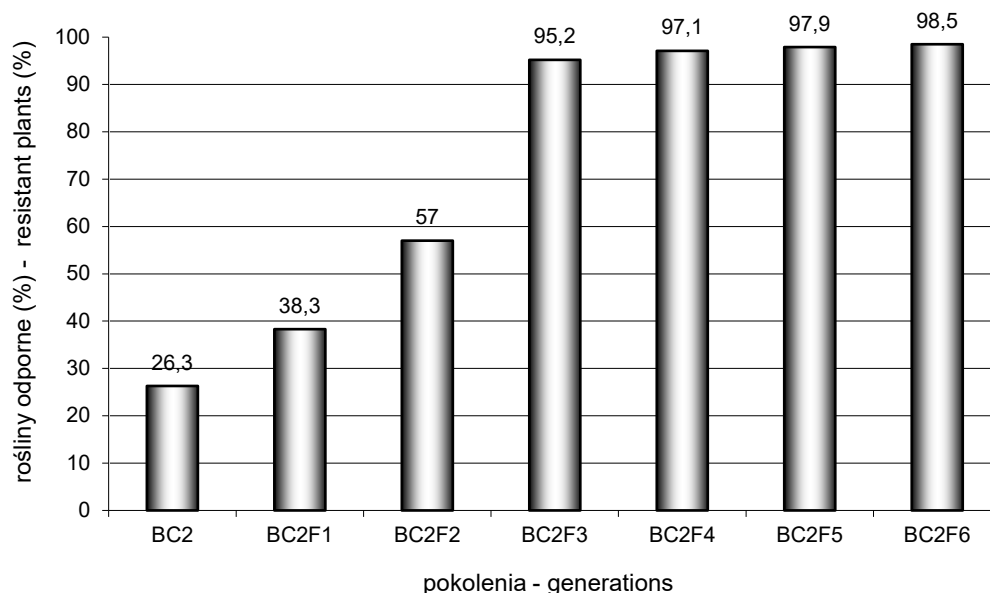
a) diakineza, 24 biwalenty; Diakinesis, 24 bivalents
 b) późna metafaza I, 24 biwalenty; later Metaphase I, 24 bivalents
 c) metafaza II, 24-chromosomowe diady; Metaphase II, dyads with 24 chromosomes

Rys. 4. Konfiguracje mejotyczne roślin pokolenia BC₂F₄

Fig. 4. Meiotic configuration of the BC₂F₄ generations

W pokoleniu BC₂F₁, badano 360 roślin będących potomstwem uzyskanym z samozapylenia 36 roślin odpornych pokolenia BC₂. Po inokulacji szczepem PVY^{NZ} 150 roślin wykazywało nekrozy nerwów, zaś wśród 210 roślin bezobjawowych — 72 wykazywały podwyższoną wartość absorpcji. Negatywny wynik testu ELISA świadczący

o odporności charakteryzował 138 roślin. Procent roślin odpornych w tym pokoleniu był wyższy niż w BC₂ i wynosił 38,3% (rys. 5). Metodą selekcji uwzględniającej cechę odporności oraz cechy fenotypowe, wyodrębniono 20 roślin, których potomstwo przeznaczono do dalszych badań nad transferem cechy odporności na PVY.



pokolenia BC₂ - BC₂F₂ – inokulowano szczepem Y^{NZ}; pokolenia BC₂F₃ - BC₂F₆ badano w warunkach naturalnej infekcji polowej PVY^N
 BC₂ - BC₂F₂ generations were inoculated with Y^{NZ}; BC₂F₃ - BC₂F₆ generations were investigated under the natural field infection with PVY^N

Rys. 5. Udział roślin odpornych na PVY^N w pokoleniach BC₂-BC₂F₆
Fig. 5. Percentage of plants resistant to PVY^N in the BC₂-BC₂F₆ generation

Inokulację roślin pokolenia BC₂F₂ prowadzono na 200 roślinach będących potomstwem wyselekcjonowanych 20 roślin pokolenia BC₂F₁. Zainfekowaniu uległo 66 roślin, a wśród 134 pozostałych, negatywny wynik testu ELISA wykazało 114 roślin, co stanowiło 57% ogółu zakażanych roślin. Odmiana *N. tabacum* BP-210 będąca formą mateczną w wyjściowym mieszańcu ulegała porażeniu w 100% podczas wszystkich inokulacji, wykazując silną nekrozę nerwów. Nie zostały natomiast zainfekowane rośliny gatunku dzikiego *N. africana* użytego jako forma ojcowska w krzyżowaniu międzygatunkowym. We wszystkich pokoleniach, do zbioru wybierano rośliny najbardziej utrzymujące się w typie odmiany BP-210 (pokrój rośliny, kształt i liczba liści, budowa kwiatu), uwzględniając jednocześnie charakter odpornościowy poszczególnych badanych populacji.

W pokoleniu BC₂F₃ uwzględniono 20 linii wyselekcjonowanych z poprzedniego pokolenia. Badania prowadzono w doświadczeniu polowym, w warunkach silnej presji wirusa PVY^N, na poletkach liczących około 50 roślin. Objawy wywołane przez ten szczep

wystąpiły na pojedynczych roślinach dziewięciu badanych linii, wśród pozostałych 11 linii rośliny nie wykazywały objawów nekrotycznych. Testy ELISA wykonane w obrębie 990 roślin bezobjawowych wykazały obecność wirusa w 48 roślinach, w większości na poletkach z obserwowanymi objawami nekrotycznymi oraz na trzech poletkach z roślinami niewykazującymi nekrozy. Pozostałych osiem linii charakteryzowało się odpornością na Y^N w warunkach naturalnej infekcji polowej. W obrębie wszystkich badanych linii pokolenia BC_2F_3 , rośliny odporne stanowiły 95,2% (rys. 5). Odmiana uprawna BP-210 uległa porażeniu w tym doświadczeniu w 86%. Obecność wirusa w roślinach z nekrozami nerwów, jak też w bezobjawowych, bądź wykazujących słabe przejaśnienia nerwów była wykrywalna tylko przy użyciu przeciwciał skierowanych przeciwko wszystkim szczepom; natomiast nie wykrywały wirusa przeciwciała skierowane przeciwko szczepowi Y^N (MoAbs anti Y^N).

Potomstwo ośmiu linii z pokolenia BC_2F_3 odpornych na PVY^N było przedmiotem badań w warunkach naturalnej infekcji polowej. Wśród roślin tego pokolenia nie obserwowano nekrozy nerwów, jedynie chlorotyczne plamy na trzech roślinach. Testy ELISA wykazały obecność wirusa u 11 roślin należących do trzech linii badanego pokolenia BC_2F_4 , zaś wśród pozostałych pięciu linii nie stwierdzono obecności PVY . Ogółem 97,6% roślin w pokoleniu BC_2F_4 charakteryzowało się odpornością na PVY^N w warunkach naturalnej infekcji polowej.

W pokoleniu B_2F_5 uwzględniono w badaniach polowych potomstwo pięciu linii wykazujących odporność w poprzednim pokoleniu. Rośliny tych linii nie wykazywały nekrozy nerwów, lecz na pięciu roślinach spośród dwóch linii występowały przejaśnienia nerwów i słabe plamy chlorotyczne. Detekcja serologiczna wykazała obecność wirusa u ośmiu roślin, co stanowiło 2,1% ogółu badanych roślin. W następnym sezonie badano 10 linii pokolenia B_2F_6 . Podobnie jak w poprzednim pokoleniu symptomy chorobowe miały charakter chlorotycznych plam i przejaśnienia nerwów. Obserwowano je u ośmiu roślin w obrębie czterech linii. Za pomocą testu wykryto obecność wirusa u 11 roślin należących do pięciu badanych linii. Obecność wirusa nie była wykrywalna przez przeciwciała monoklonalne (MoAbs anti Y^N). Ogółem wśród badanych linii pokolenia B_2F_6 rośliny odporne stanowiły 98,5%.

