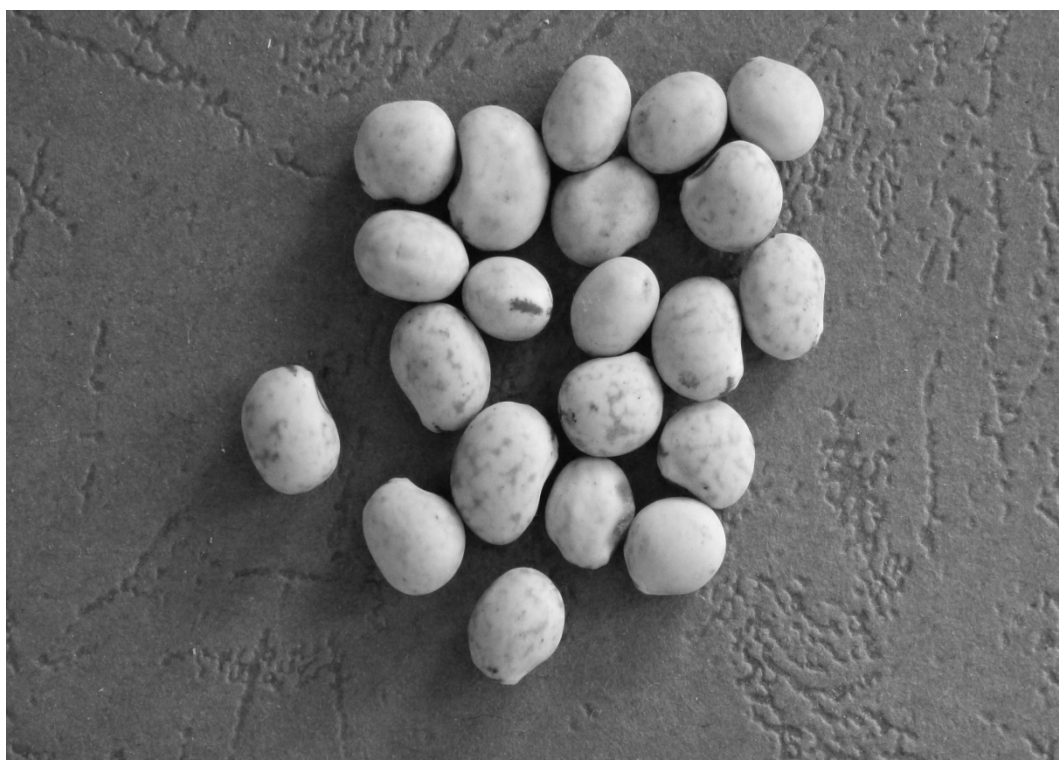




Nasiona łubinu wąskolistnego odm. Tango

Fot. Elżbieta Małuszyńska

BIULETYN
INSTYTUTU HODOWLI
I AKLIMATYZACJI ROŚLIN
Nr 263/2012



Nasiona łąbinu wąskolistnego odmiany Tango. Fot. *Elżbieta Małuszyńska*

RADZIKÓW 2012
INSTYTUT HODOWLI I AKLIMATYZACJI ROŚLIN
PAŃSTWOWY INSTYTUT BADAWCZY — RADZIKÓW
05-870 BŁONIE pod WARSZAWĄ

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

Komitety Redakcyjne:

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

ROMAN PRAŻAK

Katedra Biologii Roślin, Wydział Nauk Rolniczych w Zamościu
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Cechy morfologiczne i płodność mieszańców niektórych gatunków rodzaju *Aegilops* sp. z pszenicą heksaploidalną *Triticum aestivum* L.

Morphological traits and fertility of hybrids of some *Aegilops* species with hexaploid wheat *Triticum aestivum* L.

W warunkach polowych wykonano krzyżowania między gatunkami *Aegilops biuncialis* Vis., *Ae. columnaris* Zhuk., *Ae. cylindrica* Host., *Ae. triaristata* Willd. 4x, *Ae. variabilis* (*peregrina*) Eig, *Ae. crassa* Boiss. 6x a odmianami *Triticum aestivum* L. (Begra, Legenda, Rusalka, Zyta). Celem krzyżowań było poszerzenie zmienności genetycznej pszenicy zwyczajnej. Z uzyskanych 18-dniowych mieszańcowych ziarniaków F₁ w warunkach *in vitro* izolowano zarodki i podkiełkowano je na pożywce MS z dodatkiem 10 mg dcm⁻³ IAA (kwas β-indolilo-3-octowy) i 0,04 mg dcm⁻³ kinetyny. Po 4 tygodniach rośliny mieszańcowe, które rozwinęły się z zarodków, przesadzono do doniczek, a następnie w połowie września wysadzono je na polu doświadczalnym. Na wiosnę po ruszeniu wegetacji rośliny mieszańcowe kolchicynowano. W fazie dojrzałości pełnej na roślinach mieszańcowych F₁ dokonano pomiarów następujących cech biometrycznych — krzewienia ogólnego, długości pędu głównego, średnicy drugiego od dołu międzywęzła, długości osadki kłosowej kłosa głównego, zbitości kłosa głównego (liczba kłosek na 1 dcm osadki kłosowej) i płodności kłosa głównego (liczba ziarniaków na 1 kłosek). Większość mieszańców F₁ charakteryzowały się silnym krzewieniem, podobnym do dzikich gatunków rodzicielskich (33,5–124,0 źdźbeł), zbliżoną do pszenic długością pędu głównego (87,0–98,0 cm) i osadki kłosowej (0,7–1,3 dcm), pośrednią średnicą 2. od dołu międzywęzła (2,2–3,7 mm) i zbitością kłosa głównego (10,4–14,9) oraz istotnie niższą płodnością (0,0–1,3). Wśród nich najwyższą płodnością wyróżnił się mieszaniec *T. aestivum* L. cv. Zyta × *Ae. cylindrica* Host. Uzyskanie mieszańców F₁ *Aegilops* sp. z *T. aestivum* L. jest pierwszym etapem umożliwiającym wyselekcjonowanie roślin o wysokiej zawartości białka i mikroelementów (żelaza i cynku) w ziarnie oraz tolerancyjnych na suszę i choroby grzybowe.

Słowa kluczowe: *Ae. biuncialis* Vis., *Ae. columnaris* Zhuk., *Ae. cylindrica* Host., *Ae. triaristata* Willd. 4x, *Ae. variabilis* (*peregrina*) Eig, *Ae. crassa* Boiss. 6x, cechy morfologiczne pędu i kłosa, mieszańce F₁, płodność, *Triticum aestivum* L.

In the field conditions crosses were carried out between *Aegilops biuncialis* Vis., *Ae. columnaris* Zhuk., *Ae. cylindrica* Host., *Ae. triaristata* Willd. 4x, *Ae. variabilis* (*peregrina*) Eig, *Ae. crassa* Boiss. 6x and *Triticum aestivum* L. (cvs. Begra, Legenda, Rusalka, Zyta). The aim of the crosses was to broaden genetic diversity of common wheat. The 18-day-old F₁ hybrid embryos isolated from kernels were grown *in vitro* on the MS nutrient medium supplemented with 10 mg dcm⁻³ IAA (β-indolyl-3-

acetic acid) and 0.04 mg dcm⁻³ kinetin. After 4 weeks hybrids plants, which developed from isolated embryos, were transferred into pots. Next, in half of September they were planted in experimental field. In spring at the start of vegetation period the hybrid plants were treated with colchicine. In laboratory investigations, fully mature F₁ hybrid plants were analyzed for biometrical traits such as total tillering, length of main tiller, diameter of the second internode from the plant base, spike rachis length, main spike compactness (number of spikelets per 1 dcm of the spike rachis), main spike fertility (number of grains per 1 spikelet). Tillering of most hybrids was strong and similar as in the *Aegilops* species (33.5–124.0 tillers), length of main tiller (87.0–98.0 cm) and spike rachis (0.7–1.3 dcm) were similar to the wheat cultivars. Hybrids had intermediate diameter of the second internode (2.2–3.7 mm) and spike compactness (10.4–14.9) and significantly lower fertility (0.0–1.3) in comparison to parental forms. The fertility of *T. aestivum* L. cv. Zyta × *Ae. cylindrica* Host. hybrid was outstanding. Obtaining F₁ *Aegilops* sp. with *T. aestivum* L. hybrids is the first step allowing to select plants showing high content of protein and microelements (iron and zinc) in kernels and tolerance to drought and fungal diseases.

Key words: *Ae. biuncialis* Vis., *Ae. columnaris* Zhuk., *Ae. cylindrica* Host., *Ae. triaristata* Willd. 4x, *Ae. variabilis* (*peregrina*) Eig, *Ae. crassa* Boiss. 6x, F₁ hybrids, fertility, morphological traits of tiller and spike, *Triticum aestivum* L.

WSTĘP

W wyniku hodowli i selekcji odmiany uprawne pszenicy heksaploidalnej utraciły wiele korzystnych cech jakościowych i odpornościowych. Pula genów gatunku *Triticum aestivum* L. staje się niewystarczająca do wyhodowania nowych odmian pszenicy przewyższających pod względem ważnych rolniczo cech odmiany dotychczas uprawiane. Hodowcy od dawna wykorzystują gatunki z rodzaju *Aegilops* (kozieniec) do udoskonalania pszenicy zwyczajnej. Wybrane do krzyżowań gatunki *Aegilops* takie jak *Ae. biuncialis* Vis., *Ae. columnaris* Zhuk., *Ae. cylindrica* Host., *Ae. triaristata* Willd. 4x, *Ae. variabilis* (*peregrina*) Eig, *Ae. crassa* Boiss. 6x zawierają w ziarniakach znacznie więcej białka ogólnego, aminokwasu lizyny, mikroelementów żelaza i cynku od pszenicy zwyczajnej (Blüthner i Schumann, 1988; Prażak, 2004; Rawat i in., 2009). Kozieńce *Ae. biuncialis* Vis., *Ae. columnaris* Zhuk., *Ae. triaristata* Willd. 4x, *Ae. variabilis* (*peregrina*) Eig wykazały się odpornością na rdze i mączniaka prawdziwego (Frauenstein i Hammer, 1985; Bai i in., 1994; Spetsov i in., 1997; Prażak, 2007). *Ae. biuncialis* Vis., *Ae. columnaris* Zhuk., *Ae. cylindrica* Host., *Ae. crassa* Boiss. 6x, *Ae. triaristata* Willd. 4x i *Ae. variabilis* (*peregrina*) Eig. cechuje wysoka tolerancja na suszę i zasolenie (Gorham, 1990; Farooq i in., 1992; Molnár i in., 2004, 2008; Kilian i in., 2011). U *Ae. variabilis* (*peregrina*) Eig. zlokalizowano geny odporności na nicienie (Coriton i in., 2009).

Najczęściej pierwszym etapem prac mających na celu transfer genów z gatunku *Aegilops* do *Triticum aestivum* L. jest krzyżowanie z tetra- lub heksaploidalnymi gatunkami pszenicy, pokonanie barier niekrzyżowalności i otrzymanie roślin mieszańcowych pierwszego pokolenia. Dalsze etapy polegają na kolejnych krzyżowaniach wstecznych mieszańców lub amfiploidów z pszenicą heksaploidalną, prowadzonych jednocześnie z wszechstronną oceną i selekcją. Mieszańce można identyfikować na podstawie cech morfologicznych, cytologicznych (analiza chromosomów) lub molekularnych (elektroforeza białek, analiza DNA).

Celem przeprowadzonych badań była ocena niektórych cech morfologicznych oraz płodności mieszańców *F₁* *Aegilops* sp. z *Triticum aestivum* L. i ich form rodzicielskich. W pierwszym pokoleniu mieszańców szczególnie wyraźnie uzewnętrznia się wiele cech dzikich, co potwierdza ich mieszańcowość.

MATERIAŁ I METODY

Obiektem badań były mieszańce *F₁* otrzymane w wyniku krzyżowania gatunków *Aegilops* — *Ae. biuncialis* Vis. (genomy *UM*), *Ae. columnaris* Zhuk. (*UM*), *Ae. cylindrica* Host (*CD*), *Ae. triaristata* Willd. 4x (*UM*), *Ae. variabilis* (*peregrina*) Eig (*US*), *Ae. crassa* Boiss. 6x (*DDM*) z odmianami *Triticum aestivum* L. (*ABD*) (Begra, Legenda, Rusalka, Zyta) oraz ich komponenty rodzicielskie. Skład genomowy gatunków *Aegilops* podano za Kimber i Feldman (1987).

Do założenia kolekcji komponentów rodzicielskich wykorzystano ziarniaki otrzymane z Instytutu Hodowli Roślin w Cambridge w Anglii, Instytutu Genetyki, Hodowli Roślin i Biotechnologii Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie oraz z Krajowego Centrum Roślinnych Zasobów Genowych IHAR w Radzikowie. Badane formy wysiano w połowie września na polu doświadczalnym Wydziału Nauk Rolniczych w Zamościu, Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. Rośliny poszczególnych gatunków i odmian rosły na oddzielnych poletkach długości 2 m, w rozstawie 20 × 10 cm, na glebie brunatnej, dobrego kompleksu pszennego, w tych samych warunkach uprawy i nawożenia (NPK = 60–90–110 kg/ha).

Krzyżowanie roślin przeprowadzono ręcznie w warunkach polowych. Z uzyskanych 18-dniowych, mieszańcowych ziarniaków *F₁*, w laboratorium kultur tkankowych, izolowano zarodki i podkiełkowano je *in vitro* na pożywce MS (Murashige i Skoog 1962) z dodatkiem 10 mg dcm⁻³ IAA (kwas β-indolilo-3-octowy) i 0,04 mg dcm⁻³ kinetyny (Chueca i in., 1977). Pobierano korzenie zarodkowe i sporządzano preparaty acetokarminowe, aby zidentyfikować mieszańce. Kultury zarodków prowadzono w temperaturze 22–24°C i wilgotności 60%, przy 16 godzinnym fotoperiodzie, na świetle 36 μmol m⁻² s⁻¹ z lamp fluorescencyjnych. Po 4 tygodniach rośliny mieszańcowe, które rozwinęły się z zarodków, po aklimatyzacji wysadzono do doniczek wypełnionych wyjałowioną ziemią. Doniczki z roślinami umieszczono w temperaturze 20°C, w pomieszczeniu hodowlanym przy 16 godzinnym fotoperiodzie, na świetle 165 μmol m⁻² s⁻¹ z lamp fluorescencyjnych. Mieszańce wysadzono w połowie września na polu doświadczalnym. Kolchicynowanie roślin *F₁* (2n=6x=42 — *Ae. crassa* Boiss. 6x × Rusalka i 2n=5x=35 — pozostałe mieszańce) przeprowadzano wiosną (po ruszeniu wegetacji) przez korzenie na wykopanych uprzednio roślinach. Stosowano 0,05% roztwór kolchicyny z 1,5% DMSO (dwumetylo-sulfo-tlenek). Podczas całego procesu kolchicynowania roztwór był napowietrzany. Po 4 godzinach korzenie były płukane pod bieżącą wodą wodociągową przez 30 min. Przed wysadzeniem w pole gdzie następował ich dalszy rozwój, traktowano je preparatem Seradix B. Rośliny zebrano z pola w fazie dojrzałości pełnej i przeprowadzono pomiary ich cech morfologicznych i plonotwórczych w warunkach laboratoryjnych. Na różnej liczbie pojedynków form mieszańcowych (od 1 do 4) oraz na

15 pojedynkach z każdej formy rodzicielskiej analizowano następujące cechy: krzewienie ogólne, długość pędu głównego, średnicę zewnętrzną 2. od dołu międzywęźla (pomiar suwmiarką w połowie międzywęźla), długość osadki kłosowej, zbitość kłosa głównego (liczba kłosek przypadających na 1 dcm osadki kłosowej), płodność kłosa głównego (liczba ziarniaków przypadających na 1 kłosek) (Tarkowski, 1994). Wyniki badań opracowano statystycznie i przedstawiono w tabeli 1 oraz na rysunkach 1–8. Istotność różnic oceniono za pomocą testu Tukeya przy $p = 0,05$ (Łomnicki, 2000).