Celem weryfikacji odporności stabilnej cytologicznie linii hodowlanej ($2n = 48$) wyprowadzonej z pokolenia B_2F_6 a określanej jako linia BPA przeprowadzono inokulacje z użyciem izolatów o różnicowanej wirulencji należących do grupy PVY^NW i PVY^{NTN} . W badaniach uwzględniono też inne źródła odporności (VAM, Wiślica i *N. africana* oraz podatną odmianę testową Samsun H (tab. 1). W wyniku inokulacji roślin linii BPA izolatami PVY^NW 1 i PVY^NW 2 większość roślin nie wykazywała żadnych objawów chorobowych, 20% roślin reagowało chlorotycznymi plamami (CS) po inokulacji izolatami PVY^NW 1 i 30% po inokulacji PVY^NW 2. Użycie bardziej wirulentnych izolatów — PVY^NW 3 i PVY^{NTN} powodowało przejaśnienia nerwów i plamy chlorotyczne na większości roślin linii BPA.

Tabela 1

Porównanie różnych źródeł odporności na izolaty PVY^{NW} i PVY^{NTN} i reakcji nieodpornej odmiany Samsun H
Comparison of different sources of resistance to PVY^{NW} and PVY^{NTN} isolates and the reaction of a susceptible cv. Samsun H

Izolaty PVY PVY isolates	Liczba roślin inokulowanych — Liczba roślin zainfekowanych Number of inoculated — Number of infected plants														
	BPA			VAM			Wiślica			<i>N. africana</i>			Samsun H		
	objawy symptoms	ELISA		objawy symptoms	ELISA		objawy symptoms	ELISA		objawy symptoms	ELISA		objawy symptoms	ELISA	
		*1	**2		*1	**2		*1	**2		*1	**2		*1	**2
Y ^{NW} 1	16 ns, 4 CS	20/12	20/0	ns	10/0	10/0	ns	10/0	10/0	ns	10/0	10/0	VN	10/10	10/10
Y ^{NW} 2	14 ns, 6 CS	20/16	20/0	ns	10/0	10/0	VN	10/10	10/0	ns	10/0	10/0	VN	10/10	10/10
Y ^{NW} 3	VC, CS	20/20	20/0	VN	10/10	10/0	VN	10/10	10/0	ns	10/0	10/0	VN	10/10	10/10
Y ^{NTN} PL	VC, CS	20/20	20/20	VN	10/10	10/10	VN	10/10	10/10	ns	10/0	10/0	VN	10/10	10/10
Y ^{NTN} Ge	VC, CS	20/20	20/20	VN	10/10	10/10	VN	10/10	10/10	ns	10/0	10/0	VN	10/10	10/10
Y ^{NTN} Fr	VC, CS	20/20	20/20	VN	10/10	10/10	VN	10/10	10/10	ns	10/0	10/0	VN	10/10	10/10

ELISA *1 – Testy wykorzystujące przeciwciała monoklonalne, skierowane przeciwko różnym szczepom PVY; Tests using a cocktail of antibodies to detect an enlarged serological spectrum of PVY strains (MoAbs anti Y IgG112911)

ELISA **2 - Testy wykorzystujące przeciwciała monoklonalne, skierowane przeciwko szczepom nekrotycznym PVY; Tests using a monoclonal antibodies against the typical necrotic strain PVY^N (MoAbs anti Y^N IgG112712)

Ns – Brak objawów, CS – Plamy chlorotyczne, VC – Przejaśnienia nerwów, VN – Nekroza nerwów

Ns – No symptoms, CS – Chlorotic spots, VC – Vein clearing, VN – Vein necrosis

Wirus był wykrywalny za pomocą testów ELISA. Odmiana VAM nie wykazała objawów po użyciu izolatu PVY^{NW} 1, pozyskanego z odmian podatnych oraz PVY^{NW} 2, natomiast Wiślica reagowała nekrozą nerwów po inokulacji izolatami PVY^{NW} 2. Obie te odmiany wykazały silną nekrozę nerwów po inokulacji izolatami PVY^{NW} 3 i trzema izolatami z grupy PVY^{NTN}, podczas gdy linia BPA reagowała tylko przejaśnieniem nerwów (VC), bądź chlorotycznymi plamami. Gatunek *N. africana* nie uległ porażeniu żadnym z użytych izolatów, co potwierdziło jego wysoką odporność. Podatna odmiana Samsun H uległa silnej nekrozie po inokulacji wszystkimi izolatami.

DYSKUSJA

Uzyskanie żywotnych roślin mieszańcowych *N. tabacum* × *N. africana* poprzez kulturę liści (Doroszewska, 1994) pozwoliło podjąć próbę dalszego transferu czynników odporności na PVY z *N. africana* do odmian uprawnych. Gatunek ten był opisany jako niezwykle trudny do uzyskania żywotnych form mieszańcowych (Gerstel i in., 1979). Bardzo korzystnym był fakt otrzymania mieszańców poliploidalnych w wyniku prowadzonej kultury *in vitro*. Mieszańcowe formy amfidiploidalne wykazywały wysoką płodność i stabilność. Ważnym aspektem pozwalającym na kontynuację badań nad możliwością dalszego transferu czynników odporności była relatywnie wysoka płodność pokolenia seskwidiploidalnego, umożliwiającą krzyżowanie wsteczne (Doroszewska i Berbec, 2000).

W pokoleniu poseskwidiploidalnym BC₂ obserwowano zmienność cytologiczną i fenotypową. Liczba roślin odpornych w tym pokoleniu była stosunkowo niska (26,3%). Większość roślin wykazywała nekrozę nerwów, ponadto u części roślin bezobjawowych również wykazano obecność wirusa. Podobny charakter wykazywały rośliny analogicznego pokolenia mieszańców *N. tabacum* cv.BP-210 × *N. benavidesii* (Berbec i Głazewska, 1988), gdzie liczba roślin odpornych sięgała zaledwie 13,5%.

Procent roślin odpornych w pokoleniu BC₂F₁ był wyższy niż w pokoleniu poseskwidiploidalnym i wynosił 38,3%. Obserwowano niektóre linie wykazujące mniejszą podatność, lecz nie wyodrębniono w tym pokoleniu linii całkowicie odpornych. W następnym pokoleniu BC₂F₂ wprawdzie zmniejszała się liczba uniwalentów i wzrastał udział roślin odpornych, jednakże obserwowano jeszcze dużą zmienność fenotypową i cytologiczną, dotyczącą liczby chromosomów i przebiegu mejozy. W analogicznym pokoleniu mieszańcowym *N. tabacum* BP-210 × *N. benavidesii* Berbec i Głazewska (1988) obserwowali już ustalone linie 48 chromosomowe. Różnice mogą wynikać z odmiennych pozycji systematycznych (przynależności do różnych sekcji) użytych gatunków, ich stopnia pokrewieństwa z *N. tabacum*, a także z liczby chromosomów.

Wzrost stopnia homozygotyczności widoczny był w pokoleniu BC₂F₃, gdzie obserwowano rośliny z liczbą chromosomów 48–50. Pod względem fenotypowym linie te były bardzo zbliżone do odmiany wyjściowej BP-210. W tym pokoleniu wyodrębniono linie, które nie podległy infekcji Y^N w warunkach polowych. Jednakże potomstwo tych linii nie było w pełni odporne. Wprawdzie infekcja miała miejsce wśród pojedynczych roślin i objawiała się tylko przejaśnieniem nerwów, bądź wirus wykrywalny był

serologicznie, to wyniki te świadczą, iż cecha odporności w uzyskanych liniach nie była tak silna jak u gatunku dzikiego. Charakteryzowało to również następne pokolenia. Wyniki te mogą sugerować, że odporność na PVY kontrolowana jest przez dwa geny. Taką hipotezę wysuwał też Wernsman (1992). Większość autorów definiuje odporność na PVY jako jednogenową (Gupton i Burk, 1973). Uzyskana przez Koelle (1961) w wyniku mutacji odporność odmiany Virgin A Mutant (VAM) definiowana jest jako odporność recesywna monogeniczna, kontrolowana genem *va*. Ten typ odporności obecny jest w większości odmian uprawianych w Ameryce i wielu krajach Europy. Badania koordynowane przez CORESTA nad obecnością i identyfikacją szczepów wirusa Y ziemniaka w różnych krajach wykazują, że odmiany definiowane jako zawierające gen *va* podlegały znacznie częściej infekcji niż odmiana VAM (Verrier, 2001; Doroszevska i Verrier, 2004), a zatem poziom odporności tych odmian jest również niższy niż odmiany wyjściowej. Badania przy użyciu nekrotycznych izolatów o zróżnicowanym poziomie virulencji pozwoliły wyróżnić trzy alleliczne formy genu *va* o różnym stopniu efektywności: va^0 , va^1 i va^2 . Najbardziej efektywna forma va^0 obecna jest w genotypie VAM, najsłabsza va^2 w genotypie VD (V.SCR) (Blancard i in., 1995). Zróżnicowaną efektywność tych form może tłumaczyć fakt, iż gen określany jako *va* jest delecją odcinka sekwencji odpowiedzialnego za podatność na PVY (Noguchi i in., 1999). Uzyskana odporność z *N. africana* polega zaś na podstawieniu pewnej sekwencji warunkującej odporność. Słabsza ekspresja cechy odporności w liniach hodowlanych może być również warunkowana wpływem innych genów, tzw. „efektu pozycji”, maskującego działanie introdukowanego genu.

Opierając się na uzyskanych wynikach trudno jest jednoznacznie zdefiniować mechanizm przeniesienia odporności na PVY z odpornego gatunku *N. africana* do silnie podatnej odmiany tytoniu. Najmniej prawdopodobna jest możliwość wystąpienia spontanicznej mutacji, w oparciu o którą mogła być prowadzona ścisła selekcja. Pokolenia mieszańcowe wykazywały bowiem cechy obydwu gatunków rodzicielskich (Doroszevska i Berbeć, 1995) i wpływ ten widoczny był przez szereg pokoleń wypierających.

Uzyskane przez autorkę linie hodowlane zawierały 48 chromosomów w komórkach somatycznych oraz 24 biwalenty w komórkach macierzystych pyłku. A zatem status cytogenetyczny tych linii wyklucza możliwość addycji chromosomowej. Również nie może być przyjęta teza o substytucji całego chromosomu. W mieszańcach F_1 , F_2 i BC_1 uzyskanych w wyniku krzyżowania stabilnej linii odpornej na PVY z podatną odmianą tytoniu, obserwowano regularną koniugację widoczną w postaci 24 biwalentów (dane nie prezentowane). Nie jest prawdopodobne, aby chromosom pochodzący od *N. africana* podlegał regularnej koniugacji z chromosomem *N. tabacum* w formie substytucyjnej heterozygoty. Podstawienie całego chromosomu wiąże się również z szeregiem innych zmian fenotypowych, związanych z obecnością innych genów przeniesionych wraz z chromosomem. Takich zmian nie obserwowano wśród uzyskanych linii.

Bardziej prawdopodobnym wytłumaczeniem sposobu transferu odporności na PVY od *N. africana* może być zjawisko translokacji, bądź substytucji segmentalnej w początkowych pokoleniach mieszańcowych. Pokoleniem wyjściowym omawianych linii hodowlanych była forma amfidiploidalna, gdzie obserwowano asocjacje multiwalentne (Doroszevska i Berbeć, 2000), wywołane prawdopodobnie translokacjami. Wyższa

frekwencja nie homologicznych translokacji obserwowana była często wśród roślin zbożowych otrzymanych drogą kultur *in vitro* (Lapitan i in., 1984; Feldman, 1988). Wszystkie żywotne formy mieszańcowe *N. tabacum* × *N. africana* uzyskano metodą kultury *in vitro* liścieni (Doroszevska, 1994). Na tym etapie nastąpiła też poliploidyzacja amfihaploidów, dając płodne amfidiploidy (Doroszevska i Berbec, 2000). W świetle tych wyników translokacja mogła być mechanizmem introgresji cechy odporności.

Innym, prawdopodobnym sposobem przeniesienia cechy odporności mogła być substytucja segmentalna. Warunkiem jej wystąpienia jest przynajmniej sporadyczna koniugacja między chromosomem *N. tabacum*, a jego odpowiednikiem z dzikiego gatunku. Wprawdzie w mieszańcach amfihaploidalnych *N. tabacum* cv. BP-210 × *N. africana* największy udział stanowiły komórki macierzyste pyłku z samymi uniwalentami, to obserwowano również KMP z biwalentami w zakresie 1–5 (Doroszevska i Berbec, 1996). Moav (1958) sugerował, że substytucja segmentalna może wystąpić na drodze rekombinacji między chromosomami, które wykazują pewien stopień homologii lub też poprzez losowe pęknięcia a następnie łączenie pękniętych odcinków chromosomów. Wykorzystanie przez Lewisa (2005) markerów molekularnych dla linii hodowlanych niosących czynniki odporności od *N. africana* wskazywało, że zjawisko *crossing over* miało miejsce wśród linii z obcym segmentem chromosomu, a zatem każdy fragment od *N. africana* został zintegrowany w pozycji posiadającej podobieństwa strukturalne bądź sekwencyjne umożliwiające sinapsis z *N. tabacum*. Odmiany *N. tabacum* niosące odporność na wirus mozaiki tytoniowej (*Tobacco mosaic virus*, TMV) z gatunku *N. glutinosa* stanowią także produkt substytucji segmentalnej, gdzie część chromosomu od dzikiego gatunku została wbudowana do chromosomu *N. tabacum* (Chaplin i Burk, 1970). Również Berbec i Głazewska (1988) jako najbardziej uzasadnioną tezę przeniesienia odporności na PVY z *N. benavidesii* sugerują substytucję fragmentu chromosomu, wskazując ponadto, iż podstawiony fragment musiał być bardzo mały bądź strukturalnie podobny do odpowiednika w genomie tytoniu. Zastosowanie przez Lewisa (2005) markerów molekularnych pozwoliło na określenie linii zawierających najmniejszy fragment chromosomu od *N. africana*, celem eliminacji niekorzystnego wpływu gatunku dzikiego na cechy jakościowe tytoniu. Często bowiem obce fragmenty chromosomu dawały negatywny efekt pod względem agronomicznym i jakościowym (Chaplin i in., 1966, Legg i in., 1981; Johnson i in., 1998). W przypadku linii wyprowadzonych przez autorkę od *N. africana* również można wnosić, że podstawiony fragment był bardzo mały, skoro nie zakłócał koniugacji w heterozygotycznym mieszańcu (odporna linia hodowlana × odmiana podatna). Nie powodował też negatywnych zmian fenotypowych, mających wpływ na plonowanie i jakość surowca w porównaniu z odmianą wyjściową (dane nie publikowane).

Odporność uzyskanych linii BPA na PVY nie była tak wysoka jak u *N. africana*, co przejawiało się obecnością wirusa w soku niektórych inokulowanych roślin. Ważnym aspektem było zastosowanie w badaniach dwu rodzajów przeciwciał firmy Bioreba. Użyte przeciwciała mają zróżnicowaną zdolność wykrywania izolatów należących do różnych grup (Chrzanowska, 1994). Przeciwciała monoklonalne MoAbs anti PVY^N mogą służyć do wykrywania izolatów szczepu PVY^{NTN}, nie reagują natomiast z izolatami szczepu

PVY^{NW}. Pozwala to precyzyjnie określić odporność badanych linii oraz potwierdzić tożsamość użytych do inokulacji izolatów. Podwyższona wartość absorbancji u linii BPA po inokulacji niektórymi izolatami wskazuje raczej na odporność typu tolerancji, a nie immunii jak u gatunku dzikiego. Również jako tolerancję określono typ odporności 50-chromosomowej linii addycyjnej z *N. africana* (Wernsman, 1992) i 48-chromosomowych linii uzyskanych przez Lewisa (2005). Dotychczasowe badania prowadzone przez tego autora uwzględniały odporność uzyskanych linii na amerykański szczep PVY^{NN}. Jak wynika z obserwacji porównawczych (doniesienie ustne) szczep ten może być podobny do szczepu PVY^{NW}. Wyniki badań odporności uzyskanych linii hodowlanych BPA, nie wykazały objawów nekrotycznych zarówno w warunkach silnej presji PVY w polu, jak też w wyniku inokulacji przy użyciu sześciu izolatów, z których cztery wykazują zdolność wywoływania nekrozy nerwów u istniejących źródeł odporności w obrębie *N. tabacum*. Część roślin wykazywała jednak przejaśnienia nerwów i chlorotyczne plamy a wirus był wykrywalny metodą serologiczną. Można zatem wnosić, że wbudowana odporność ma charakter tolerancji wobec najważniejszych szczepów PVY. Fakt ten jest niezwykle ważny w sytuacji rozprzestrzeniania się szczepów i izolatów coraz bardziej agresywnych, przełamujących odporność w obrębie *N. tabacum*.