Tabela 1

Wartości średnie niektórych cech morfologicznych i płodności mieszańców F₁ gatunków *Aegilops* z *Triticum aestivum* L. oraz ich form rodzicielskich
Mean values of some morphological traits and fertility of *Aegilops* sp. and *Triticum aestivum* L. F₁ hybrids and their parental forms

Analizowana forma Form analyzed	Liczba roślin No. of plants	Skład genomowy Genome composition	Krzewienie ogólne Total tillering	Długość pędu głównego (cm) Length of main tiller (cm)	Średnica 2. od dołu międzywęźla (mm) Diameter of 2 nd bottom internode (mm)	Długość osadki kłosowej (dcm) Length of spike rachis (dcm)	Zbitość kłosa (kłoski/ 1 dcm osadki kł.) Spike compactness (spikelets/ 1 dcm spike rachis)	Płodność (ziarniaki/ kłosek) Fertility (grains/ spikelet)
Rusałka × <i>Ae. biuncialis</i>	2	ABDUM	4,5 ^p	44,0 ^{mp}	2,2 ^m	0,3 ^m	11,1 ^{mp}	0,0 ^{mp}
<i>Ae. columnaris</i> × Legenda	1	ABDUM	54,0	97,0 ^m	2,3 ^{mp}	1,1 ^m	12,7 ^{mp}	0,1 ^{mp}
Legenda × <i>Ae. columnaris</i>	1	ABDUM	124,0 ^{mp}	98,0 ^p	3,3 ^p	1,3 ^p	10,4 ^{mp}	0,4 ^{mp}
Zyta × <i>Ae. cylindrica</i>	4	ABDCD	33,5 ^p	93,0	3,1 ^p	1,2	10,9 ^m	1,3 ^{mp}
<i>Ae. triaristata</i> 4x × Begra	4	ABDUM	69,5 ^p	93,8 ^m	2,2 ^{mp}	0,6 ^p	12,5 ^{mp}	0,2 ^{mp}
<i>Ae. variabilis</i> (<i>peregrina</i>) × Rusałka	4	ABDUS	63,4 ^p	91,3 ^{mp}	3,1 ^m	0,8 ^m	14,9 ^{mp}	0,4 ^{mp}
Rusałka × <i>Ae. variabilis</i> (<i>peregrina</i>)	1	ABDUS	78,0 ^m	87,0 ^p	3,2 ^p	0,7 ^p	14,3 ^{mp}	0,2 ^{mp}
<i>Ae. crassa</i> 6x × Rusałka	1	ABDDDM	10,0	67,0	3,7	1,0	13,7 ^{mp}	0,0 ^{mp}
<i>Ae. biuncialis</i>	15	UM	145,0	63,9	1,4	0,3	5,2	2,0
<i>Ae. columnaris</i>	15	UM	55,2	46,6	1,2	0,5	6,4	2,1
<i>Ae. cylindrica</i>	15	CD	141,0	82,8	1,9	1,1	8,3	1,6
<i>Ae. triaristata</i> 4x	15	UM	108,8	62,3	1,5	0,5	4,4	1,8
<i>Ae. variabilis</i> (<i>peregrina</i>)	15	US	84,7	49,7	1,4	0,4	5,8	1,7
<i>Ae. crassa</i> 6x	15	DDM	34,0	65,6	3,6	1,1	8,7	1,9
Begra	15	ABD	12,0	87,3	3,9	1,0	21,8	2,8
Legenda	15	ABD	9,4	103,8	3,7	1,3	16,2	3,1
Rusałka	15	ABD	10,6	72,9	3,8	0,9	18,6	3,1
Zyta	15	ABD	13,4	100,2	3,5	1,0	18,1	2,7
NIR								
LSD			67,6	14,2	1,0	0,2	2,8	1,2

^m — Wynik istotnie różny od formy matecznej przy $p = 0,05$

^m — Result significantly different in relation to the maternal form at $p = 0.05$

^p — Wynik istotnie różny od formy ojcowskiej przy $p = 0,05$

^p — Result significantly different in relation to the paternal form at $p = 0.05$

WYNIKI

Wśród analizowanych mieszańców F_1 najwięcej pędów wytworzyły mieszańce Legenda $\times$ *Ae. columnaris* Zhuk. i Rusalka $\times$ *Ae. variabilis (peregrina)* Eig., odpowiednio 124,0 i 78,0. Najmniej pędów odnotowano u mieszańców Rusalka $\times$ *Ae. biuncialis* Vis. — 4,5 i *Ae. crassa* Boiss. 6x $\times$ Rusalka — 10,0. Pozostałe mieszańce krzewiły się podobnie do kozieńców. Większość mieszańców wytworzyła istotnie więcej pędów od komponentów rodzicielskich pszenicy (tab. 1).

Długość pędu głównego mieszańców była najczęściej bardziej zbliżona do długości pędów pszenicy i wahała się od 87,0 do 98,0 cm. Były to wartości istotnie większe od długości pędów kozieńców. Jedynie długość pędu mieszańca Rusalka $\times$ *Ae. biuncialis* Vis. wynosząca 44,0 cm była istotnie mniejsza od długości pędu pszenicy. Długość pędu mieszańca *Ae. crassa* Boiss. 6x $\times$ Rusalka nie różniła się istotnie od obu form rodzicielskich (tab. 1).

Średnica zewnętrzna 2. od dołu międzywęźla mieszańców mieściła się w granicach 2,2–3,7 mm. Była ona istotnie większa od średnicy 2. od dołu międzywęźla większości kozieńców (1,2–1,9 mm). Wśród mieszańców najgrubsze źdźbła miał *Ae. crassa* Boiss. 6x $\times$ Rusalka (tab. 1).



Rys. 1. Kłosy (od lewej): forma mateczna — *T. aestivum* L. cv. Rusalka, mieszaniec F_1 *T. aestivum* L. cv. Rusalka $\times$ *Ae. biuncialis* Vis., forma ojcowska — *Ae. biuncialis* Vis.

Fig. 1. Spikes (from the left): maternal form — *T. aestivum* L. cv. Rusalka, F_1 hybrid *T. aestivum* L. cv. Rusalka $\times$ *Ae. biuncialis* Vis., paternal form — *Ae. biuncialis* Vis.

Najdłuższe osadki kłosowe o długości 1,3 dcm odnotowano w mieszańcu Legenda × *Ae. columnaris* Zhuk. Nieco krótsze osadki kłosowe wytworzyły mieszańce Zyta × *Ae. cylindrica* Host — 1,2 dcm i *Ae. columnaris* Zhuk. × Legenda — 1,1 dcm. Najkrótsze osadki kłosowe miały mieszańce Rusałka × *Ae. biuncialis* Vis. — 0,3 dcm i *Ae. triaristata* Willd. 4x × Begra — 0,6 dcm. Większość mieszańców F₁ wytworzyła osadki kłosowe istotnie dłuższe od osadek kłosów. Mieszańce F₁ *T. aestivum* L. z *Ae. crassa* Boiss. 6x, *Ae. columnaris* Zhuk., *Ae. cylindrica* Host i *Ae. variabilis (peregrina)* Eig. miały osadki zbliżone do osadek pszenic, natomiast pozostałe — istotnie krótsze od pszenic (tab. 1, rys. 1–8).



Rys. 2. Kłosy (od lewej): forma mateczna — *Ae. columnaris* Zhuk., mieszaniec F₁ — *Ae. columnaris* Zhuk. × *T. aestivum* L. cv. Legenda, forma ojcowska — *T. aestivum* L. cv. Legenda

Fig. 2. Spikes (from the left): maternal form — *Ae. columnaris* Zhuk., hybrid F₁ — *Ae. columnaris* Zhuk. × *T. aestivum* L. cv. Legenda, paternal form — *T. aestivum* L. cv. Legenda

Kształt dojrzałych kłosów mieszańców F₁ był pośredni w stosunku do form rodzicielskich (rys. 1–8). Największą liczbę kłosek przypadających na 1 dcm osadki kłosowej (zbitość kłosa) miały mieszańce *Ae. variabilis (peregrina)* Eig. × Rusałka — 14,9 i Rusałka × *Ae. variabilis (peregrina)* Eig. — 14,3. Pozostałe mieszańce charakteryzowały się pośrednią zbitością kłosów (od 10,4 do 13,7) w porównaniu do komponentów rodzicielskich. Zbitość kłosów kłosów kłosów wahała się od 4,4 (*Ae. triaristata* Willd. 4x) do 8,7 (*Ae. crassa* Boiss. 4x), a pszenic od 16,2 (Legenda) do 21,8 (Begra) (tab. 1).



Rys. 3. Kłosy (od lewej): forma mateczna — *T. aestivum* L. cv. Legenda, mieszaniec F₁ — *T. aestivum* L. cv. Legenda × *Ae. columnaris* Zhuk., forma ojcowska — *Ae. columnaris* Zhuk.

Fig. 3. Spikes (from the left): maternal form — *T. aestivum* L. cv. Legenda, F₁ hybrid — *T. aestivum* L. cv. Legenda × *Ae. columnaris* Zhuk., paternal form — *Ae. columnaris* Zhuk.



Rys. 4. Kłosy (od lewej): forma mateczna — *T. aestivum* L. cv. Zyta, mieszaniec F₁ *T. aestivum* L. cv. Zyta × *Ae. cylindrica* Host, forma ojcowska — *Ae. cylindrica* Host

Fig. 4. Spikes (from the left): maternal form — *T. aestivum* L. cv. Zyta, F₁ hybrid *T. aestivum* L. cv. Zyta × *Ae. cylindrica* Host, paternal form — *Ae. cylindrica* Host



Rys. 5. Kłosy (od lewej): forma mateczna — *Ae. variabilis (peregrina)* Eig, mieszaniec F₁ — *Ae. variabilis (peregrina)* Eig × *T. aestivum* L. cv. Rusalka, forma ojcowska — *T. aestivum* L. cv. Rusalka
 Fig. 5. Spikes (from the left): maternal form — *Ae. variabilis (peregrina)* Eig, F₁ hybrid — *Ae. variabilis (peregrina)* Eig × *T. aestivum* L. cv. Rusalka, paternal form — *T. aestivum* L. cv. Rusalka



Rys. 6. Kłosy (od lewej): forma mateczna — *T. aestivum* L. cv. Rusalka, mieszaniec F₁ — *T. aestivum* L. cv. Rusalka × *Ae. variabilis (peregrina)* Eig, forma ojcowska — *Ae. variabilis (peregrina)* Eig
 Fig. 6. Spikes (from the left): maternal form — *T. aestivum* L. cv. Rusalka, F₁ hybrid — *T. aestivum* L. cv. Rusalka × *Ae. variabilis (peregrina)* Eig, paternal form — *Ae. variabilis (peregrina)* Eig



Rys. 7. Kłosy (od lewej): forma mateczna — *Ae. triaristata* Willd. 4x, mieszaniec F₁ — *Ae. triaristata* Willd. 4x × *T. aestivum* L. cv. Begra, forma ojcowska — *T. aestivum* L. cv. Begra
 Fig. 7. Spikes (from the left): maternal form — *Ae. triaristata* Willd. 4x, F₁ hybrid — *Ae. triaristata* Willd. 4x × *T. aestivum* L. cv. Begra, paternal form — *T. aestivum* L. cv. Begra



Rys. 8. Kłosy (od lewej): forma mateczna — *Ae. crassa* Boiss. 6x, mieszaniec F₁ — *Ae. crassa* Boiss. 6x × *T. aestivum* L. cv. Rusalka, forma ojcowska - *T. aestivum* L. cv. Rusalka
 Fig. 8. Spikes (from the left): maternal form — *T. aestivum* L. cv. Rusalka, F₁ hybrid *T. aestivum* L. cv. Rusalka × *Ae. crassa* Boiss. 6x, paternal form — *Ae. crassa* Boiss. 6x

Mieszańce F_1 charakteryzowały się istotnie niższą płodnością (liczba ziarniaków/1 kłosek) od form rodzicielskich. Największą płodność odnotowano u mieszańca $Zyta \times Ae. cylindrica$ Host. (1,3). Ziarniaki zawiązały również mieszańce pszenicy z *Ae. variabilis* (*peregrina*) Eig., *Ae. columnaris* Zhuk. i *Ae. triaristata* Willd. 4x (płodność 0,1–0,4). Mieszańce pszenicy z *Ae. biuncialis* Vis. i *Ae. crassa* Boiss. 6x nie zawiązały ziarniaków.

DYSKUSJA

Do krzyżowań wybrano gatunki kozińców, które miały genomy homologiczne (*D*), homeologiczne (*S*) lub w niewielkim stopniu homeologiczne (*UM*) do genomów (*ABD*) pszenicy heksaploidalnej (Sears, 1981). Pszenica zwyczajna, mimo że jest gatunkiem alloheksaploidalnym ($2n=6x=42$) mającym 3 homeologiczne genomy *ABD*, wykazuje w mejozie koniugację diploidalno-homologiczną chromosomów. Koniugują ze sobą chromosomy homologiczne w obrębie każdego genomu. Supresja homeologicznej koniugacji kontrolowana jest przez grupę genów dominujących *Ph* — *Ph1* na chromosomie 5BL, *Ph2* na chromosomie 3DS oraz inne niezidentyfikowane geny na chromosomach 3AS, 4D i 5A, 5B, 5D. Wśród nich gen *Ph1* wykazuje najsilniejszy efekt działania. Introgresja obcych genów do pszenicy może nastąpić poprzez inaktywację genów *Ph* systemu homeologicznej koniugacji w *T. aestivum* L. (Pilch, 2005).

Gatunki *Ae. cylindrica* Host. i *Ae. crassa* Boiss. 6x zawierają genomy *D* homologiczne do genomów *D* pszenicy, dzięki ich obecności mogą łatwiej krzyżować się z pszenicami heksaploidalnymi. W takim przypadku przeniesienie genów, np. tolerancyjności na zasolenie z *Ae. cylindrica* Host. (Farooq i in., 1992), czy genów odporności na herbicydy (Zaharieva i Monnavaux, 2005) może nastąpić na zasadzie prostego crossing-over. Ma to ogromne znaczenie w przypadku upraw transgenicznej pszenicy odpornej na herbicydy, np. w Hiszpanii, USA i Kanadzie (Schoenenberger, 2006; Loureiro i in., 2007). *Ae. cylindrica* Host. przeniesiony do USA z Europy już w latach dwudziestych ubiegłego wieku został zaliczony do chwastów występujących w zasiewach pszenicy (Morisson i in., 2002).

Dawcą genomu *D* dla *Ae. cylindrica* Host. i innych kozińców oraz dla pszenicy heksaploidalnej był *Ae. squarrosa* L. (Kihara i Lilienfeld, 1951; Kimber i Feldman, 1987). O podobieństwie genomów *D* pszenicy i kozińca *Ae. squarrosa* L. świadczy położenie genu łamliwości osadki kłosowej *Br₁* na krótkim ramieniu chromosomu 3D *T. aestivum* L. i genu *Br^r*, którego locus znajduje się na krótkim ramieniu chromosomu 3D *Ae. squarrosa* L. (Watanabe i in., 2005, 2006).