WNIOSKI

1. Transfer czynników odporności na PVY z dzikiego gatunku *N. africana* prowadzono w oparciu o formę mieszańcową (BC₂) i następnie poprzez samozapylenia kolejnych pokoleń. Obserwowano zmienną liczbę chromosomów mitotycznych w poszczególnych pokoleniach i stopniową eliminację chromosomów pochodzących z gatunku dzikiego.
2. Wraz z eliminacją chromosomów pochodzących z *N. africana* następował wzrost żywotności pyłku. Stabilne 48-chromosomowe linie stwierdzono w pokoleniu BC₂F₄.
3. W badaniach odpornościowych wcześniejszych pokoleń, przy użyciu bardzo wirulentnego szczepu PVY^{NZ} oraz w wyniku selekcji prowadzonej w warunkach naturalnej infekcji polowej w obrębie dalszych pokoleń, wyodrębniono linie odporne bądź tolerancyjne na występujące izolaty. Rośliny pokolenia BC₂F₄–BC₂F₆ nie wykazywały objawów nekrotycznych.
4. Inokulacja linii BPA, będącej potomstwem pokolenia BC₂F₆, przy użyciu sześciu wirulentnych izolatów, należących do różnych szczepów PVY, nie wywołały objawów nekrotycznych, natomiast część roślin wykazywała przejaśnienia nerwów i wirus był wykrywalny metodą serologiczną. Wskazuje to na tolerancyjny charakter odporności linii BPA wobec najważniejszych izolatów.
5. Odporność linii hodowlanych była zdecydowanie wyższa niż odmian uprawnych *N. tabacum*, co przejawiało się brakiem reakcji nekrotycznych na roślinie, natomiast nieco niższa niż użytego do transferu odporności gatunku *N. africana*. Słabsza ekspresja cechy odporności w liniach hodowlanych mogła być warunkowana wpływem innych genów, tzw. „efektu pozycji” maskującego działanie introdukowanego genu.

6. W porównaniu z dotychczas istniejącymi źródłami odporności w obrębie *N. tabacum*, linie BPA jako jedyne nie wykazują reakcji nekrotycznych roślin po inokulacji najbardziej wirulentnymi izolatami. Świadczy to o uzyskaniu nowego źródła odporności, cennego dla hodowli użytkowej w sytuacji wzrostu frekwencji patogennych izolatów PVY.

LITERATURA

- Ano G., Blancard D., Cailleteau B. 1995. Mise au point sur la resistance recessive aux souches necrotiques du virus Y de la pomme de terre (PVY) presente chez *Nicotiana*. Ann. Tabac. 2 (27): 35 — 42.
- Berbec A., Głazewska Z. 1988. Transfer of resistance to Potato virus Y from *Nicotiana benavidesii* Goodspeed to *N. tabacum*. Gen. Pol. 29 (3-4): 323 — 333.
- Blancard D., Ano G., Cailleteau B. 1995. Etude du pouvoir pathogene d'isolates de PVY sur tabac: proposition d'une classification integrant la resistance a la necrose. Ann Tabac 27:43 — 50.
- Burns J. A. 1964. A technique for making preparations of mitotic chromosomes from *Nicotiana* flowers. Tob Sci 8: 1 — 2.
- Burns J. A. 1982. The chromosomes of *Nicotiana africana* Merxm.: a recently discovered species. J. Hered. 73: 115 — 118.
- Chaplin J. F., Burk L. G. 1970. Interspecific hybridization and gene transfer in *Nicotiana*: Problems and possible solution. 5th Int. Tob. Sci. Congr. Proc. 59: 67.
- Chaplin J. F., Matzinger D. F., Mann T. J. 1966. Influence of the homozygous and heterozygous mosaic-resistance factor on quantitative character of flue-cured tobacco. Tob. Sci. 10: 81 — 84.
- Chrzanowska M. 1994. Differentiation of potato virus Y (PVY) isolates. Phytopathol. Pol. 20 (8): 15 — 20.
- Chrzanowska M., Doroszevska T. 1997. Comparison between PVY isolates obtained from potato and tobacco plants in Poland. Phytopathol. Pol. 13: 63 — 71.
- Chrzanowska M., Doroszevska T. 2004. Biological differentiation of the PVY strains found in potato and tobacco in Poland. 12th EAPR Virology Section Meeting Rennes, France: 44 pp.
- Chrzanowska M., Doroszevska T., Zagorska H., 2002. Zróznicowanie izolatów wirusa Y ziemniaka w zależności od kryterium oceny. Acta Agrobot. 55 (1): 59 — 67.
- Delon R., Fisher C. R., Blancard D. 1993. Survey on tobacco viruses. CORESTA Inf. Bull. No. 4:72 — 79.
- Doroszevska T. 1994. Przełamywanie barier nieżywności i bezpłodności międzygatunkowych mieszańców *Nicotiana tabacum* L. × *Nicotiana africana* Mrxm. metodą kultur tkankowych. Prace Ogrodu Botanicznego PAN 5/6: 465 — 472.
- Doroszevska T. 2002. Potential sources of resistance to three strains of Potato virus Y in the genus *Nicotiana*. Inf. Bull. CORESTA Congress New Orleans: 29 pp.
- Doroszevska T., Berbec A. 1994. Resistance to PVY of interspecific hybrids of several flue-cured tobacco cultivars with *Nicotiana africana* Merxm. Inf. Bull. CORESTA, Zimbabwe: 145 pp.
- Doroszevska T., Berbec A. 1995. Growth and development of the interspecific F1 hybrids *Nicotiana tabacum* L. x *N. africana* Merxm. involving different *N. tabacum* cultivars. Inf. Bull. CORESTA Agron. Phytopathol. Meet Oxford: 8 p.
- Doroszevska T., Berbec A. 1996. Chromosome pairing and microsporogenesis in interspecific F1 hybrids of *Nicotiana africana* with different cultivars of *N. tabacum*. J. Genet. Breed. 50: 75 — 82.
- Doroszevska T., Berbec A. 2000. Cytogenetical investigations of poliploid interspecific hybrids of *Nicotiana africana* with different cultivars of *N. tabacum*. J. Genet. Breed. 54: 77 — 82.
- Doroszevska T., Verrier J. L. 2004. Sub-Group Collaborative Study on Potato virus Y. Annual Subgroup report CORESTA CD-ROM Version No20.
- Feldman M. 1988. Cytogenetic and molecular approaches to alien gene transfer in wheat. Proc. of the Seventh Int. Wheat Genet. Syp. 1: 23 — 32.
- Gajos Z. 1971. Silnie wirulentny szczep wirusa Y na tytoniu w Polsce, jego występowanie i właściwości w porównaniu ze szczepami nekrotycznym i zwykłym. Zesz. Probl. Post. Nauk. Rol., 115: 87 — 98.

- Gerstel D. U., Burns J. A., Burk L. G. 1979. Interspecific hybridizations with an African tobacco, *Nicotiana africana* Merxm. J. Hered. 70: 342 — 344.
- Gugerli P., Fries P. 1983. Characterization of monoclonal antibodies to potato virus Y and their use for virus detection. J. Gen. Virol. 64: 2471 — 2477.
- Gupton C. L., Burk L. G. 1973. Location of the factor for resistance to potato virus Y in tobacco. J. Hered. 64: 289 — 290.
- Johnson E. S., Wolff H. D., Rufty R. C., Wernsman E. A. 1998. Consequences of gametic selection for black shank resistance in populations segregating for qualitative and quantitative resistance sources. Inf. Bull. CORESTA Brighton England: 129 p.
- Koelle G. 1961. Genetische Analyse einer Y-virus (Rippenbraune) resistenten Mutante der Tabaksorte Virgin A. Zuchter. 31: 71 — 72.
- Lapitan N. L. V., Sears R. G., Gill B. S. 1984. Translocation and other caryotypic structural changes in wheat x rye hybrids regenerated from tissue culture. Theor. Appl. Gen. 68: 547 — 554.
- Legg P. D., Litton C. C., Collins G. B. 1981. Effects of the *Nicotiana debneyi* black root rot resistance factor on agronomic and chemical traits in burley tobacco. Theor. Appl. Genet. 60: 365 — 368.
- Lewis R. S. 2005. Transfer of resistance to potato virus Y (PVY) from *Nicotiana africana* to *Nicotiana tabacum*: possible influence of tissue culture on the rate of introgression. Theor. Appl. Genet. 110: 678 — 687.
- Lucas G. B. 1975. Diseases of tobacco. Biological Consulting Assoc, Raleigh, N.C.
- Lucas G. B., Gooding G. V. Jr., Sasser J. N., Gerstel D. U. 1980. Reaction of *Nicotiana africana* to black shank, Granville wilt, tobacco mosaic virus and potato virus Y. Tob. Sci. 24: 141 — 142.
- Moav R. 1958. Inheritance in *Nicotiana tabacum*. XXIX. The relationship of residual chromosome homology to interspecific gene transfer. Am. Nat. 92: 267 — 278.
- Noguchi S., Tajima T., Yamamoto Y., Ohno T., Kubo T. 1999. Deletion of a large genomic segment in tobacco varieties that are resistant to potato virus Y (PVY). Mol. Gen. Genet. 262: 822 — 829.
- Verrier J. L. 2001. PVY Collaborative Experiment. Altadis, Institut du Tabac, Bergerac, France.
- Verrier J. L., Marchand V., Cailleteau B., Delon R. 2001. Chemical change and cigarette smoke mutagenity increase associated with CMV-DTL and PVY-N infection in burley Tobacco. Bull. Inf. CORESTA, Cape Town: 1 p.
- Wen C., Wu Y., Li H., Wang H., Liu Q. 1999. Influences on photosynthesis and respiration of tobacco infected by potato virus Y — vein necrosis strain. Bull. Inf. CORESTA Suzhou, China: 10 — 11.
- Wernsman E. A. 1992. Source of resistance to virus diseases. CORESTA Inf. Bull. 3/4: 113 — 119.

DOROTA LASKOWSKA

APOLONIUSZ BERBEC

Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa — Państwowy Instytut Badawczy w Puławach

Nowa męskosterylna linia *Nicotiana tabacum* L. z cytoplazmą *N. wuttkei* Clarkson et Symon

The new alloplasmic *Nicotiana tabacum* L. line with *Nicotiana wuttkei* Clarkson et Symon cytoplasm

Męska sterylność, spowodowana interakcją między genomami: jądrowym i cytoplazmatycznym, pochodzącymi od dwóch różnych gatunków, jest wykorzystywana w hodowli mieszańców F_1 tytoniu. Nową linię męskosterylną tytoniu szlachetnego otrzymano w wyniku wprowadzenia jądra *N. tabacum* odmiany Wiślica ($2n = 48$) do cytoplazmy dzikiego gatunku *Nicotiana wuttkei* Clarkson et Symon ($2n = 32$), odkrytego w 1984 roku w Australii. Mieszańcem wyjściowym był otrzymany wcześniej amphidiploid *N. wuttkei* $\times$ *N. tabacum* ($2n=80$). W pierwszym etapie otrzymano formę seskwidiploidalną ($2n=64$), wytwarzającą pyłek o płodności od 0% do 40%, którą w ciągu sześciu kolejnych pokoleń krzyżowano wstecznie z *N. tabacum*. Rośliny uzyskanej w ten sposób linii alloplazmatycznej *N. tabacum* odmiany Wiślica z cytoplazmą *N. wuttkei* były całkowicie męskosterylne, lecz zachowały pełną płodność żeńską. Stwierdzono modyfikacje morfologiczne organów kwiatowych takie jak: postrzępiona korona kwiatowa, wystający słupek oraz brak pręcików. Porównano cechy wzrostu i rozwoju formy męskosterylnej z cytoplazmą *N. wuttkei* i komercyjnie wykorzystywanych linii alloplazmatycznych tytoniu. Stwierdzono silniejszy ujemny wpływ cytoplazmy *N. wuttkei* niż cytoplazm: *N. tabacum*-mutant, *N. bigelovii* i *N. suaveolens* na wysokość roślin, liczbę i wielkość liści oraz długość okresu do kwitnienia u odpowiednich linii męskosterylnych wyprowadzonych z odmiany Wiślica.

Słowa kluczowe: cytoplazmatyczna męska sterylność, krzyżowanie międzygatunkowe, *Nicotiana tabacum*, *Nicotiana wuttkei*, tytoń szlachetny

Cytoplasmic-nuclear male sterility (cms) is an important biological tool, which has been used by plant breeders to produce commercial hybrid cultivars. A new source of cytoplasmic male sterility in tobacco with interspecific origin is reported. The new wild species *Nicotiana wuttkei* Clarkson et Symon ($2n = 32$), which was discovered in Australia in 1984, is used as the donor of cytoplasm. The nuclear donor is *N. tabacum* L. cv. Wiślica ($2n = 48$). Alloplasmic *N. tabacum* cv. Wiślica cms *wuttkei* was developed in a backcrossing program from the amphidiploid *N. wuttkei* $\times$ *N. tabacum* ($2n = 80$), developed in a previous study. In the first step, sesquidiploid plants ($2n = 64$) were produced, at 0% to 40% pollen germination. Sesquidiploid plants were back-crossed with the *N. tabacum* cv. Wiślica for six successive generations and an alloplasmic line were obtained. The plants of the alloplasmic line were male sterile, while their female fertility was normal. The phenotypic effect of *N. wuttkei* cytoplasm included ragged corolla, protruding stigma, absence of stamens and modified plant habit. Some growth and development traits of *N. tabacum* cv. Wiślica cms *wuttkei* were compared with those of

commercially exploited tobacco alloplasmic lines. Plants of *cms wuttkei* were shorter, had fewer and smaller leaves and flowered later than those of *cms tabacum*-mutant, *cms bigelovii* or *cms suaveolens*.

Key words: cytoplasmic male sterility, interspecific hybridization, *Nicotiana tabacum*, *Nicotiana wuttkei*, tobacco

WSTĘP

W Zakładzie Hodowli i Uprawy Roślin Specjalnych IUNG-PIB w Puławach znajduje się kolekcja 16 linii alloplazmatycznych tytoniu utworzonych z wykorzystaniem genomu jądrowego odmiany Wiślica. Linie z cytoplazmą gatunków: *N. amplexicaulis*, *N. raimondii*, *N. knightiana*, *N. exigua*, *N. eastii*, *N. glauca*, *N. tabacum*-mutant otrzymano w wyniku prac hodowlanych prowadzonych w IUNG (Berbeć, 1966; Berbeć, 1974; Berbeć i Berbeć, 1992; Berbeć i Doroszevska, 1992). Cytoplazmatyczna męska sterylność jest wykorzystywana w hodowli i nasiennictwie tytoniu. W zależności od rodzaju obcej cytoplazmy i jej wpływu na wzrost i rozwój roślin, poszczególne linie alloplazmatyczne mają różną wartość użytkową.

Celem pracy było wyhodowanie nowej linii męskosterylnej tytoniu odmiany Wiślica z cytoplazmą *N. wuttkei*, gatunku odkrytego w 1984 roku w Australii (Clarkson i Symon, 1991).

MATERIAŁ I METODY

Materiałem wyjściowym były: otrzymany wcześniej mieszańiec amfidiploidalny *N. wuttkei* × *N. tabacum* odmiana Wiślica, zawierający po dwa haploidalne genomy każdego z tych gatunków (WWTT, $2n = 80$) (Laskowska, 2004) oraz odmiana *N. tabacum* — Wiślica (TT, $2n = 48$). Mieszańca powstałego w wyniku krzyżowania form wyjściowych, posiadającego dwa haploidalne genomy *N. tabacum* i jeden haploidalny genom *N. wuttkei* nazywano seskwidiploidem (WTT, $2n = 64$).