Genom *B* pszenicy pochodzi od *Ae. speltoides* Tausch ($2n = 2x = 14$, SS), w pszenicy został on wtórnie zmodyfikowany (Kihara, 1944; McFadden i Sears, 1946). Świadczy o tym, między innymi, takie samo położenie genu *Br₃* łamliwości osadki kłosowej na krótkim ramieniu chromosomu 3S u *Ae. speltoides* Tausch. (Watanabe i in., 2003) i na krótkim ramieniu chromosomu 3B u pszenicy tetraploidalnej *T. durum* Desf. (Watanabe i in., 2006). Riley i in. (1973) zidentyfikowali u kozińca *Ae. speltoides* Tausch dominujące geny supresory *PhI* na chromosomie 5S. Ze względu na podobieństwo genomu *S* *Ae. speltoides* Tausch do genomu *S* *Ae. variabilis* (*peregrina*) Eig., taki system może u niego również

występować. Fernández-Calvín i Orellana (1991) donoszą o homeologicznej koniugacji pomiędzy chromosomami *Ae. variabilis* Eig. a chromosomami pszenicy u pentaploidalnych mieszańców pszenicy z tymi gatunkami. W obecności genów supresorów, mimo obecności genu *Ph1*, zachodzi synapsis homeologicznych chromosomów obcych gatunków z chromosomami pszenicy *T. aestivum* L.

Cechy morfologiczne mieszańców F_1 *Aegilops* sp. z *T. aestivum* L. są najczęściej pośrednie w porównaniu do form rodzicielskich (Prażak, 1997). Gatunki *Aegilops* należą do form silnie krzewiących się, wytwarzających bardzo dużo ziarniaków (Prażak, 1992). Przykładowo *Ae. cylindrica* Host wytwarza ponad 100 źdźbeł i ponad 3 tys. ziarniaków. Ziarniaki kozieńców pozostają w glebie nawet do 3–5 lat zachowując zdolność kiełkowania, co pozwala poszczególnym populacjom szybko kolonizować nowe tereny (Zaharieva i Monneveux, 2005). Pszenice krzewią się znacznie słabiej.

Mieszańce *Ae. columnaris* Zhuk., *Ae. cylindrica* Host., *Ae. triaristata* Willd. 4x, *Ae. variabilis* (*peregrina*) Eig. z *T. aestivum* L. wytworzyły istotnie więcej pędów od komponentów rodzicielskich pszenicy. W przypadku mieszańców *Ae. biuncialis* Vis. i *Ae. crassa* Boiss. 6x z *T. aestivum* L. odnotowano podobną liczbę źdźbeł jak u odmian pszenicy. Podobnie było w badaniach Loureiro i in. (2007) w przypadku mieszańców *Ae. biuncialis* Vis. z *T. aestivum* L.

W środowisku naturalnym kozieńce osiągają wysokość 15–75 cm (Kilian i in., 2011). Długość pędu głównego mieszańców była najczęściej bardziej zbliżona do długości pędów pszenic (około 90 cm) i istotnie większa od długości pędów kozieńców. Jedynie mieszańiec Rusałka × *Ae. biuncialis* Vis. miał istotnie krótsze pędy od pszenicy. W badaniach Stefanowskiej (1995) długość pędu głównego u mieszańców pszenicy z *Ae. juvenalis* (Thell.) Eig. i *Ae. ventricosa* Tausch. wahała się od 44,4 do 92,0 cm. W innych badaniach mieszańce *T. aestivum* L. z *Ae. cylindrica* Host i *Ae. juvenalis* (Thell.) Eig. wytworzyły dłuższe pędy, większą średnicę drugiego od dołu międzywęźla oraz długość osadki kłosowej w porównaniu do form rodzicielskich (Prażak, 1997). Mieszańce Chinese Spring × *Ae. sharonensis* Eig. badane przez Millera i in. (1982) były niższe od pszenicy i miały sztywne źdźbła.

Średnica zewnętrzna źdźbła odgrywa dużą rolę w odporności roślin zbożowych na wyleganie, a szczególnie duże znaczenie ma średnica drugiego od dołu międzywęźla. Odmiany pszenicy heksaploidalnej *T. aestivum* L. odporne na wyleganie wyróżniają się większą grubością tego międzywęźla (Tarkowski, 1994). Średnica zewnętrzna 2. od dołu międzywęźla mieszańców F_1 pszenicy z *Ae. cylindrica* Host, *Ae. variabilis* (*peregrina*) Eig., *Ae. crassa* Boiss. 6x dorównywała odmianom pszenicy. Badane przez Dolińskiego (1995) odmiany pszenicy oraz ich mieszańce miały średnicę 2. od dołu międzywęźla w granicach od 3,04 do 4,07 mm.

Kształt kłosów mieszańców F_1 był pośredni w stosunku do form rodzicielskich, ale barwa najczęściej zbliżona do formy dzikiej (rys. 1–8). Podobnie jak we wcześniejszych badaniach nad mieszańcami *Ae. cylindrica* Host., *Ae. juvenalis* (Thell.) Eig., *Ae. triaristata* Willd. 6x z *T. aestivum* L., *Ae. ventricosa* Tausch. z *T. durum* Desf., *Ae. triaristata* Willd. 6x z *X Triticosecale* (Prażak, 1997, 2000), czy w badaniach Wojciechowskiej i Pudelskiej (2002 a, b) nad mieszańcami *Ae. biuncialis* Vis., *Ae. kotschy* Boiss., *Ae. ovata* L. z *Secale*

cereale L., Berzonskiego i Kimbera (1989) nad mieszańcami *Ae. ventricosa* Tausch. × *T. turgidum* (L.) Thell., Simeone i in. (1989) nad mieszańcami *Ae. caudata* L. × *T. turgidum* (L.) Thell.

Długość osadek kłosowych mieszańców F_1 zależała od kombinacji krzyżówkowej. Większość mieszańców F_1 wytworzyła osadki kłosowe istotnie dłuższe od osadek kozieńców. Cechy morfologiczne kłosa są uwarunkowane przez geny jądrowe (Pilch, 2003). Odmiany o zbitym kłosie mają często drobne ziarniaki i odwrotnie o kłosie luźnym — grube, dorodne (Tarkowski, 1995). Najbardziej zbite kłosy (liczba kłosek/1 dcm osadki kłosowej) miały mieszańce *Ae. variabilis* (*peregrina*) Eig. z pszenicą odmiany Rusałka. Pozostałe mieszańce charakteryzowały się pośrednią zbitością kłosów w porównaniu do komponentów rodzicielskich. Według Stefanowskiej (1995) kłosy mieszańców pszenicy z *Ae. juvenalis* (Thell.) Eig. i *Ae. ventricosa* Tausch. były nieco luźniejsze niż u pszenic. Liczba kłosek w kłosie jest dodatnio skorelowana z długością kłosa. Duża liczba kłosek w kłosie pszenicy zwyczajnej związana jest z chromosomami 2DS i 7DL z dominującym efektem genu *Ppd-D1* niewrażliwości fotoperiodycznej położonym również na chromosomie 2DS (Li i in., 2002; Pilch, 2003).

We wcześniejszych badaniach (Prażak, 1997) kłosy mieszańców *Ae. cylindrica* Host. × *T. aestivum* L. i *Ae. juvenalis* (Thell.) Eig. × *T. aestivum* L. były dłuższe od form rodzicielskich, a kłosy *Ae. ventricosa* Tausch. × *T. durum* Desf. i *Ae. triaristata* Willd. 6x × *T. aestivum* L. pośrednie w porównaniu do kłosów form rodzicielskich. Mieszańce *Ae. caudata* L. × *T. turgidum* (L.) Thell. miały kłosy dłuższe od pszenicy i zbliżone do kozieńca (Simeone i in., 1989). Długość kłosów mieszańców *Ae. biuncialis* Vis. × *Secale cereale* L., *Ae. ovata* L. × *S. cereale* L. była pośrednia w stosunku do form rodzicielskich (Wojciechowska i Pudelska, 2002 a, b, 2005). Kłosy innych mieszańców *Ae. kotschy* Boiss. × *S. cereale* L., *Ae. triaristata* Willd. 6x × *X Triticosecale* dorównywały formie ojcowskiej (Wojciechowska i Pudelska, 2002 a, Prażak, 2000), a kłosy *Ae. ventricosa* Tausch. × *T. turgidum* (L.) Thell. były krótsze od kłosów pszenicy (Berzonski i Kimber, 1989).

Pilch i Głowacz (1997) otrzymali mieszańce pszenicy z *Ae. speltoides* Tausch, o bardzo długich kłosach. Długość osadki kłosowej decyduje o długości całego kłosa. Tę cechę u pszenicy warunkuje 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 położonymi na chromosomie 7AL (Li i in., 2002; Pilch, 2003).

Płodność kłosów głównych mieszańców F_1 była niska i wahała się od 0,0 do 1,3. Była ona istotnie niższa od form rodzicielskich. Największą płodnością wśród nich charakteryzował się mieszaniec Zyta × *Ae. cylindrica* Host. Ziarniaków nie zawiązały mieszańce pszenicy z *Ae. biuncialis* Vis. i *Ae. crassa* Boiss. 6x.

W innych badaniach mieszańce F_1 gatunków *Ae. cylindrica* Host. i *Ae. triaristata* Willd. 6x z *T. aestivum* L. również charakteryzowały się niską płodnością (Miller i in., 1982; Bai i in., 1994). Słaba płodność mieszańców F_1 pszenicy z gatunkami *Aegilops* wynika najczęściej z niskiego poziomu koniugacji chromosomów w mejozie (Bai i in., 1994; Sharma, 1995).

WNIOSKI

1. Mieszańce F_1 *Ae. columnaris* Zhuk., *Ae. cylindrica* Host., *Ae. triaristata* Willd. 4x, *Ae. variabilis* (*peregrina*) Eig. z *Triticum aestivum* L. charakteryzowały się bardzo silnym krzewieniem zbliżonym do dzikich gatunków rodzicielskich, co umożliwiłoby im wytworzenie bardzo dużej liczby ziarniaków w przypadku większej płodności.
2. Długość pędu głównego i osadki kłosowej mieszańców F_1 *Aegilops* sp. z *Triticum aestivum* L. była zbliżona do komponentów rodzicielskich pszenicy. Mieszańce miały istotnie grubsze źdźbła i bardziej zbite kłosa od gatunków *Aegilops*.
3. Większość badanych mieszańców F_1 *Aegilops* sp. z *Triticum aestivum* L. charakteryzowała się niską płodnością lub była sterylna. Najwyższą płodność odnotowano u mieszańca pszenicy $Zyta \times Aegilops\ cylindrica$ Host., co może potwierdzać możliwość transferu genów np. tolerancyjności na zasolenie z dzikiego gatunku do pszenicy, jak i genów niepożądanych z pszenicy do kozińca (np. odporności na herbicydy z transgenicznych odmian pszenicy).
4. Ocenę mieszańców F_1 , w której ujawniły one cechy pośrednie pomiędzy *Triticum aestivum* L. a kozińcami, ewentualnie dominację wartości cech kozińców lub pszenic można potraktować jako wstępną. Ze względu na segregację cech pełniejszy wpływ genów kozińców na fenotyp mieszańców ujawni się w kolejnych pokoleniach. Wówczas, po uzyskaniu większej liczby mieszańców, będzie możliwa ich dokładniejsza statystyczna ocena i selekcja.

LITERATURA

- Bai D., Scoles G. J., Knott D. R. 1994. Transfer of leaf rust and stem rust resistance genes from *Triticum triaristatum* to durum and bread wheat's and their molecular cytogenetic localization. *Genome* 37 (3): 410 — 418.
- Berzonsky W. A., Kimber G. 1989. The tolerance to aluminium of *Triticum* N-genome amphiploides. *Plant Breed.* 103: 37 — 42.
- Blüthner W. D., Schumann E. 1988. Use of *Aegilops* and tetraploid wheat for wheat protein improvement. *Hod. Roślin, Aklim.* 32 (1/2): 203 — 206.
- Chueca M., Cauderon Y., Tempe J. 1977. Techniques d'obtention d'hybrides Blé tender $\times$ *Aegilops* par culture *in vitro* d'embryons immatures. *Ann. Amélior. Plantes* 27 (5): 539 — 547.
- Coriton O., Barloy D., Huteau V., Lemoine J., Tanguy A., Jahier J. 2009. Assignment of *Aegilops variabilis* Eig chromosomes and translocations carrying resistance to nematodes in wheat. *Genome* 52 (4): 338 — 346.
- Doliński R. 1995. Zmienność, dziedziczalność i współzależność właściwości mechanicznych i cech morfologicznych źdźbła pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum* L.) warunkujących odporność na wyleganie. *Rozprawy Naukowe. Wyd. AR w Lublinie.*
- Farooq S., Iqbal N., Asghar M., Shah T. M. 1992. Intergeneric hybridization for wheat improvement — IV. Expression of salt tolerance gene (s) of *Aegilops cylindrica* in hybrids with hexaploid wheat. *Cer. Res. Comm.* 20 (1-2): 111 — 118.
- Fernández-Calvín B., Orellana J. 1991. Metaphase-I bound-arm frequency and genome analysis in wheat-*Aegilops* hybrids. 1. *Ae. variabilis*-wheat and *Ae. kotschy*-wheat hybrids with low and high homoeologous pairing. *Theor. Appl. Genet.* 83: 264 — 272.
- Frauenstein K., Hammer K. 1985. Prüfung von *Aegilops* — Arten auf Resistenz gegen Echten Mehltau, *Erysiphe graminis* D. C., Braunrost, *Puccinia recondita* Rob. ex Desm. und Spelzenbraune, *Septoria nordum* Berk. *Kulturpflanze* 33: 155 — 163.