Krzyżowanie prowadzono w warunkach szklarniowych. Przed zapyleniem kwiaty kastrowano, a następnie na znamiona słupków nanoszono pyłek uzyskany z wcześniej zebranych pylników. Określano liczbę chromosomów w komórkach młodych płatków korony metodą Burns (1964) oraz obliczano liczbę biwalentów w metafazie I mejozy w komórkach macierzystych pyłku (KMP) (Burns, 1982). Płodność pyłku obliczano jako procent dojrzałych ziaren barwiących się acetokarminem. Liczono zapyłone kwiaty, zebrane torebki nasienne, nasiona uzyskane z jednej torebki nasiennej oraz określano zdolność kiełkowania nasion i żywotność siewek (jako procent roślin, które nie zamierały w stadium liścieni).

Linie męskosterylną *N. tabacum cms wuttkei* pokolenia BC₆ porównano w warunkach polowych z liniami *cms suaveolens*, *cms tabacum*-mutant i *cms bigelovii* oraz płodną odmianą *N. tabacum* — Wiślicą pod względem wysokości roślin, liczby liści, powierzchni liścia środkowego oraz początku kwitnienia roślin. Rośliny rosły w rozstawie 90 × 40 cm, na poletkach o powierzchni 18,8 m², w dwóch powtórzeniach. Zastosowano standardową agrotechnikę opracowaną dla tytoniu typu Virginia. Do pomiarów i obserwacji wybierano

losowo po 10 roślin z każdego poletka. Powierzchnię liścia środkowego podawano według wzoru: długość liścia $\times$ szerokość liścia $\times$ 0,6345 (Suggs i in., 1960).

Wyniki obserwacji i pomiarów opracowano statystycznie, przeprowadzając analizę wariancji przy poziomie ufności $\alpha = 0,05$. Grupy jednorodnie wyznaczono w oparciu o test Duncana.

WYNIKI

Rośliny amfiploidalne skrzyżowano z odmianą *N. tabacum* — Wiślicą i otrzymano 29 roślin seskwidiploidalnych, z których większość miała 64 chromosomy w komórkach somatycznych, jedynie u 4 roślin stwierdzono obecność 62 chromosomów. Płodność pyłku roślin seskwidiploidalnych wynosiła od 0 do blisko 40% (tab. 1).

Tabela 1

Cytologia seskwidiploida *N. wuttkei* $\times$ *N. tabacum* oraz krzyżowań wstecznych
Cytology of *N. wuttkei* $\times$ *N. tabacum* sesquidiploid and postsesquidiploid generations

Pokolenie Generation	Liczba badanych roślin No. of plants examined	Liczba badanych KMP No. of PMCs examined	Liczba chromosomów w komórkach somatycznych No. of somatic chromosomes	Średnia liczba biwaleńców na komórkę Mean bivalent number	Płodność pyłku (%) Pollen viability (%)
Seskwidiploid Sesquidiploid	29	104	62–64	23,8	0,0–38,6
BC ₁	20	—	48–54	—	brak pyłku lack of pollen
BC ₂	20	—	48–50	—	brak pyłku lack of pollen

Rośliny seskwidiploidalne były samo-sterylne, lecz część z nich była zdolna do wiązania nasion po zapyłaniu Wiślicą. Ich cechą charakterystyczną była niska zdolność kiełkowania nasion i słaba żywotność siewek, a także bardzo mała średnia liczba nasion w jednej torebce nasiennej, która jednak wzrastała w pokoleniach z krzyżowań wstecznych (tab. 2).

Tabela 2

Żywotność i płodność seskwidiploida *N. wuttkei* $\times$ *N. tabacum* oraz krzyżowań wstecznych
Viability and fertility of *N. wuttkei* $\times$ *N. tabacum* sesquidiploid and postsesquidiploid generations

Pokolenie Generation	Zdolność kiełkowania nasion (%) Seed germination capacity (%)	Żywotność siewek (%) Seedlings viability (%)	Zbrane torebki nasienne (%) Seed capsules collected (%)	Średnia liczba nasion w 1 torebce nasiennej Mean no. of seeds per capsule
Seskwidiploid Sesquidiploid	29,7	10,2	32,8	15,7
BC ₁	42,3	12,8	36,8	58,9
BC ₂	51,3	41,1	62,4	119,6
BC ₆	98,0	100,0	90,0	2500,0



Rys. 1. Budowa kwiatu *N. tabacum* cv. Wiślica (a) i kwiatów roślin pokolenia BC₁ (b-g)
Fig. 1. Flower structure of *N. tabacum* cv. Wiślica (a) and the flowers of BC₁ generation plants (b-g)



Rys. 2. Budowa kwiatu linii *N. tabacum* cv. Wiślica cms *wuttkei* BC₆ (u góry) w porównaniu z budową kwiatu płodnej odmiany Wiślica (u dołu)
Fig. 2. Flower structure of *N. tabacum* cv. Wiślica cms *wuttkei* BC₆ line (at the top) in comparison with fertile cultivar Wiślica (at the bottom)

Zapylenie formy seskwidiploidalnej pyłkiem odmiany Wiślica pozwoliło otrzymać rośliny pokolenia BC₁, zawierające w komórkach somatycznych od 48 do 54 chromosomów (tab. 1). Rośliny pokolenia BC₁ były bardzo zróżnicowane pod względem morfologicznym. Charakterystyczne były modyfikacje w budowie kwiatu, w tym różne rodzaje degradacji pręcików, prowadzące do męskiej niepłodności (rys. 1). W wyniku dalszych pięciu krzyżowań wstecznych z *N. tabacum* i rygorystycznej selekcji według typu rodzica wypierającego otrzymano ustaloną linię alloplazmatyczną z cytoplazmą *N. wuttkei* i pełnym genomem jądrowym *N. tabacum* odmiany Wiślica, charakteryzującą się całkowitym brakiem pylników oraz postrzępioną, lekko skróconą koroną kwiatową (rys. 2).

Linia *N. tabacum* cms *wuttkei* w porównaniu do odmiany wyjściowej Wiślica oraz komercyjnie wykorzystywanych linii męskosterylnych z cytoplazmą *N. tabacum*-mutant, *N. bigelovii* i *N. suaveolens* charakteryzowała się niższym wzrostem, mniejszą liczbą liści o mniejszej powierzchni oraz późniejszym zakwitaniem (tab. 3). Różnice te nie były istotne jedynie w porównaniu do linii cms *suaveolens* dla powierzchni liścia środkowego oraz w porównaniu do linii cms *tabacum*-mutant i cms *suaveolens* dla liczby dni do kwitnienia.

Tabela 3

Niektóre cechy wzrostu i rozwoju odmiany *N. tabacum* cv. Wiślica i jej izogenicznych analogów z cytoplazmą *N. wuttkei*, *N. tabacum*-mutant, *N. bigelovii* i *N. suaveolens*. Między wartościami oznaczonymi tymi samymi literami brak istotnych różnic

Some growth and development features of *N. tabacum* cv. Wiślica cultivar and its iso-genomic counterparts with *N. wuttkei*, *N. tabacum*-mutant, *N. bigelovii* and *N. suaveolens* cytoplasm. Values that share the same superscript are not significantly different

Genotyp Genotype	Wysokość roślin (cm) Plant high (cm)	Liczba liści Leaf number	Powierzchnia liścia środkowego (cm ²) Leaf area (cm ²)	Liczba dni do kwitnienia Days to flower
mf	199,3 ^{bc}	24,4 ^b	1180,1 ^c	78 ^a
cms <i>wuttkei</i>	160,3 ^a	19,5 ^a	940,6 ^a	95 ^c
cms <i>tabacum</i> (mut.)	197,0 ^b	22,9 ^b	1172,2 ^{bc}	91 ^c
cms <i>bigelovii</i>	205,7 ^c	23,6 ^b	1079,5 ^{bc}	82 ^{ab}
cms <i>suaveolens</i>	199,1 ^{bc}	23,9 ^b	1043,1 ^{ab}	88 ^{bc}
NIR _(α=0,05)	7,55	1,75	136,48	8,09
LSD _(α=0,05)				

DYSKUSJA

W pierwszym etapie prac hodowlanych, w wyniku zapylenia amfidiploida *N. wuttkei* × *N. tabacum* pyłkiem odmiany uprawnej Wiślica, powstał mieszaniec seskwidiploidalny. Według terminologii podanej przez Goodspeeda (1954) oraz Chaplina i Manna (1961) określenia seskwidiploid używa się dla mieszańców *Nicotiana* zawierających dwa haploidalne genomy *N. tabacum* i jeden gatunku dzikiego. Mieszaniec seskwidiploidalny gatunków *N. wuttkei* i *N. tabacum* odmiany Wiślica zawierał cytoplazmę *N. wuttkei* i prawdopodobnie około 75% materiału genetycznego *N. tabacum*. Zapylenie wsteczne formy seskwidiploidalnej pyłkiem *N. tabacum* odmiany Wiślica prowadziło do powstania roślin pokolenia BC₁, charakteryzujących się rozszczepieniem cech morfologicznych

i różnym rodzajem deformacji w budowie korony kwiatowej oraz pylników. Zróżnicowanie roślin pokolenia BC₁ było spowodowane różną liczbą chromosomów w komórkach somatycznych poszczególnych roślin, a także zakłóceniami powodowanymi przez połączenie cytoplazmy *N. wuttkei* z czynnikami jądrowymi o przewodzie chromosomów *N. tabacum* odmiany Wiślica.