- Gorham J. 1990. Salt Tolerance in the *Triticeae*: K/Na discrimination in *Aegilops* species. J. Exp. Bot. 41/226: 615 — 621.
- Kihara H., 1944 Discovery of the DD-analyzer, one of the ancestors of vulgare wheats. Agric. Hort. 19: 889 — 890.
- Kihara H., Lilienfeld F. A. 1951. Genome analysis in *Triticum* and *Aegilops*. Concluding review. Cytologia 16: 101 — 123.
- Kilian B., Mammen K., Millet E., Sharma R., Graner A., Salamini F., Hammer K., Özkan H. 2011. *Aegilops*. In: Kole C. (Eds.). Wild crop relatives: genomic and breeding resources. Cereals. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg.
- Kimber G., Feldman M. 1987. Wild wheat: an introduction. college of agriculture. University of Missouri, Columbia, Special Report 353: 1 — 146.
- 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.
- Loureiro I., Escorial M. C., García-Baudin J. M., Chueca M. C. 2007. Hybridization between wheat (*Triticum aestivum*) and the wild species *Aegilops geniculata* and *A. biuncialis* under experimental field conditions. Agriculture, Ecosystems and Environment 120: 384 — 390.
- Łomnicki A. 2000. Wprowadzenie do statystyki dla przyrodników. PWN, Warszawa.
- McFadden E. S., Sears E.R. 1946. The origin of *Triticum spelta* and its free-threshing hexaploid relatives. J. Hered. 37: 81 — 89.
- Miller T., Hutchinson E., Chapman V. 1982. Investigation of a preferentially transmitted *Aegilops sharonensis* chromosome in wheat. Theor. Appl. Genet. 61: 27 — 33.
- Molnár I., Gáspár L., Sárvári E., Dulai S., Hoffmann B., Molnár-Láng M., Galiba G. 2004. Physiological and morphological responses to water stress in *Aegilops biuncialis* and *Triticum aestivum* genotypes with differing tolerance to drought. Functional Plant Biology 31 (12): 1149 — 1159.
- Molnár I., Dulai S., Molnár-Láng M. 2008. Can the drought tolerance traits of *Ae. biuncialis* manifest even in the wheat genetic background ? Acta Biol. Szeged. 52: 175 — 178 .
- Morrison L. A., Riera-Lizarazu O., Crémieux L., Mallory-Smith C. A. 2002. Jointed goatgrass (*Aegilops cylindrica* Host) × wheat (*Triticum aestivum* L.) hybrids. Crop Sci. 42: 1863 — 1872.
- Murashige T., Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15: 473 — 497.
- 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.
- Pilch J. 2003. Uwarunkowanie genetyczne cech morfologicznych kłosa pszenicy (*Triticum aestivum* L.). Biul. IHAR 228: 21 — 31.
- Pilch J. 2005. Możliwości wykorzystania krzyżowania introgresywnego w hodowli pszenicy ozimej *Triticum aestivum* L. Część I. Zastosowanie systemów genetycznych pszenicy *T. aestivum* L. do otrzymania mieszańców pomostowych F₁. Biul. IHAR 235: 31 — 41.
- Prażak R. 1992. Cechy morfologiczne gatunków rodzaju *Aegilops* oraz pszenicy ozimej *Triticum aestivum* 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. 2000. Mieszańce F₁ *Aegilops triaristata* 6x z pszenżytem (*X Triticosecale* Wittmack) i pszenicą (*Triticum aestivum* L.). Folia Univ. Agric. Stetin. 206 Agricultura (82): 231 — 236.
- Prażak R. 2004. Porównanie zawartości białka w ziarnie gatunków *Aegilops* i *Triticum*. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol. 497: 509 — 516.
- Prażak R. 2007. Ocena zimotrwałości, wczesności i porażania przez rdzę brunatną i mączniaka prawdziwego gatunków *Aegilops* w warunkach Polski wschodniej. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol. 517: 603 — 612.
- Rawat N., Tiwari V. K., Singh N., Randhawa G. S., Singh K., Chhuneja P., Dhaliwal H. S. 2009. Evaluation and utilization of *Aegilops* and wild *Triticum* species for enhancing iron and zinc content in wheat. Genet. Resour. Crop Evol. 56: 53 — 64.
- Riley R., Chapman V., Miller T. E. 1973. The determination of meiotic chromosome pairing. Proc. 4th Int. Wheat Genet. Symp. Univ. Columbia. MO: 731 — 738.

- Schoenenberger N., Guadagnuolo R., Savova-Bianchi D., Küpfer P., Felber F. 2006. Molecular analysis, cytogenetics and fertility of introgression lines from transgenic wheat to *Aegilops cylindrica* Host. *Genetics* 174: 2061 — 2070.
- Sears E.R. 1981. Transfer of alien genetic material to wheat. P. 75-89. In: Evans L.T. Peacock W. J. (Eds.). *Wheat Science — Today and Tomorrow*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Sharma H. C. 1995. How wide can a wide cross be ? *Euphytica* 82: 43 — 64.
- Simeone R., Pignone D., Blanco A., Attolico M. 1989. Cytology and fertility of hybrids and amphiploids between *Aegilops caudata* L. × *Triticum turgidum* (L.) Thell. *Plant Breed.* 103: 189 — 195.
- Spetsov P., Mingeot D., Jacquemin J. M., Samardijeva K., Marinova E. 1997. Transfer of powdery mildew resistance from *Aegilops variabilis* into bread wheat. *Euphytica* 93: 49 — 54.
- 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.
- Tarkowski Cz. (red.) 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.
- Watanabe N., Sugiyama K., Yamagishi Y., Sakata Y. 2003. Comparative telosomic mapping of homoeologous genes for brittle rachis in tetraploid and hexaploid wheat. *Hereditas* 137: 180 — 185.
- Watanabe N., Takesada N., Shibata Y., Ban T. 2005. Genetic mapping of the genes for glaucous leaf and tough rachis in *Aegilops tauschii*, the D-genome progenitor of wheat. *Euphytica* 144: 119 — 123.
- 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.
- Wojciechowska B., Pudelska H. 2002a. Production and morphology of the hybrids *Aegilops kotschy* × *Secale cereale* and *Ae. biuncialis* × *S. cereale*. *J. Appl. Genet.* 43 (3): 279 — 285.
- Wojciechowska B., Pudelska H. 2002b. Hybrids and amphiploids of *Aegilops ovata* L. with *Secale cereale* L.: production, morphology and fertility. *J. Appl. Genet.* 43 (4): 415 — 421.
- Wojciechowska B., Pudelska H. 2005. Production and characterization of amphiploids and of backcross hybrids of *Ae. biuncialis* × *Secale cereale* amphiploids with 2x and 4x *S. cereale*. *J. Appl. Genet.* 46 (2): 157 — 161.
- Zaharieva M., Monneveux P. 2005. Spontaneous hybridization between bread wheat (*Triticum aestivum* L.) and its wild relatives in Europe. *Crop Sci.* 46 (2): 512 — 527.

DAMIAN GOŁĘBIEWSKI¹**KINGA MYSZKA**¹**JANUSZ BUREK**²**DARIUSZ R. MAŃKOWSKI**³**DANUTA BOROS**¹¹ Samodzielna Pracownia Oceny Jakości Produktów Roślinnych² Zakład Roślin Zbożowych, Kraków³ Zakład Nasiennictwa i Nasionoznawstwa

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — PIB, Radzików

Badania zmienności genetycznej i wpływu środowiska na cechy determinujące wartość browarną ziarna rodów jęczmienia jarego włączonych do badań przedrejestrowych w 2011 roku*

Study of genetic variation and environmental impact on traits that determine malting quality of spring barley lines included in preliminary trials in 2011

Materiałem badawczym było ziarno 19 rodów jęczmienia browarnego oraz 3 odmian wzorcowych Blasku, Conchity i Suwerena pochodzące z doświadczeń wstępnych rozlokowanych w Bąkowie, Nagradowicach i Radzikowie. Ocenę wartości technologicznej ziarna, słoju oraz brzezki dokonano na podstawie następujących parametrów jakości: masa 1000 ziaren, celność, zawartość białka ogółem i białka rozpuszczalnego słoju, liczba Kolbacha, kruchość, ekstraktywność, lepkość brzezki, siła diastatyczna, zawartość β -glukanu, stopień ostatecznego odfermentowania. Dla tych parametrów obliczono współczynnik zmienności (CV%), a także współczynniki korelacji (r). Ponadto dla zawartości białka w słoju, ekstraktywności, lepkości brzezki i zawartości β -glukanu przeprowadzono dwuczynnikową analizę wariancji, jak również wyznaczono grupy jednorodne na podstawie procedury porównań wielokrotnych Tukey'a. Cechą najbardziej różnicującą badany materiał była zawartość β -glukanu wysokocząsteczkowego, dla którego stwierdzono wysoki współczynnik zmienności genotypowej oraz interakcję genotypowo-środowiskową. Wykazano, iż genotyp oraz środowisko wpływały istotnie na wartość browarną nowych rodów jęczmienia jarego.

Słowa kluczowe: jęczmień jary, wartość browarna, zmienność

* Badania sfinansowano z dotacji MRiRW przyznanych IHAR — PIB w ramach postępu biologicznego w produkcji roślinnej na realizację zadania 22

Material for the study comprised of grain of 19 breeding lines of spring malting barley and three standard varieties: Blask, Conchita, Suweren, grown in 2011, in preliminary field trials located at Bąków, Nagradowice and Radzików. The malting quality was estimated on the basis of the following parameters: 1000 kernel weight, grain plumpness, content of total and soluble malt protein, Kolbach index, malt friability, extractability, wort viscosity, diastatic power, content of β -glucan, final fermentation degree. For all these parameters coefficients of variation (CV%) and correlations were estimated. Moreover, for total malt protein, extractability, wort viscosity and β -glucan content, two-way analysis of variance and Tukey's test were carried out. The most discriminating parameter was content of β -glucan for which we have counted high coefficient of environmental and genetic variability. Results showed that genotype and environment had significant influence on malting quality of new lines of spring barley.

Key words: malting quality, spring barley, variability

WSTĘP

Nowe odmiany jęczmienia browarnego, aby mogły stać się poszukiwanym surowcem do słodowania, muszą uzyskać standardy jakości rynków regionalnych, a przede wszystkim rynku międzynarodowego. Z tego względu w hodowli jęczmienia wykorzystywanego w przemyśle piwowarskim niezwykle ważna jest znajomość parametrów technologicznych, jak również wiedza na temat oddziaływania czynników genetycznych i środowiskowych na cechy jakościowe ziarna.

Według Molina-Cano (1987) najważniejszymi parametrami technologicznymi, określającymi przydatność jęczmienia do produkcji słodu, są zawartość białka ogółem i białka rozpuszczalnego, kruchość słodu, jego ekstraktywność, liczba Kolbacha, siła diastatyczna, stopień ostatecznego odfermentowania, lepkość brzezki oraz zawartość w niej β -glukanu. Przy czym surowcem do produkcji słodu może być tylko ziarno o średnicy ziarniaka powyżej 2,5 mm, tzn. charakteryzujące się wysoką celnością.

Wszystkie te parametry w dużym stopniu są uwarunkowane genetycznie, co stwarza warunki do skutecznej selekcji materiałów hodowlanych jęczmienia browarnego (Winiarski, 1998; Bichoński i Burek, 2000; Bichoński i Śmiałowski, 2004), jednak ich wartości w różnym stopniu ulegają modyfikacjom pod wpływem warunków uprawy, na które składają się zarówno czynniki glebowo-agrotechniczne oraz klimat (Molina-Cano i in., 1997; Wang i in., 2007; Sharma i Verma, 2010). O ile przy dzisiejszym rozwoju przemysłu chemicznego stworzenie właściwych do uprawy jęczmienia warunków glebowych nie nastęrcza dużych problemów (Vigier i in., 2009), o tyle na czynniki klimatyczne możemy wpływać pośrednio, poprzez uprawę odmian niewrażliwych na zmienne warunki środowiska, bądź poprzez odpowiednią rejonizację odmian wrażliwych. Nasilająca się w ostatnich latach zmienność warunków klimatycznych utrudnia niestety właściwy dobór odmian do uprawy w danym rejonie podnosząc ryzyko uprawy jęczmienia (Gąsiorowski, 1997).

Obserwowane zmiany klimatu w Polsce wskazują na prawdopodobieństwo występowania zwiększonej częstotliwości i intensywności suszy wynikającej głównie ze wzrostu temperatury przy małych ilościach opadu. Takie zmiany klimatu wpływają na intensyfikację ewapotranspiracji i w konsekwencji na niekorzystny bilans wodny wielu obszarów rolniczych Polski. Oprócz problemu suszy może wystąpić szereg innych

niekorzystnych zjawisk pogodowych, m. in. zwiększenie ilości krótkotrwałych i gwałtownych opadów, wiosenne przymrozki, zmienna temperatura, czy w ogóle ekstremalne zjawiska pogodowe jak np. grad lub trąby powietrzne (Olejnik, 2009). Niekorzystne warunki klimatyczne uniemożliwiają prowadzenie stabilnej i przewidywalnej produkcji jęczmienia browarnego, wpływając negatywnie na plon ziarna i jego skład chemiczny, często w stopniu dyskwalifikującym jego użycie dla celów browarnych (Swanston i in., 1995; Molina-Cano i in., 1997). W tej sytuacji selekcja genotypów stabilnych, które mają bardziej przewidywalny w zmiennych warunkach glebowo-klimatycznych zespół cech warunkujących przydatność ziarna do słodowania powinna stać się niezbędna w hodowli jęczmienia browarnego w Polsce.

Celem niniejszej pracy było określenie zmienności genetyczno-środowiskowej oraz interakcji cech jakości technologicznej ziarna nowych rodów jarego jęczmienia browarnego w porównaniu do odmian wzorcowych.

MATERIAŁ I METODY

Materiałem badawczym było ziarno 19 rodów jęczmienia browarnego, a także 3 odmian wzorcowych Blasku, Conchity, Suwerena, pochodzące z upraw w Bąkowie, NAGRADOWICACH i Radzikowie prowadzonych w ramach doświadczenia wstępnego w 2011 roku. Ziarno zostało zebrane najwcześniej w NAGRADOWICACH, następnie w Radzikowie, a najpóźniej w Bąkowie, odpowiednio 16 lipca oraz 2 i 6 sierpnia.

W poszczególnych miejscowościach uprawy jęczmienia panowały zróżnicowane warunki pogodowe (rys. 1, 2). Średnia temperatura powietrza i suma opadów w sezonie wegetacji kształtowała się na najwyższym poziomie w Radzikowie w porównaniu do warunków pogodowych występujących w dwóch pozostałych miejscach uprawy. Szczególnie obfite opady wystąpiły w Radzikowie w lipcu (292 mm), w tym w ostatnich 6-ciu dniach spadło 112 mm deszczu, tj. tyle ile w Bąkowie i NAGRADOWICACH w ciągu całego miesiąca, odpowiednio 109 i 118 mm.

Kryteriami oceny wartości browarnej w ziarnie były masa 1000 ziaren oraz celność. W słodzie oznaczano kruchość, zawartość białka ogólnego i rozpuszczalnego, liczbę Kolbacha, siłę diastatyczną, ekstraktywność, zaś w brzezce kongresowej lepkość, stopień ostatecznego odfermentowania i zawartość β -glukanu. Spośród powyższych parametrów największe znaczenie dla oceny browarności jęczmienia mają: ekstraktywność siodu, liczba Kolbacha, siła diastatyczna, lepkość i stopień ostatecznego odfermentowania. Te pięć cech jakościowych służy do obliczenia wskaźnika jakości Q, przyjmującego wartości w przedziale 0–9 (COBORU, 2005). Proces siodowania, oznaczenia celności, kruchości i masy 1000 ziaren przeprowadzono w Zakładzie Roślin Zbożowych, IHAR — PIB w Krakowie, pozostałe oznaczenia parametrów technologicznych wykonano w Samodzielnej Pracowni Oceny Jakości Produktów Roślinnych, IHAR — PIB w Radzikowie. Słodowaniu poddano 500 gramowe próby ziarna o grubości powyżej 2,5 mm. Proces siodowania prowadzono w temperaturze 12°C, przez 7 dni łącznie z pochłanianiem wody przez ziarno. Oznaczenie białka przeprowadzono zgodnie z normą PN-A-79083-9 na aparacie Kjeltec Auto 1030 Analizer. Oznaczenie zawartości ekstraktu przeprowadzono w oparciu o

metodykę podaną w normie PN-A-79083-6, zaś stopień ostatecznego odfermentowania oznaczono wg metody podanej w Analytica-EBC (Method 8.6.1), oba parametry przy użyciu gęstościomierza Anton Paar DMA 48. Siłę diastatyczną słoðu wykonano wg normy PN-A-79083-10. Lepkość brzezki wyznaczono przy pomocy lepkościomierza Brookfield LVTDV-II z obracającym się walcem. Zawartość β -glukanu wysokocząsteczkowego w brzezce oznaczono metodą fluorymetryczną z kalkofluorem (Analytica-EBC, Section 8 Worth, Method 8.13.2). Wyniki cech determinujących wartość browarną jęczmienia przedstawiono jako wartości średnie z 3 lokalizacji rozłokowania doświadczenia wstępnego.

Wybrane cechy: zawartość białka w słoðzie, β -glukanu wysokocząsteczkowego, ekstraktywność słoðu i lepkość brzezki poddano analizie statystycznej (analiza wariancji, procedura porównań wielokrotnych Tukey'a) przy użyciu Systemu SAS w wersji 9.2 (SAS Institute Inc., 2009).