Dalsze krzyżowanie wsteczne z *N. tabacum* dało w rezultacie linię alloplazmatyczną z cytoplazmą *N. wuttkei* i jądrowymi czynnikami genetycznymi *N. tabacum*, o dość charakterystycznej modyfikacji kwiatów. U form alloplazmatycznych tytoniu największe zmiany w budowie kwiatu dotyczą zwykle pręcików, które mogą być całkowicie zredukowane, przekształcone w twory płatkowate lub słupkowate lub mieć skrócone nitki. Słupek rzadziej podlega modyfikacjom, zmiany polegają najczęściej na skróceniu słupka, czasem występuje staśmienie lub wielokrotne znamiona słupka. Największą modyfikacją korony kwiatowej bywa jej skrócenie, które powoduje, że słupek wystaje ponad koronę (Nikova i Tsikov, 1976; Gerstel, 1980; Berbeć, 2001; Berbeć i Laskowska, 2005). U linii cms *wuttkei* występuje całkowity brak pręcików, podobnie jak w przypadku opisywanych w powyższych pracach linii męskosterylnych z cytoplazmą *N. tabacum*-mutant, *N. glauca*, *N. suaveolens*, *N. bigelovii*, *N. megalosiphon*, *N. undulata*, *N. debneyi*. Słupek jest normalny, podobnie jak u większości alloplazmatyków tytoniu. Dość nietypowa postrzępiona korona kwiatowa, charakterystyczna dla linii cms *wuttkei*, występuje także u kombinacji z cytoplazmą *N. debneyi* (Sand, 1968).

Otrzymana cytoplazmatyczna męska sterylność, uwarunkowana oddziaływaniem cytoplazmy *N. wuttkei*, dziedziczy się w linii matecznej, niezależnie od użytej formy ojcowskiej, a w zaawansowanych pokoleniach z krzyżowań wypierających nie występuje segregacja na rośliny męsko-sterylne i męsko-płodne.

Zmniejszenie powierzchni i liczby liści oraz mniejsza wysokość roślin są najczęstszymi efektami wpływu obcej cytoplazmy na wzrost i rozwój linii alloplazmatycznych tytoniu (Chaplin, 1964; Legg i in., 1974; Berbeć i Laskowska, 2004; Berbeć i Laskowska, 2005). Ponieważ rośliny alloplazmatycznego anologa odmiany Wiślica z cytoplazmą *N. wuttkei* były niższe, zakwitały później i miały liście o mniejszych wymiarach w porównaniu do roślin wyjściowej odmiany płodnej, linia ta prawdopodobnie nie będzie miała zastosowania w komercyjnej produkcji mieszańców F₁ tytoniu.

WNIOSKI

1. Linie męskosterylne *N. tabacum* odmiany Wiślica z cytoplazmą *N. wuttkei* można uzyskać w wyniku wielokrotnego krzyżowania wstecznego amfidiploidalnej formy *N. wuttkei* × *N. tabacum* cv. Wiślica z *N. tabacum* cv. Wiślica.
2. Cytoplazmatyczna męska sterylność uwarunkowana oddziaływaniem cytoplazmy *N. wuttkei* dziedziczy się w linii matecznej, niezależnie od użytej formy ojcowskiej, a w zaawansowanych pokoleniach z krzyżowań wypierających nie występuje segregacja na rośliny męsko-sterylne i męsko-płodne.
3. Porównując linie męskosterylne wyprowadzone z odmiany Wiślica, stwierdzono silniejszy ujemny wpływ cytoplazmy *N. wuttkei* niż cytoplazm: *N. tabacum*-mutant,

N. bigelovii i *N. suaveolens* na wysokość roślin, liczbę i wielkość liści oraz długość okresu do kwitnienia.

LITERATURA

- Berbec A. 2001. Floral morphology and some other characteristics of iso-genomic alloplasmics of *Nicotiana tabacum* L. Beitr Tabakforsch 19 (6): 309 — 314.
- Berbec A., Doroszevska T. 1992. Alloplazmatyczne formy tytoniu uprawnego (*Nicotiana tabacum* L.) z podstawioną cytoplazmą gatunków *Nicotiana amplexicaulis*, *N.knightiana* i *N.raimondii*. Pam. Puł. 100: 141 — 150.
- Berbec A., Laskowska D. 2004. Agronomic performance of flue-cured tobacco F₁ hybrids obtained with different sources of male sterile cytoplasm. Beitr Tabakforsch 21(4): 234 — 239.
- Berbec A., Laskowska D. 2005. Investigations of isogenomic alloplasmics of flue-cured tobacco *Nicotiana tabacum* cv. Wislica. Beitr Tabakforsch 21(5): 258 — 263.
- Berbec J. 1966. Badania nad krzyżówką *Nicotiana glauca* × *N.tabacum*. Pam. Puł. 21: 195 — 209.
- Berbec J. 1974. A cytoplasmic male sterile mutant form of *Nicotiana tabacum* L. Zeit. Pflzucht. 73: 204 — 216.
- Berbec J., Berbec A. 1992. Męska jałowość u tytoniu (*Nicotiana tabacum* L.) uzyskana droga jednoetapowego podstawienia cytoplazmy gatunku *Nicotiana eastii* Kostoff. Pam Puł. 100: 136 — 139.
- Burns J. A. 1964. A technique for making preparations of mitotic chromosomes from *Nicotiana* flowers. Tob. Sci. 8: 1 — 2.
- Burns J.A. 1982. The chromosomes of *Nicotiana africana* Merxm.: a recently discovered species. J. Hered. 73: 115 — 118.
- Chaplin J. F. 1964. Use of male sterile tobaccos in the production of hybrid seed. Tob. Sci. 8: 105 — 109.
- Chaplin J. F., Mann T.J. 1961. Interspecific hybridization, gene transfer and chromosome substitution in *Nicotiana*. North Carolina Expt. Stat. Tech. Bull. 145: 1 — 31.
- Clarkson J. R., Symon D. E. 1991. *Nicotiana wuttkei* (Solanaceae), a new species from north-eastern Queensland with an unusual chromosome number. Austrobaileya 3 (3): 389 — 392.
- Gerstel D. U. 1980. Cytoplasmic male sterility in *Nicotiana* (A review). North Carolina Agric. Res. Service Tech. Bul. 263: 1 — 31.
- Goodspeed T. H. 1954. The genus *Nicotiana*. Chronica Botanica. Waltham, Mass., USA.
- Laskowska D. 2004. Analiza cytologiczna i płodność roślin mieszańcowych *Nicotiana wuttkei* Cl. et S. × *N. tabacum* L. odm. Wiślica. Genetyka w ulepszaniu roślin użytkowych, Instytut Genetyki Roślin PAN, Poznań, Rozprawy i monografie 11: 75 — 80.
- Legg P. D., Collins G. B., Litton C. C. 1974. Cytoplasmic male sterility and the utilization of hybrids in burley tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). Tob. Sci. 18: 167 — 169.
- Nikova V., Tsikov D. 1976. Comparative investigations on flower morphogenesis in various tobacco sources of cytoplasmic male sterility. Genet. Plant Breed. (Sofia) 9: 362 — 374.
- Sand S. A. 1968. Genetic modification of cytoplasmic male sterility in tobacco. J. Hered. 59: 175 — 177.
- Suggs C. W., J. F. Beeman, Splinter W. E. 1960. Physical properties of green Virginia-type tobacco leaves. Part. III. Relation of leaf length and width to leaf area. Tobacco Science 4: 194 — 197.