WYNIKI I DYSKUSJA

Badane rody jęczmienia jarego cechowała mała zmienność parametrów jakościowych ziarna (tab. 1). Najbardziej zróżnicowaną cechą była zawartość β -glukanu wysokocząsteczkowego oraz siła diastatyczna, odpowiednio na poziomie 32% i 11%. Najwyższą zawartość β -glukanu (244 mg/l) oznaczono w brzezce uzyskanej z rodu STH 83225, natomiast najniższą (89 mg/l) w brzezce uzyskanej z rodu STH 81293. Wysoką zmienność tej cechy oraz podobny zakres zawartości w brzezce uzyskali w swoich badaniach także Czarnecki i in. (2004) oraz Ploch i in. (2005). Średnia zawartość β -glukanu wyniosła 146 mg/l. Zawartość β -glukanu w brzezce jest wypadkową jego zawartości w ziarnie oraz aktywności glukanolitycznej jęczmienia ujawniającej się w procesie słoðowania i zacierania (Kanauchi i Bamforth, 2008). Wysoka zawartość β -glukanu w brzezce jest cechą niekorzystną, powoduje podwyższenie lepkości brzezki i związane z tym kłopoty z filtracją zacieru. Może wpływać także negatywnie na inne cechy jakości słoðu, a mianowicie na ekstraktywność czy stopień odfermentowania (Ploch i in., 2005). Ponadto podwyższona ilość β -glukanu w brzezce powoduje mętnienie piwa oraz wytrącanie się osadów podczas leżakowania i przechowywania (Jamar i in., 2011). Wybór linii hodowlanych o niskiej zawartości β -glukanu jest priorytetowym kierunkiem selekcji w wielu programach hodowlanych jęczmienia browarnego na świecie (Powell i in., 1985; Molina-Cano i in., 2007).

Siła diastatyczna, która jest miarą aktywności enzymów amylolitycznych słoðu była na poziomie średnio 323 j.W-K, w zakresie od 247 do 403 j.W-K, odpowiednio dla rodów STH 87208 oraz BKH 7130. Wartości uzyskane dla badanych rodów jęczmienia były powyżej wymaganego minimum dla tej cechy, wynoszące dla słoðu z formy jarej co najmniej 240 j.W-K (Gąsiorowski, 1997). Podobne zakresy zmienności dla siły diastatycznej w swoich pracach prezentowali Bichoński i Burek (2000), Węgrzyn i Bichoński (2001) oraz Ploch i in. (2005). Siła diastatyczna jest uważana za ważną cechę jakości słoðu, stąd również jest prowadzona selekcja jęczmienia na tę cechę, bądź na aktywność α -amylazy, która jest bezpośrednio związana z miarą stopnia rozkładu

enzymatycznego skrobi, ale metodycznie jest analizą prostszą (Hayter i Riggs, 1978; Swanston, 1983; Arends i in., 1995).

Tabela 1

Zmienność wyróżników jakości browarnej ziarna jęczmienia jarego z doświadczeń wstępnych z 2011 roku (wartości średnie z 3 lokalizacji)
Variability of malting quality parameters in spring barley from preliminary field trials in 2011 (average values from 3 locations)

Nazwa linii/odmiany Breeding line/variety	MTZ Thousand kernel weight (g)	Celność Plumpness (%)	Kruchość słoju Friability (%)	Białko słoju* Malt protein* (% s.m. % of dry matter)	Białko rozpuszczalne Malt soluble protein (% s.m. % of dry matter)	Liczba Kolbacha Kolbach index (%)	Ekstraktywność* Extractability* (% s.m. % of dry matter)	Odfermen-towanie Fermentability (%)	Sila diastatyczna Diastatic power (j.W-K)	Lepkość brzezki* Wort viscosity* (mPa.s)	β-glukan brzezki* Wort β-glucan* (mg/l)
BKH 7130	42,6	97,2	60,7	11,8 ^{efhg}	5,46	46,9	81,8 ^{hij}	86,1	403	1,59 ^{ab}	127 ⁱ
BKH 7385	43,8	97,6	66,3	12,0 ^{cde}	4,96	42,6	82,9 ^{de}	85,3	353	1,56 ^{fg}	142 ^h
NAD 06142	42,8	96,8	58,6	11,4 ^{jk}	4,86	43,3	81,2 ^{kl}	85,2	270	1,57 ^{bcdefg}	192 ^c
NAD 06147	43,6	96,1	57,7	11,3 ^{kl}	4,92	44,1	81,6 ^{jk}	86,5	287	1,56 ^{fg}	205 ^b
NAD 07089	39,7	93,9	57,5	11,7 ^{ghi}	4,53	39,9	80,3 ⁿ	87,4	320	1,57 ^{cdefg}	172 ^f
NAD 07165	40,6	96,3	58,7	12,2 ^{bc}	5,49	45,4	82,2 ^{gh}	88,3	377	1,56 ^{defg}	171 ^f
RAH 270/08	43,8	96,4	55,2	11,6 ^{ij}	4,97	43,6	81,0 ^l	87,7	313	1,54 ^{fg}	111 ^k
RAH 275/08	43,3	97,0	65,3	11,1 ^{mn}	5,17	47,4	84,2 ^a	86,6	290	1,57 ^{cdefg}	185 ^{cd}
POB 1059/08	43,2	97,2	66,3	12,4 ^a	5,85	47,9	82,0 ^{hi}	84,5	350	1,59 ^{abcd}	98 ^{lm}
POB 6418/08	43,0	96,8	61,7	12,4 ^{ab}	5,67	46,7	83,7 ^b	84,2	333	1,59 ^{abcd}	106 ^{kl}
POB 1476/08	41,7	94,6	57,6	11,9 ^{def}	5,04	43,3	81,5 ^{jk}	84,1	307	1,61 ^a	182 ^{de}
STH 85331	42,4	95,0	49,1	12,0 ^{dc}	5,18	43,5	81,6 ^{ijk}	85,1	327	1,59 ^{abc}	127 ⁱ
STH 83601	41,5	96,2	60,9	11,7 ^{efghi}	5,48	46,6	83,0 ^{cd}	86,0	337	1,59 ^{abc}	97 ^{lmn}
STH 87208	41,2	93,9	60,6	11,0 ⁿ	5,11	47,0	83,0 ^d	88,8	247	1,56 ^{efg}	120 ^{ij}
STH 81287	43,0	98,0	57,9	11,2 ^{lmn}	5,70	51,5	82,9 ^{de}	87,1	383	1,58 ^{bcdef}	92 ^{mn}
STH 81292	41,7	97,5	57,7	11,6 ^{hij}	5,41	47,3	82,2 ^{gh}	86,8	350	1,56 ^{efg}	108 ^k
STH 81293	43,1	98,2	60,0	11,8 ^{defg}	5,43	45,3	82,6 ^{def}	86,7	333	1,59 ^{abcde}	89 ⁿ
STH 83225	43,2	97,9	56,1	11,7 ^{ghi}	4,70	40,7	81,6 ^{jk}	86,3	303	1,57 ^{bcdefg}	244 ^a
STH 86981	40,6	96,2	53,4	11,4 ^{jk}	5,38	47,9	82,5 ^{efg}	87,4	333	1,57 ^{cdefg}	113 ^{jk}
Blask	41,4	94,7	63,0	11,6 ^{hij}	5,32	46,8	83,4 ^{bc}	86,4	297	1,57 ^{bcdef}	176 ^{ef}
Conchita	45,5	97,9	60,5	11,2 ^{klm}	5,00	45,5	82,6 ^{de}	86,3	310	1,56 ^{fg}	186 ^{cd}
Suweren	42,2	92,8	47,9	11,1 ^{mn}	4,60	42,5	81,3 ^{kl}	85,6	287	1,56 ^{fg}	160 ^g
Wartość średnia Mean value	42,5	96,3	58,8	11,6	5,2	45,3	82,2	86,3	323,2	1,57	145,6
CV (%)	3,0	1,5	7,8	3,4	6,7	5,8	1,1	1,4	11,4	1,0	31,5

* — Wartości opatrzone różnymi literami, na podstawie procedury porównań wielokrotnych Tukeya różnią się istotnie przy poziomie $P \leq 0,05$

* — Values with different letters, based on Tukey multiple comparison procedure, are significantly different at $P \leq 0.05$

Lepkość brzezki, na którą duży wpływ ma zawartość β-glukanu w słodzie charakteryzuje się wysoką odziedziczalnością (Węgrzyn i Bichoński, 2001). Cecha ta odznaczała się najniższym współczynnikiem zmienności (1%), w zakresie od 1,54 do 1,61 mPa.s, odpowiednio dla rodów RAH 275/08 oraz POB 1476/08, przy lepkości średniej 1,57 mPa.s. Większość badanych rodów (11) oraz odmiany wzorcowe charakteryzowały się lepkością brzezki nieróżniącą się istotnie od wartości najniższej. W grupie o

najwyższej lepkości nieodbiegającej istotnie od wartości najwyższej znalazło się 6 rodów jęczmienia.

Ekstraktywność jest najważniejszym wskaźnikiem jakości słodu, określa ilość substancji wyekstrahowanych ze słodu do brzezki w procesie zacierania. Wartości uzyskiwane dla tej cechy z analizy brzezki kongresowej mieszczą się najczęściej w granicach 79 do 82% dla sładów jasnych, przy czym im wyższa ekstraktywność tym sład jest bardziej wartościowy, gwarantuje uzyskanie większej ilości piwa z tej samej masy słodu (Gąsiorowski, 1997). W niniejszych badaniach ekstraktywność charakteryzowała się niskim poziomem zmienności (1,1%), przy średniej wartości 82,2%, w zakresie od 80,3 do 84,2% odpowiednio dla rodów NAD 07089 i RAH 275/08, które miały wartości istotnie niższą i istotnie wyższą od wartości uzyskanych dla pozostałych rodów (tab. 1). Ekstraktywność powyżej 82%, ale niższą od wartości najwyższej stwierdzono dla 9 rodów oraz odmian wzorcowych Blasku i Conchity. Różnice w ekstraktywności pomiędzy tymi odmianami były również istotne, z wartością wyższą dla odmiany Blask (83,4 vs. 82,6%). Następną ważną cechą jakości słodu, stopień ostatecznego odfermentowania brzezki, określa procentowy spadek zawartości ekstraktu w cieczy pofermentacyjnej w porównaniu do brzezki kongresowej, innymi słowy oznacza ilość alkoholu jaka może być wyprodukowana z określonej ilości słodu (Molina-Cano, 1987). Cecha ta w niniejszych badaniach była mało zróżnicowana (1,4%), w zakresie od 84,1 do 88,8%, dla rodów POB1476/08 oraz STH 87208. Obie cechy jakości słodu, ekstraktywność i odfermentowanie charakteryzują się bardzo wysoką odziedziczalnością, dlatego są cechami branymi pod uwagę w selekcji materiału hodowlanego (Molina-Cano, 1987). Zbliżone zakresy wartości tych dwóch cech uzyskali również inni autorzy (Vargas i in., 1983; Bichoński i Burek, 2000; Węgrzyn i Bichoński, 2001; Ploch i in., 2005).

Ogólnie materiał badany z roku zbioru 2011 charakteryzował się dobrą celnością ziarna (96,3%), w zakresie 93,9 do 98,2%. Niższą celność miały dwa rasy NAD 07089 i STH 87208, najwyższą zaś STH 81293. Najniższą celność miała wzorcowa odmiana pastewna, Suweren (92,8%). Wysoka celność gwarantuje uzyskanie dużej wydajności słodu z plonu ziarna zebranego z jednostki powierzchni (Gąsiorowski, 1997). Sład uzyskany ze zbioru ziarna w roku 2011 odznaczał się jednakże niedostateczną kruchością (58,8%), w zakresie od 47,9 do 66,3%, dość wysoką zawartością białka (11,6%) w zakresie od 11% do 12,4%. Najniższą kruchością charakteryzował się sład z odmiany Suweren, z rodów zaś sładów STH 86981 (53,4%), najwyższą wartość miały natomiast słody otrzymane z rodów BKH 7385 oraz POB 1059/08 (66,3%). W odniesieniu do białka słodu ród STH 87208 miał najniższą zawartość tego składnika, przy czym w grupie o nieróżniącej się istotnie ilości białka znalazły się 3 dalsze rasy oraz odmiana Suweren. Z kolei najwyższą ilość białka stwierdzono w sładzie z rodów POB 1059/08 oraz POB 6418/08. Cecha kruchości jest miarą rozluźnienia bielma w procesie słodowania, stąd sład kruchy i dobrze rozluźniony, o wartości >81%, daje możliwość uzyskania w procesie zacierania dużej wydajności ekstraktu (Brennan i in., 1996). Wysoka zawartość białka, powyżej 11,5%, wpływa negatywnie na ekstraktywność słodu oraz na liczbę Kolbacha (Molina-Cano i in., 1997). Liczba Kolbacha to procentowy stosunek zawartości białka w brzezce do ilości białka

zawartego w słodzie. Wartość tej cechy wynosiła średnio 45,3%, w zakresie od 39,9 do 51,5%, odpowiednio dla rodów NAD 07089 oraz STH 81287.

Na podstawie obliczonego wskaźnika Q, który oparty jest na klasach jakości wyliczonych w stosunku do odmiany Blask dla 5 podstawowych cech oceny browarnej słodu i brzezki tj. ekstraktywności, liczby Kolbacha, stopnia odfermentowania, siły diastatycznej oraz lepkości brzezki (COBORU, 2005), wyodrębniono cztery kategorie wartości browarnej dla materiału badanego w roku 2011 (tab. 2).

Tabela 2

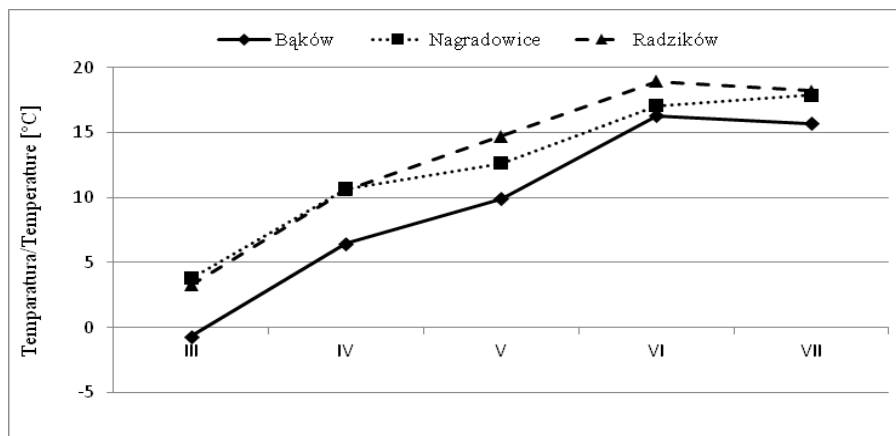
Klasy jakości i ranking nowych linii jęczmienia jarego z doświadczeń wstępnych w roku 2011 pod względem wartości browarnej w stosunku do odmiany wzorcowej Blask
Malting quality categories and ranking of spring barley lines chosen for preliminary trials in 2011 in terms of brewing value in relation to Blask standard variety

Nazwa linii/odmiany Breeding line/variety	Liczba Kolbacha Kolbach index	Ekstraktywność Extractability	Lepkość brzezki Wort viscosity	Odfermentowanie Fermentability	Siła diastatyczna Diastatic power	Q	Kategoria wartości browarnej Malting quality category
Blask	46,8	83,4	1,57	86,4	297		
RAH 275/08	5	8	6	6	5	6,50	dobra good
STH 81287	8	5	6	7	9	6,50	
POB 6418/08	5	7	5	1	7	5,50	
STH 86981	6	4	6	7	7	5,50	
STH 87208	5	5	6	9	3	5,45	średnia do dobrej average to good
NAD 07165	4	3	6	9	9	5,40	
STH 83601	5	5	5	5	7	5,30	
STH 81293	4	4	6	6	7	5,05	
STH 81292	5	3	6	6	8	4,95	
BKH 7385	2	5	6	3	8	4,85	
Conchita	4	4	6	5	6	4,75	
BKH 7130	5	2	5	5	9	4,40	
POB 1059/08	6	3	5	2	8	4,35	
RAH 270/08	2	1	6	8	6	3,70	średnia average
NAD 07089	1	1	6	7	6	3,40	
STH 85331	2	2	5	3	7	3,35	
NAD 06147	3	1	6	5	5	3,25	
STH 83225	1	1	6	5	5	2,95	niebrowarna not for malting
Suweren	1	1	6	4	5	2,80	
NAD 06142	2	1	6	3	4	2,65	
POB 1476/08	2	1	5	1	6	2,50	

Spośród 19 rodów jęczmienia jarego, w grupie o najwyższej kategorii wartości browarnej, tj. dobrej (wartość Q od 5,50 do 6,74) znalazły się cztery nowe rody, dwa z nich pochodziły z hodowli strzeleckiej (STH 81287 i STH 86981) oraz po jednym z hodowli małopolskiej (POB 6418/08) oraz smolickiej (RAH 275/08). Najwięcej rodów (8) wraz ze wzorcową odmianą Conchita charakteryzowało się średnią do dobrej kategorią wartości browarnej. W kategorii średniej znalazły się cztery rody, a trzy pozostałe wraz z odmianą Suweren sklasyfikowano jako niebrowarne. Ród, który uzyskał najwyższą wartość wskaźnika Q charakteryzował się istotnie wyższą ekstraktywnością słodu (84,2%) od ekstraktywności dla odmiany Blask oraz pozostałych badanych rodów (tab. 1). Według

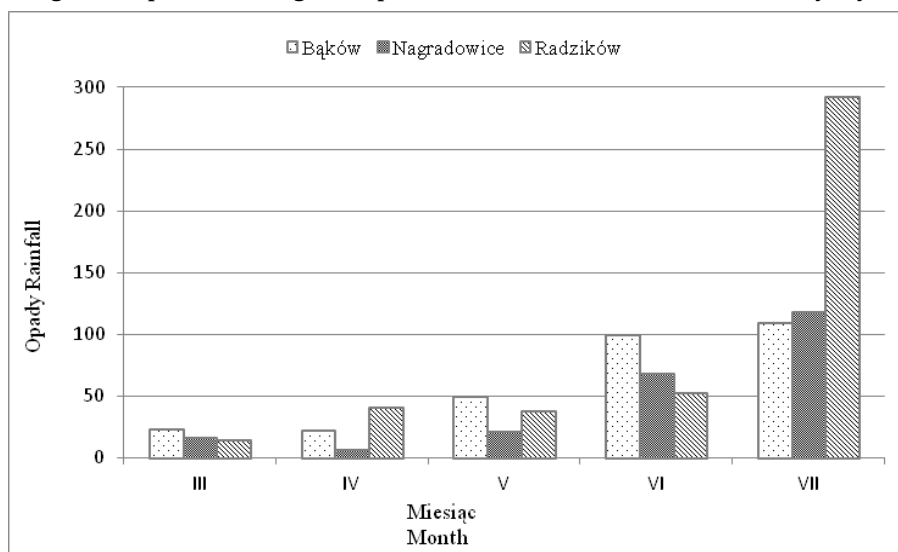
COBORU (2005) ekstraktywność w największy sposób wpływa na wartość wskaźnika Q (0,40), podczas gdy cztery pozostałe cechy są równoważne (0,15).

Zmienne warunki glebowo-klimatyczne występujące w 3 miejscowościach uprawy, szczególnie w okresie dojrzewania ziarna i zbioru (rys. 1, 2), w sposób istotny wpłynęły na wartość browarną ziarna badanych rodów oraz odmian wzorcowych jęczmienia (tab. 3 i 4).



Rys. 1. Średnie temperatury powietrza w okresie wegetacji w poszczególnych miejscowościach uprawy jęczmienia browarnego w roku 2011

Fig. 1. Average air temperatures in vegetation period in locations of field trials of malt barley in year 2011



Rys. 2. Suma opadów w okresie wegetacji w poszczególnych miejscowościach uprawy jęczmienia browarnego w roku 2011

Fig. 2. Average precipitation during vegetation period in locations of field trials of malt barley in year 2011

Tabela 3

Wpływ miejsca uprawy na wartości wyróżników jakości browarnej ziarna jęczmienia jarego ze zbioru 2011 roku

Influence of trial location on malting quality parameters of spring barley harvested in 2011

Cecha Trait	Bąków	Nagradowice	Radzików	Zmienność Variability (%)
MTZ Thousand kernel weight [g]	42,9	42,0	42,5	0,9
Celność Grain plumpness (%)	96,2	97,3	95,3	0,8
Kruchość Malt friability (%)	47,5	55,1	73,8	18,8
Białko słodu Malt protein (% s.s.)	13,5 ^a	12,0 ^b	9,5 ^c	14,1
Białko rozp. Malt soluble protein (%)	5,8	4,7	5,1	9,0
Liczba Kolbacha Kolbach index (%)	43,0	39,4	53,4	13,1
Ekstraktywność Extractability (% s.s.)	80,9 ^c	82,0 ^b	83,8 ^a	1,5
Lepkość brzezki Wort viscosity (mPa·s)	1,60 ^a	1,53 ^c	1,58 ^b	1,7
Odfermentowanie Fermentability (%)	86,1	85,7	87,2	0,7
Siła diastatyczna Diastatic power (°W-K)	380	330	260	15
β-glukan β-glucan (mg/l)	166 ^b	173 ^a	98 ^c	23

Wartości w rzędach opatrzone różnymi literami różnią się istotnie przy poziomie $P \leq 0,05$

Values in rows with different letters differ significantly at level $P \leq 0.05$

Tabela 4

Podsumowanie analizy wariancji wybranych cech determinujących wartość browarną jęczmienia
Summary of analysis of variance for selected parameters that determine malting quality of barley

Cecha Trait	Miejsce uprawy Location of field trial		Odmiana Variety		Interakcja G×E Interaction G×E	
	MS	P Value	MS	P Value	MS	P Value
Białko słodu Malt protein	178,59	<0,0001	0,992	<0,0001	0,369	<0,0001
Ekstraktywność Extractability	95,11	<0,0001	5,488	<0,0001	1,269	<0,0001
Lepkość brzezki Wort viscosity	0,049	<0,0001	0,001	<0,0001	0,004	<0,0001
β-glukan brzezki β-glucan	74874	<0,0001	11325	<0,0001	3532	<0,0001

MS — średnia kwadratów odchyłeń

MS — mean square

Słody uzyskane z ziarna wyprodukowanego w Bąkowie charakteryzowały się istotnie wyższą zawartością białka (średnio 13,5%), niższą kruchością (średnio 47,5%) oraz stopniem odfermentowania (średnio 80,9%), a także bardzo wysoką siłą diastatyczną

(średnio 380 j.W-K) w porównaniu do wartości tych cech uzyskanych dla słołów otrzymanych z ziarna pochodzącego z Radzikowa. Biorąc pod uwagę zróżnicowanie pomiędzy miejscami uprawy cech warunkujących wartość browarną jęczmienia, stwierdzono najwyższy modyfikujący wpływ środowiska na zawartość β -glukanu wysokocząsteczkowego (CV = 23%). W swoich wcześniejszych badaniach Ploch i in. (2005) również stwierdzili największą zmienność w obrębie miejscowości dla zawartości β -glukanu. Swanston i in. (1995) porównując wartość browarną jęczmienia wyprodukowanego w kontrastowych środowiskach, w Hiszpanii i Szkocji, stwierdzili, że wyższa temperatura i warunki suszy sprzyjają wyższej akumulacji β -glukanu, szczególnie jego frakcji rozpuszczalnej w wodzie. W niniejszych badaniach najmniejszą ilość β -glukanu oznaczono w brzezce uzyskanej ze słołów pochodzących z ziarna wyprodukowanego w Radzikowie (98 mg/l), a najwyższą w Nagradowicach (173 mg/l). Duże różnice w zależności od miejsca uprawy stwierdzono dla kruchości słołu (CV = 19%), siły diastatycznej (CV = 15%), białka słołu (CV = 14%) oraz liczby Kolbacha (CV = 13%).

Tabela 5

Współczynniki korelacji liniowej Pearsona pomiędzy cechami determinującymi wartość browarną jęczmienia
Pearson's linear correlation coefficients between the parameters which determine malting quality of barley

Cecha Trait	Celność Plump- ness	Kruchość słołu Friability	Białko słołu Malt protein	Białko rozpusz- czalne Malt soluble protein	Liczba Kolbacha Kolbach index	Ekstrak- tywność Extracta- bility	Odfermen- -towanie Fermenta- bility	Siła diastatyczna Diastatic power	Lepkość brzezki Wort viscosity	β -glukan brzezki Wort β -glucan
MTZ Thousand kernel weight	0,590**	0,238	-0,072	-0,004	0,045	0,177	-0,342	-0,032	-0,141	0,059
Celność Grain plumpness		0,449*	0,207	0,437*	0,339	0,313	-0,079	0,485*	0,029	-0,225
Kruchość Friability			0,252	0,406	0,334	0,572**	-0,106	0,147	0,112	-0,082
Białko słołu Malt protein				0,436*	-0,105	-0,040	-0,476*	0,512*	0,517*	-0,290
Białko rozpuszczalne Malt soluble protein					0,840**	0,557**	-0,089	0,595**	0,454*	-0,783**
Liczba Kolbacha Kolbach index						0,656**	0,148	0,362	0,180	-0,661**
Ekstraktywność Extractability							-0,004	0,056	0,092	-0,351
Odfementowanie Fermentability								-0,048	-0,610*	-0,086
Siła diastatyczna Diastatic power									0,311	-0,514*
Lepkość brzezki Wort viscosity										-0,228

*Korelacja istotna przy $P \leq 0,05$; **korelacja istotna przy $P \leq 0,01$

*Correlation significant at $P \leq 0,05$; **correlation significant at $P \leq 0,01$

Pozostałe parametry w minimalnym stopniu były modyfikowane przez środowisko. O dużym wpływie środowiska na zawartość białka w jęczmieniu browarnym wskazuje wielu autorów (Węgrzyn i in., 1982; Molina-Cano, 1987; Kowalska i in., 1991; Swanston i in., 1995; Bichoński i Burek, 2000).

Na podstawie dwuczynnikowej analizy wariancji stwierdzono, że na wartość browarną rodów jęczmienia i odmian wzorcowych badanych w roku 2011, mierzonych zawartością białka w słodzie, jego ekstraktywnością oraz lepkością brzezki i zawartością w niej β -glukanu, istotny wpływ miał zarówno genotyp jak i środowisko (tab. 4). Zaobserwowano również występowanie istotnych interakcji genotypowo-środowiskowych dla wszystkich analizowanych cech. Ze wszystkich czynników wpływ środowiska był jednakże największy. Stosunkowo krótki okres wegetacji jęczmienia jarego (ok. 100 dni) może implikować dużą wrażliwość tego zboża na krótkotrwały brak lub nadmiar wody, bądź na zmiany temperatury powietrza (Gąsiorowski, 1997; Ploch i in., 2005).

Wyniki oznaczeń posłużyły do obliczenia współczynników korelacji liniowych między parametrami determinującymi wartość browarną jęczmienia jarego (tab. 5). Na uwagę zasługują istotne zależności występujące między ekstraktywnością a kruchością słodu ($r = 0,57$), białkiem rozpuszczalnym ($r = 0,56$) oraz liczbą Kolbacha ($r = 0,66$). Korzystna dla prac hodowlanych jest wprost proporcjonalna korelacja między celnością a masą 1000 ziaren ($r = 0,59$). Celność z kolei miała istotny wpływ na kruchość słodu ($r = 0,45$), białko rozpuszczalne ($r = 0,44$) oraz siłę diastatyczną ($r = 0,49$). Zależności te potwierdzają wcześniejsze badania Swanston i in. (1995), Bichońskiego i Burka (2000) oraz Ploch i in. (2005). Wyniki niniejszych badań są pomocne hodowcom jak również pozwolą na jak najbardziej efektywne wykorzystanie ziarna jęczmienia jarego w Polsce.

WNIOSKI

1. Genotyp oraz środowisko wpływały istotnie na wartość browarną nowych rodów jęczmienia jarego. Stwierdzono również istotną interakcję genotypowo-środowiskową ($G \times E$) pomiędzy rodami a miejscem uprawy.
2. Najwyższą kategorią browarną była dobra, w której sklasyfikowano cztery rody. Większość rodów jęczmienia browarnego cechowała się średnią do dobrej wartością browarną.
3. Cechą najbardziej różnicującą rody jęczmienia była zawartość β -glukanu wysokocząsteczkowego w słodzie, dla którego stwierdzono wysokie współczynniki zmienności zarówno dla genotypów jak i miejsca uprawy.
4. Stwierdzono istotną korelację pomiędzy masą 1000 ziaren a celnością. Zależność ta może być wykorzystana w selekcji materiału hodowlanego jęczmienia browarnego.

LITERATURA

- Analytica-EBC, European Brewery Convention, 2004, Fachverlag Hans Carl Nurnberg.
 Arends A.M., Fox G.P., Henry R.J., Marschke R.J., Symons M.H. 1995. Genetic and environmental variation in the diastatic power of Australian barley. *J. Cereal Sci.* 21: 63 — 70.