SPIS TREŚCI — CONTENTS

Dariusz R. Mańkowski Tadeusz Oleksiak	Czynniki determinujące stosowanie kwalifikowanego materiału siewnego w gospodarstwach rolnych Factors determining application of certified seed material in farms	5
Tadeusz Oleksiak Dariusz R. Mańkowski	Wpływ terminu siewu na plonowanie pszenicy ozimej na podstawie wyników badań ankietowych The effect of sowing date on winter wheat basing on survey research results	21
Zbigniew Laudański Dariusz R. Mańkowski Leszek Sieczko	Próba oceny technologii uprawy pszenicy ozimej na podstawie danych ankietowych gospodarstw indywidualnych Część I. Metoda wyodrębniania technologii uprawy Attempt to evaluate winter wheat cultivation technology on the basis of survey data from individual farms Part I. Method of selection of cultivation technology	33
Zbigniew Laudański Dariusz R. Mańkowski Leszek Sieczko	Próba oceny technologii uprawy pszenicy ozimej na podstawie danych ankietowych gospodarstw indywidualnych Część II. Ocena technologii uprawy Attempt to evaluate winter wheat cultivation technology on the basis of survey data from individual farms Part II. Evaluation of cultivation technology	45
Aleksandra Pietrusińska Paweł Cz. Czembor	Ocena wybranych metod izolacji DNA pod względem ich przydatności w hodowli pszenicy Evaluation of selected DNA isolation methods for wheat breeding purposes	59
Jerzy Zientarski Jacek Waga	Białka gluteninowe o niskiej masie cząsteczkowej jako markery biochemiczne w hodowli pszenicy Low molecular weight glutenins as biochemical marks in wheat breeding	69
Jacek Waga Jerzy Zientarski	Strategie wytwarzania genotypów pszenicy o obniżonej zdolności wywoływania alergii i celiakii Strategies for development of hypoallergenic wheat genotypes	79
Katarzyna Pankiewicz Tadeusz Adamski Zygmunt Kaczmarek Maria Surma Michał Rębarz	Molekularne i fenotypowe zróżnicowanie odmian i linii podwojonych haploidów pszenicy (<i>Triticum aestivum</i> L.) Molecular and phenotypic differentiation of wheat (<i>Triticum aestivum</i> L.) varieties and their doubled haploid lines	91
Przemysław Matysik Zygmunt Nita Ewelina Matysik	Skuteczność kryteriów selekcji pszenicy ozimej w pokoleniu F ₄ na podstawie komponentów plonu Effectiveness of selection criteria applied in F ₄ progeny of winter wheat on the basis of yield components	99

Roman Prażak	Zmienność i współzależność niektórych cech ilościowych oraz zawartość białka ogółem w ziarnie mieszańców <i>Aegilops juvenalis</i> (Thell.) Eig. i <i>Aegilops ventricosa</i> Tausch. z wybranymi gatunkami (4×, 6×) <i>Triticum</i> L. Variability and interrelationship of some quantitative traits and total protein content in kernels of hybrids <i>Aegilops juvenalis</i> (Thell.) Eig. and <i>Aegilops ventricosa</i> Tausch. with tetraploid and hexaploid wheat <i>Triticum</i> L. cultivars	111
Wiesław Mądry Dariusz Gozdowski Jan Rozbicki Mirosław Pojmaj Stanisław Samborski	Formowanie się plonu ziarna przez jego składowe u rodów hodowlanych pszenżyta ozimego w różnych warunkach środowiskowych Grain yield formation strategies in advanced lines of winter triticale grown in different environments	127
Zofia Banaszak Piotr Kaźmierczak Arkadiusz Trąbka Barbara Apolinarska Jan Bocianowski	Wpływ wybranych czynników na wyrównanie odmian pszenżyta The influence of some factors on uniformity of triticale cultivars	145
Halina Góral Mirosław S. Pojmaj Renata Pojmaj	Frekwencja genotypów dopełniających i restorujących dla systemu cms- <i>T. timopheevi</i> u pszenżyta ozimego Frequency of maintainer and restorer genotypes for the cms- <i>T. timopheevi</i> system winter triticale	155
Stefan Stojałowski	Polimorfizm markerów STS i SSR w obrębie linii wsobnych żyta Polymorphism of STS and SSR markers in rye inbred lines	161
Tadeusz Śmiałowski Stanisław Węgrzyn	Sposoby epistatycznego działania genów u żyta ozimego The ways of epistatic action of genes in winter rye	173
Renata Tobiasz-Salach Dorota Bobrecka-Jamro Ewa Szpunar-Krok Jan Buczek	Ocena wartości gospodarczej odmian owsa nagoziarnistego uprawianych w rejonie Podkarpacia Estimation of the economic value of hull-less oat cultivars grown in the Podkarpackie region	183
Zbigniew Broda Agnieszka Tomkowiak Krzysztof Moliński Józef Adamczyk	Badanie podobieństwa genetycznego pomiędzy formami rodzicielskimi mieszańców liniowych kukurydzy przy użyciu markerów molekularnych AFLP i RAPD The evaluation of genetic similarity between parental components of maize hybrids by means of molecular markers AFLP and RAPD	191
Hanna Gołębiowska Maria Kowalczyk	Wrażliwość kilku odmian kukurydzy i ich form rodzicielskich na herbicydy sulfonilomocznikowe Susceptibility of some hybrid cultivars of maize and their parental forms to sulfonilurea herbicides	203
Sebastian Brzozowski	Reakcje krzyżowe przeciwciał poliklonalnych w teście immunofluorescencji pośredniej (IFAS) stosowanym do wykrywania <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>sepedonicus</i> Cross-reactions of polyclonal antibodies in the immuno-fluorescence antibody staining (IFAS) test used for detecting <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>sepedonicus</i>	215

Józefa Kapsa	Zastosowanie pułapki Burkarda do określania składu gatunkowego rodzaju <i>Alternaria</i> w uprawach ziemniaka Application of the Burkard spore trap to determine a composition of the genus <i>Alternaria</i> in potato crops	223
Jan Buczek Ewa Szpunar-Krok Renata Tobiasz-Salach Dorota Bobrecka-Jamro	Wpływ herbicydów powszodowych na zachwaszczenie i plonowanie bobiku The effect of post-emergence herbicides on weed infestation and yielding of faba bean	231
Zbigniew Bodzon	Wykorzystanie mutacji genowych do ulepszania produktywności nasiennej lucerny (<i>Medicago sativa</i> L.) The usefulness of gene mutation for the improvement of seed yield productivity in alfalfa (<i>Medicago sativa</i> L.)	239
Krzysztof Klimont	Przydatność wybranych gatunków roślin miododajnych do rekultywacji osadników wapna poflotacyjnego wzbogaconego osadami ścieków komunalnych The application of some species of honey plants in reclamation of tanks of flotation lime enriched with municipal sewage	249
Urszula Skomra	Ocena materiałów hodowlanych chmielu zwyczajnego pod względem odporności na mączniaka prawdziwego The assessment of resistance to powdery mildew in hop breeding material	259
Mieczysław Stasiak	Wpływ rodzaju sadzonek na plonowanie chmielu The influence of a kind of cuttings on hop yielding	267
Teresa Doroszevska	Uzyskanie stabilnych linii hodowlanych tytoniu z czynnikami odporności na różne izolaty wirusa Y ziemniaka (PVY) od dzikiego gatunku <i>Nicotiana africana</i> Merxm. Obtaining of stable tobacco breeding lines with resistance factors to different PVY isolates from the wild species <i>Nicotiana africana</i> Merxm.	273
Dorota Laskowska Apoloniusz Berbeć	Nowa męskosterylna linia <i>Nicotiana tabacum</i> L. z cytoplazmą <i>N. wuttkei</i> Clarkson et Symon The new alloplasmic <i>Nicotiana tabacum</i> L. line with <i>Nicotiana wuttkei</i> Clarkson et Symon cytoplasm	289