- Brennan CS, Harris N, Smith D & Shewry PR, 1996. Structural differences in the mature endosperms of good and poor malting barley cultivars. *J. Cereal Sci.* 24: 171 — 177.
- Bichoński A., Burek J. 2000. Zmienność i współzależność pomiędzy wybranymi cechami jakościowymi jęczmienia ozimego browarnego. *Biul. IHAR* 215:161 — 166.
- Bichoński A., Śmiałowski T. 2004. Relationship and correlations between brewery traits of the spring barley varieties. *Elect. J. Pol. Agric. Univ.* 7 (2), artykuł #06.
- COBORU. 2005. Kategorie wartości browarnej jęczmienia.
- Czarnecki Z., Czarnecka M., Śpiewak A. 2004. Zmiany wysokocząsteczkowych β -glukanów i aktywności β -glukanazy w procesie słodowania jęczmienia browarnego. *Acta Sci. Pol. Technol. Alimentaria* 3(2): 137 — 146.
- Gąsiorowski H. 1997. Jęczmień-Chemia i Technologia. PWR i L, Poznań.
- Hayter A.M., Riggs T.J. 1978. The inheritance of diastatic power and α -amylase contents in spring barley. *Theor. Appl. Genet.* 52: 251 — 256.
- Jamar C., Du Jardin P., Fauconnier M-L. 2011. Cell wall polysaccharides hydrolysis of malting barley (*Hordeum vulgare* L.): a review. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 15: 301 — 313.
- Kanauchi M., Bamforth C.W. 2008. The relevance of different enzymes for the hydrolysis of β -glucans in malting and mashing. *J. Inst. Brew.* 114: 224 — 229.
- Kowalska M., Sowa J., Winiarski J. 1991. Wartość gospodarcza zagranicznych odmian jęczmienia i rodów hodowli krajowej. *Biul. IHAR* 179: 91 — 103.
- Molina-Cano J.L. 1987. The EBC Barley and Malt Committee Index for the evaluation of malting quality in barley and its use in breeding. *Plant Breeding* 98: 249 — 256.
- Molina-Cano J-M., Francesch M., Perez-Vendrell A.M., Ramo T., Voltas J., Brufau, J. 1997. Genetic and environmental variation in malting and feed quality of barley. *J. Cereal Sci.* 25: 37 — 47.
- Molina-Cano J-M., Moralejo M., Elia M., Munoz P., Russel J.R., Perez-Vendrell A.M., Ciudad F., Swanston J.S. 2007. QTL analysis of a cross between European and North American malting barleys reveals a putative candidate gene for β -glucan content on chromosome 1H. *Mol. Breeding*. 19: 275 — 284.
- Olejnik J., 2009. Zmiany klimatyczne i ich wpływ na rolnictwo w Polsce- część druga. Fundacja na Rzecz Rozwoju Polskiego Rolnictwa.
- Ploch M., Cyran M., Kasztelowicz K., Boros D., Burek J. 2005. Zmienność i współzależność cech jakości jęczmienia browarnego ze zbioru w 2004 roku. *Komunikat. Biul. IHAR* 235:155 — 162.
- Polska Norma, PN-A-79083, styczeń 1998.
- Powell W., Caligari P.D.S., Swanston J. S., Jinks J. L. 1985. Genetical investigations into beta-glucan content in barley. *Theor. Appl. Genet.* 71: 461 — 466.
- SAS Institute Inc. 2009. SAS/STAT 9.2 User's Guide, Second Edition. Cary, NC, USA: SAS Publishing, SAS Institute Inc.
- Sharma R.K., Verma R.P.S. 2010. Effect of irrigation, nitrogen and varieties on the productivity and grain malting quality in barley. *Cereal Res. Commun.* 38 (3): 419 — 428.
- Swanston J.S. 1983. An alternative approach to breeding for high diastatic power in barley. *Euphytica*. 32: 919 — 924.
- Swanston J.S., Ellis R.P., Rubio A., Perez-Vendrell A., Molina-Cano J.L. 1995. Differences in malting performance between barleys grown in Spain and Scotland. *J. Inst. Brew.* 101 (4): 261 — 265.
- Vargas L., Molina-Cano J.L., Hassan S. 1983. A quality index for the assessment of barley varieties. *Monatsschr. Brauwissen.* 12: 481 — 485.
- Vigier B.J., Choo T.M., Fregeau-Reid J. 2009. Exploring associations between agronomic and chemical composition traits for barley improvement. *Cereal Res. Commun.* 37 (1): 111 — 119.
- Wang J.M., Chen J.X., Dai F., Wu F.B., Yang J.M., Zhang G.P. 2007. Protein fractions in barley grains as affected by some agronomic factors and their relationships to malt quality. *Cereal Res. Commun.* 35: 129 — 140.
- Węgrzyn S., Bichoński A. 2001. Zróżnicowanie i genetyczne uwarunkowanie cech wartości technologicznej jęczmienia jarego browarnego. *Biul. IHAR* 220: 153 — 160.
- Węgrzyn S., Kowalska M., Ruśniak L. 1982. Zmienność i genetyczne uwarunkowanie plonu oraz cech wartości browarnej jęczmienia jarego. *Hod. Rośl. Aklim.* 26, 1: 41 — 51.

Winiarski J. 1998. Odziedziczalność wybranych cech wartości browarnej jęczmienia jarego. Biul. IHAR 207: 25 — 34.

PODZIĘKOWANIA

Autorzy dziękują pracownikom inżynieryjno-technicznym SPOJPR, IHAR — PIB za zaangażowanie i pomoc w wykonaniu analiz chemicznych.

ELŻBIETA MALUSZYŃSKA¹**ANNA SZYDŁOWSKA¹****DANUTA MARTYNIAK¹****SZYMON DZIAMBA²****JOANNA DZIAMBA²**¹ Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — Państwowy Instytut Badawczy w Radzikowie² Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Wpływ preparatów zawierających efektywne mikroorganizmy na zdolność kiełkowania nasion z upraw ekologicznych

The influence of formulations containing effective microorganisms on germination capacity of organic seeds

Celem pracy była ocena zdolności kiełkowania nasion po traktowaniu trzema preparatami zawierającymi efektywne mikroorganizmy: EM-Farming, Ema Plus, ISD. Materiałem do badań były nasiona pszenicy jarej, jęczmienia jarego, czterech odmian owsa, facelii błękitnej, seradeli, łubinu żółtego i łubinu wąskolistnego pochodzące z uprawy ekologicznej. Ocenę zdolności kiełkowania nasion przeprowadzono zgodnie z metodyką ISTA (2010). Zaprawianie nasion preparatami z efektywnymi mikroorganizmami nie miało wpływu na kiełkowanie pszenicy i jęczmienia. U owsa wpłynęło pozytywnie na kiełkowanie tylko jednej odmiany Polar, spośród czterech badanych, ale różnica nie była istotna statystycznie. Nasiona łubinu wąskolistnego po zastosowaniu preparatów kiełkowały nieco lepiej niż nasiona kontrolne. Zdolność kiełkowania nasion seradeli wzrosła po moczeniu w roztworze Ema Plus i ISD, jednak nieistotnie statystycznie. Nasiona facelii błękitnej wykazywały wyższe kiełkowanie po zastosowaniu roztworu ISD. Użyte preparaty nie spowodowały istotnego statystycznie zwiększenia zdolności kiełkowania nasion, ale stwierdzono mniej siewek nienormalnych oraz nasion martwych.

Słowa kluczowe: efektywne mikroorganizmy, nasiona, zdolność kiełkowania

The aim of this study was to evaluate germination capacity after seed treatment with three formulations containing effective microorganisms: EM-Farming, Ema Plus, ISD. The experimental material were the seeds of spring wheat, barley, oats, phacelia, serradella, yellow lupine and blue lupine from organic farming. Germination capacity was evaluated in accordance with the ISTA Rules (2010). Seed treatment with effective microorganisms had no effect on germination capacity of wheat and barley. Only for one variety of oat, (Polar), from four tested, germination capacity was improved after seed treatment, but the difference was not statistically significant. After soaking in the solution of Ema Plus and ISD germination capacity of serradella seed was higher, but the difference was also not statistically significant. After application of each seed treatment the blue lupine germinated slightly better than the control seeds. Seeds of lacy phacelia showed higher germination after application the

solution of the ISD. The three formulations with effective microorganisms did not cause significant increase in seed germination, but there were less abnormal seedlings and dead seeds.

Key words: effective microorganisms, germination capacity, seed treatment

WSTĘP

Współczesne rolnictwo zużywa bardzo dużo środków chemicznych, które negatywnie wpływają na środowisko i stan gleby. Dlatego są podejmowane działania mające na celu ograniczenie stosowania chemii i przywracanie bioróżnorodności. W ostatnich latach następuje wzrost areалу upraw metodami ekologicznymi lub integrowanymi i jednocześnie wzrasta zainteresowanie proekologicznymi metodami poprawy jakości i zdrowotności nasion (Janas, Grzesik, 2006 a). Wśród metod biologicznych wykorzystuje się wiele zależności dotyczących mikroorganizmów obejmujących ekologię, fizjologię, biochemię i biotechnologię (Okorski, 2007). W związku z tym coraz większą popularność zdobywają preparaty składające się z efektywnych mikroorganizmów zawierające bakterie mlekowe (*Lactobacillus casei*, *Streptococcus lactis*), bakterie fotosyntetyzujące (*Rhodopseudomonas palustris*, *Rhodobacter spae*), drożdże (*Saccharomyces albus*, *Candida utilis*), promieniowce (*Streptomyces albus*, *S. griseus*) oraz grzyby pleśniowe (*Aspergillus oryzae*, *Mucor hiemalis*) (cyt.za: Janas, 2009). Efektywne organizmy powodują zwiększenie aktywności biologicznej gleby i ograniczenie procesów gnilnych, zwiększenie zawartości próchnicy, poprawę przyswajalności trudnodostępnych związków, zwiększenie efektu fotosyntezy, hamowanie rozwoju fitopatogenów oraz poprawę jakości plonu. Producenci biopreparatów z efektywnymi mikroorganizmami polecają je między innymi do poprawienia żyzności i urodzajności gleby, do polepszenia procesu kiełkowania, ukorzeniania, kwitnienia, a także polepszenia jakości owoców. Preparaty w zależności od potrzeb mogą być stosowane dogłębowo, jako opryski roślin lub w formie zapraw do nasion. W ochronie środowiska mogą wspomagać zmniejszanie stosowania nawozów sztucznych, natomiast w gospodarce komunalnej i gospodarstwie domowym mogą być użyte do neutralizacji odorów i rewitalizacji wody. Ponadto wykazują działanie antyseptyczne, probiotyczne i antyutleniające. Szczególnie działanie odkażające dla nasion może być interesujące. Wykazano, że grzyby z rodzaju *Trichoderma* są zdolne do produkcji związków przyspieszających kiełkowanie nasion np. zeatyny i gibereliny (Dziąg i Szczech, 2011). Janas (2009) w obszernej publikacji dokonała przeglądu najnowszych wyników badań dotyczących zastosowania efektywnych mikroorganizmów w uprawach roślin. Autorka wykazała, że preparat mikrobiologiczny może być z powodzeniem wykorzystywany w produkcji roślin rolniczych, sadowniczych, warzywnych, leczniczych i ozdobnych. Z doświadczeń prowadzonych w roku 2011 w Instytucie Ochrony Roślin (www.ior.poznan.pl) wynika, że stosowanie preparatów EM powodowało zwiększenie świeżej i suchej masy ziół oraz większą zawartość olejków eterycznych. Dziamba i Dziamba (2009, 2011) stwierdzili, że preparaty zawierające efektywne mikroorganizmy miały pozytywny wpływ na plon pszenicy i kukurydzy, gdy zastosowano je do zaprawiania nasion. Ponadto Janas i Grzesik (2006 a) dowiedli, że kondycjonowanie nasion wybranych

gatunków roślin warzywnych, leczniczych i ozdobnych w biopreparacie EM zwiększyło zdrowotność nasion i poprawiło wartość siewną.

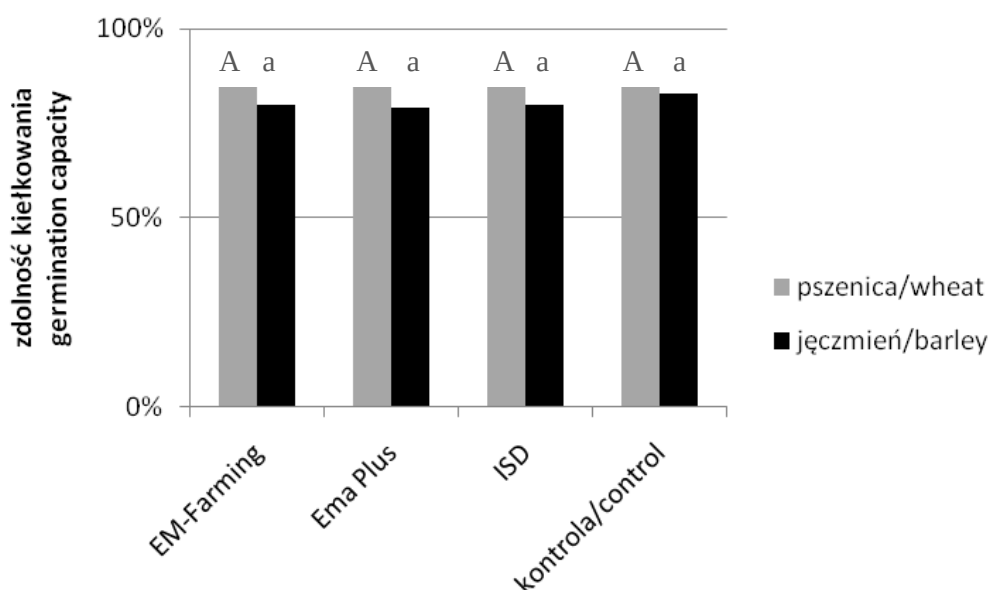
Celem pracy była ocena wpływu trzech preparatów zawierających efektywne mikroorganizmy na zdolność kiełkowania nasion pochodzących z upraw ekologicznych.

MATERIAŁ I METODY

Badano nasiona z uprawy ekologicznej następujących gatunków: pszenicy jarej (odmiana Nawra), jęczmienia jarego (Skarb), owsa (odmiany Koneser, Krezus, Polar, Rajtar), facelii błękitnej, seradeli, łubinu żółtego i łubinu wąskolistnego. Nasiona trzech ostatnich gatunków nie miały tożsamości odmianowej. Do zaprawiania zastosowano w formie roztworów następujące preparaty: EM-Farming, Ema Plus i ISD. Preparat Ema Plus charakteryzuje się zwiększoną ilością bakterii fotosyntetycznych w porównaniu do EM-Farming. Skład preparatu ISD różni się od preparatów EM, ale jest objęty tajemnicą handlową. Zgodnie z zaleceniami producentów preparaty w celu zaprawiania rozcieńczono w stosunku 1:10. Czas moczenia nasion w roztworach wynosił 30 minut, oprócz nasion łubinu, które moczone 2 godz. Nasiona kontrolne były moczone w wodzie przez taki sam czas, jak w roztworach preparatów. Moczenie zastosowano tuż przed wysiewem. Zarówno warunki kiełkowania, jak i ocena zdolności kiełkowania były przeprowadzone zgodnie z metodyką zawartą w Międzynarodowych Przepisach Oceny Nasion ISTA (2010). Po zaprawieniu wilgotne nasiona wysiewano na podłoże bibułowe, jedynie nasiona łubinu w piasku. Zarówno podłoże bibułowe, jak i podłoże z piasku były nawilżone do 60% pojemności wodnej, a wysiane nasiona były przykryte warstwą bibuły lub piasku. Zastosowano temperaturę stałą 20°C bez sztucznego oświetlenia dla wszystkich badanych gatunków, oprócz facelii, której nasiona kiełkowano w temperaturze zmiennej 20/30°C. Analizę kiełkowania każdego wariantu wykonano w 3 powtórzeniach po 50 nasion. Dla danego gatunku podłoże, warunki kiełkowania oraz terminy liczenia były jednakowe zarówno dla nasion kontrolnych, jak i nasion zaprawianych. Termin pierwszego oraz końcowego liczenia był zgodny z Przepisami ISTA (2010) i wynosił: dla pszenicy po 4 dniach pierwsze liczenie, po 8 dniach końcowe liczenie, dla jęczmienia po 4 i 7 dniach, dla owsa po 5 i 10 dniach, dla facelii po 5 i 14 dniach, dla seradeli po 7 i 14 dniach, dla łubinu żółtego po 10 i 21 dniach, dla łubinu wąskolistnego po 5 i 10 dniach. Uzyskane wyniki poddano transformacji Blissa, obliczenia statystyczne, analizę wariancji i procedurę porównań wielokrotnych Tukeya wykonano w programie SAS.

WYNIKI I DYSKUSJA

W prezentowanych badaniach zdolność kiełkowania nasion pszenicy w każdym wariancie zaprawiania wahała się od 92 do 95% i nie stwierdzono różnic statystycznych w stosunku do nasion kontrolnych (rys. 1). Jęczmień po moczeniu nasion w wodzie kiełkował na poziomie 83%, natomiast po zastosowaniu każdego z preparatów na poziomie 79–80%.



Literami oznaczono grupy jednorodne wariantów czynnika dla każdego badanego gatunku; grupy tą samą literą nie różnią się istotnie. Wielkimi literami oznaczono grupy jednorodne dla pszenicy, małymi dla jęczmienia
Homogenous groups for each species are marked with letters, capital ones for wheat and small ones for barley, groups marked with the same letter do not differ significantly

Rys. 1. Zdolność kiełkowania nasion pszenicy i jęczmienia w zależności od preparatu zawierającego efektywne mikroorganizmy

Fig. 1. Germination capacity of wheat and barley seeds depending on the formulation containing effective microorganisms

U obu omawianych gatunków nie stwierdzono zwiększenia zdolności kiełkowania po aplikacji preparatami zawierającymi efektywne mikroorganizmy. Owies po zaprawianiu nasion wykazał tylko nieznaczne różnicowanie zdolności kiełkowania (tab. 1).

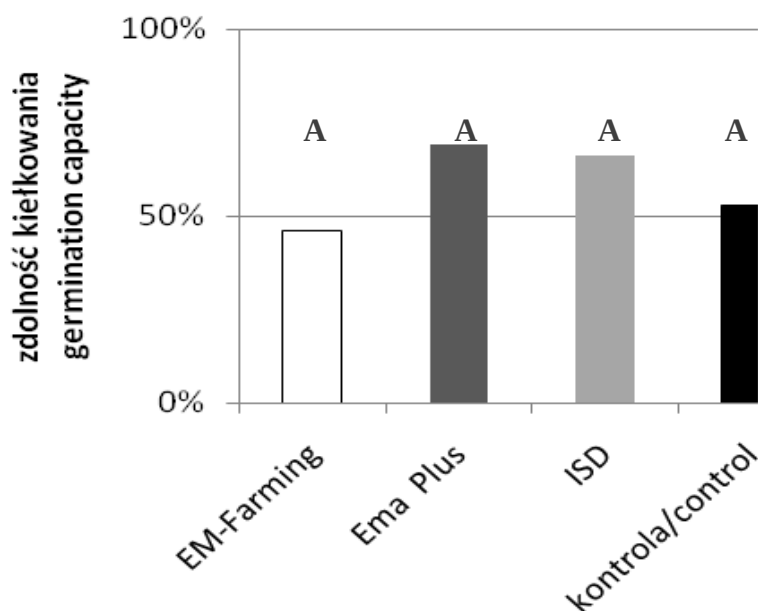
Tabela 1

Zdolność kiełkowania (%) owsa w zależności od preparatu zawierającego efektywne mikroorganizmy
Germination capacity (%) of oats seeds depending on the formulation containing effective microorganisms

Preparat Formulation	Odmiana Cultivar			
	Koneser	Krezus	Polar	Rajtar
EM-Farming	95	95	87	96
Ema Plus	87	94	78	99
ISD	91	89	83	91
Kontrola Control	89	98	73	96
NIR	r.n. — n.s.	r.n. — n.s.	r.n. — n.s.	r.n. — n.s.
LSD				

Nasiona odmiany Koneser po zastosowaniu EM-Farming i ISD kiełkowały w zakresie 91–95%, czyli lepiej od nasion kontrolnych (89%). U odmiany Krezus zaprawianie nie zwiększyło zdolności kiełkowania, gdyż nasiona kontrolne po moczeniu w wodzie kiełkowały na poziomie 98%. Natomiast u odmiany Rajtar zaprawianie nasion roztworem Ema Plus podwyższyło zdolność kiełkowania do 99%, gdy zdolność kiełkowania nasion kontrolnych wynosiła 96%. Analiza statystyczna nie potwierdziła istotnej różnicy wyników. Odmiana Polar, która jest nieoplewiona, zareagowała nieznacznym wzrostem zdolności kiełkowania po zastosowaniu każdego wariantu zaprawiania. Chociaż nasiona kontrolne miały niską zdolność kiełkowania (73%), to wyniki dla nasion zaprawianych nie różniły się istotnie.

W przeciwieństwie do zbóż, gdzie ziarniak jest nagi lub oplewiony, materiałem rozmnożeniowym seradeli jest człon strąka. U tego gatunku efektywne mikroorganizmy, aby dotrzeć do nasienia dodatkowo muszą pokonać łuszczykę strąka. W prezentowanych badaniach nasiona kontrolne seradeli kiełkowały na bardzo niskim poziomie 53% (rys. 2).



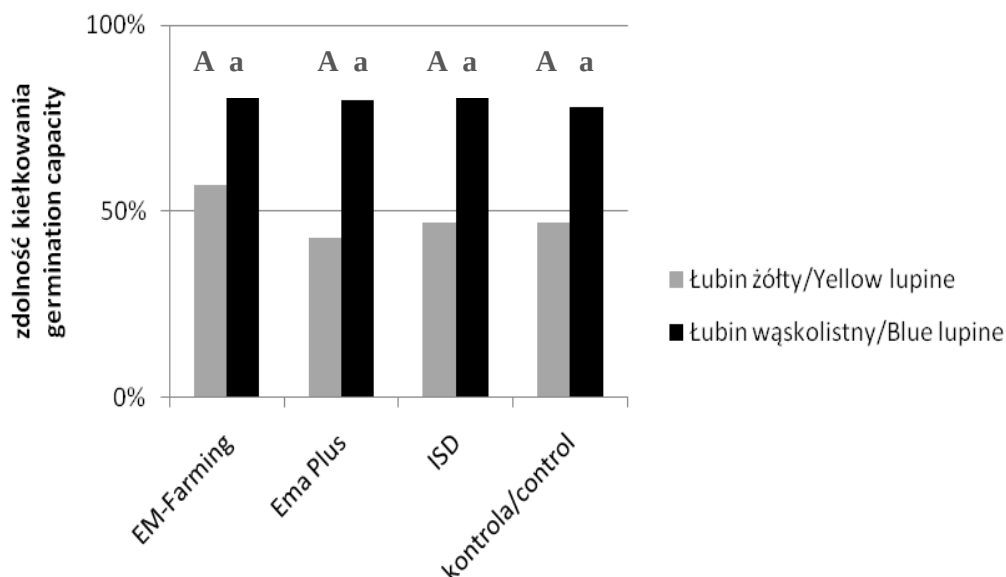
Literami oznaczono grupy jednorodne wariantów czynnika, grupy tą samą literą nie różnią się istotnie
Homogenous groups are marked with letters, groups marked with the same letter do not differ significantly

Rys. 2. Zdolność kiełkowania nasion seradeli w zależności od preparatu zawierającego efektywne mikroorganizmy

Fig. 2. Germination capacity of seeds serradella depending on the formulation containing effective microorganisms

Kiełkowanie wzrosło odpowiednio do 69% i 66% po moczeniu nasion w roztworze Ema Plus i ISD. Zastosowanie zaprawiania badanymi roztworami wykazało tendencję

zwiększenia wartości siewnej seradeli, jednak niepotwierdzoną statystycznie. Badania nasion roślin strączkowych, tj. łubinu żółtego i wąskolistnego wykazały korzystny wpływ zaprawiania roztworem EM-Farming, gdyż wynik zdolności kiełkowania łubinu żółtego wynosił 57% (nasiona kontrolne 43%), a łubinu wąskolistnego 86% (nasiona kontrolne 78%) (rys. 3). Ponadto u łubinu wąskolistnego także zastosowanie innych wariantów zaprawiania spowodowało podwyższenie kiełkowania, jednak różnice nie były istotne statystycznie.



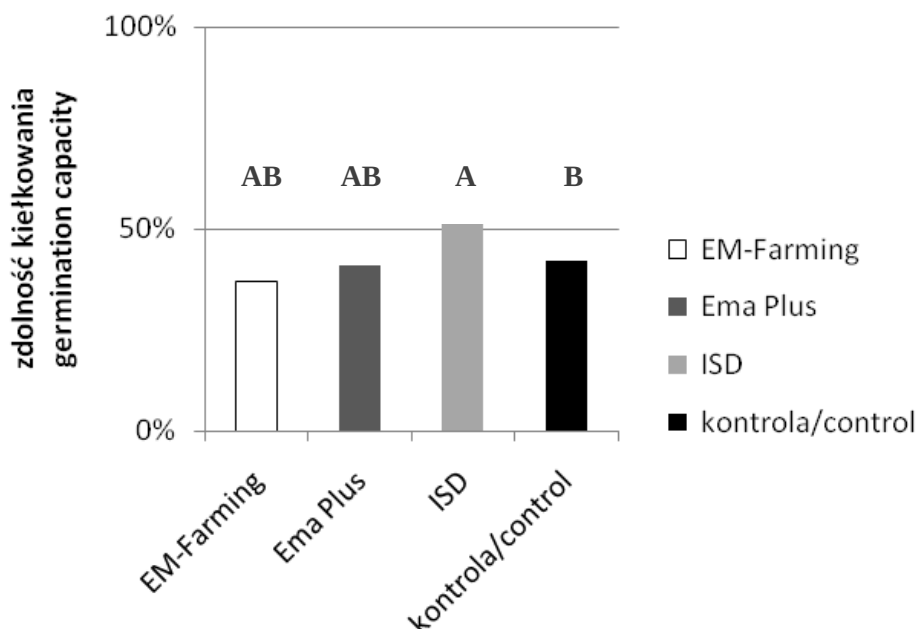
Literami oznaczono grupy jednorodne wariantów czynnika dla każdego badanego gatunku; grupy z tą samą literą nie różnią się istotnie. Wielkimi literami oznaczono grupy jednorodne dla łubinu żółtego, małymi dla łubinu wąskolistnego. Homogenous groups for each species are marked with letters, capital ones for yellow lupine and small ones for blue lupine, groups marked with the same letter do not differ significantly.

Rys. 3. Zdolność kiełkowania nasion łubinu w zależności od preparatu zawierającego efektywne mikroorganizmy

Fig. 3. Germination capacity of lupine seeds depending on the formulation containing effective microorganisms

Nasiona facelii różnią się od nasion roślin strączkowych, gdyż mają powierzchnię głęboko poprzecznie pofałdowaną, a zarodek okryty oleistą tkanką. Zaprawianie nasion tego gatunku preparatem ISD spowodowało wzrost zdolności kiełkowania do 53%, gdy nasiona kontrolne kiełkowały na poziomie 42%. Zastosowanie moczenia w roztworze EM-Farming spowodowało obniżenie kiełkowania do 37% i była to różnica istotna statystycznie w stosunku do wyniku uzyskanego po moczeniu w ISD (rys. 4). Podczas analizy zdolności kiełkowania facelii uzyskano duży procent nasion zdrowych niekiełkujących w każdym wariantcie zaprawiania (tab. 2). Analiza nasion kontrolnych nie wykazała nasion zdrowych niekiełkujących, ale bardzo dużo nasion spleśniałych, znacznie

więcej niż po zaprawianiu. Prawdopodobnie zastosowane preparaty do zaprawiania wpłynęły odkażająco na nasiona facelii. Pomimo, że użyte preparaty nie spowodowały wzrostu zdolności kiełkowania nasion, to jednak wytworzone siewki były większe i dużo mocniejsze.



Literami oznaczono grupy jednorodne wariantów czynnika, grupy z tą samą literą nie różnią się istotnie
Homogenous groups are marked with letters, groups marked with the same letter do not differ significantly

Rys. 4. Zdolność kiełkowania nasion facelii błękitnej w zależności od preparatu zawierającego efektywne mikroorganizmy

Fig. 4. Germination capacity of phacelia depending on the formulation containing effective microorganisms

U facelii po zastosowaniu roztworu ISD siewki pojawiały się wcześniej niż ocenia się zdolność kiełkowania wg Przepisów ISTA (2010), co może oznaczać, że szybkość kiełkowania była większa. W terminie pierwszego liczenia, dawniej zwanego energią kiełkowania było prawie tyle siewek, jak i w końcowym terminie oceny, czyli zdolności kiełkowania (tab. 2). W wyniku kiełkowania facelii błękitnej oraz seradeli wystąpiły nienormalności siewek, takie jak: brak korzenia, skrócenie i/lub szklistość korzenia pierwotnego, szklistość hypokotylu lub brak hypokotylu. Wśród nienormalności siewek łubinu zauważono szklistość korzenia pierwotnego i hypokotylu, odbarwienie liścieni przy pączku szczytowym i brak liści. Występowanie siewek nienormalnych mogło wynikać z porażenia nasion przez grzyby i bakterie.

Według Janas i Grzesika (2005) zastosowanie efektywnych mikroorganizmów oraz biostymulatora Tytanit poprawia wigor i zdrowotność nasion. Natomiast badania

Okorskiego i Majchrzak (2008) nie potwierdziły wpływu stosowania zaprawiania EM na zdrowotność nasion grochu.

Tabela 2

Wyniki pierwszego i końcowego liczenia w analizie zdolności kiełkowania facelii błękitnej w zależności od preparatu zawierającego efektywne mikroorganizmy
The results of the first and final counts in the germination analysis of phacelia depending on the formulation containing effective microorganisms

Preparat Formulation	Pierwsze liczenie (%) First count (%)	Końcowe liczenie (%) Final count (%)	Siewki nienormalne (%) Abnormal seedlings (%)	Nasiona martwe (%) Dead seeds (%)	Nasiona zdrowe niekiełkujące (%) Fresh ungerminated seeds (%)
EM-Farming	35	37	7	34	22
Ema Plus	38	41	11	28	20
ISD	43	53	9	18	20
Kontrola Control	32	42	14	44	0

Autorzy uzyskali tylko nieznaczny wpływ preparatu EM na różnorodność mikroflory nasion, czyli zwiększenie liczby bakterii i grzybów na powierzchni nasion. Podobne wyniki otrzymano podczas określenia wpływu szczepionki EM na kształt zbiorowiska grzybów glebowych. Spośród metod kondycjonowania nasion, które mogłyby być dozwolone do stosowania w rolnictwie ekologicznym nie zaleziono środka, który podwyższałby wartość siewną i wschody polowe (Małuszyńska, Szydłowska, 2009). Natomiast Janas i Grzesik (2006 a) twierdzą, że istnieją duże możliwości poszerzenia asortymentu środków biologicznych stosowanych przedsięwzięcie i będących alternatywą dla zaprawiania chemicznego. Zarówno ich wpływ nie tylko na nasiona, ale i na glebę może być bardzo obiecujący. Według Wolnej-Maruwki i in. (2010) zastosowanie EM powoduje zmniejszenie grzybów pleśniowych w podłożu, co wpływa na wzrost zdrowych siewek. W prezentowanych badaniach mniejsza liczba nasion martwych, czyli spleśniałych wynikała prawdopodobnie z odkażającego wpływu zaprawiania preparatami z EM, gdyż analiza zdolności kiełkowania nasion kontrolnych wykazała dużo nasion martwych. Podłoże, na którym wysiewano nasiona było sterylne, a porażenie nasion kontrolnych pochodziło z grzybów i bakterii przenoszonych z nasionami. Nowakowska (2005) analizowała antagonistyczne działanie wybranych gatunków grzybów na sprawców zgorzeli siewek buraków cukrowych i stwierdziła, że niektóre z nich dodane do otoczki zabezpieczały wschodzące siewki w takim samym stopniu jak fungicydy. Prawdopodobnie takie gatunki grzybów znajdowały się w preparatach użytych w niniejszych badaniach, gdyż zaprawianie spowodowało mniejszą liczbę nasion spleśniałych. Potwierdziła to szczególnie analiza zdolności kiełkowania nasion facelii, gdzie po zaprawianiu zmniejszyła się liczba nasion martwych, a wzrosła liczba nasion zdrowych niekiełkujących (tab. 2). Także Janas i Grzesik (2006 b) po analizie zdrowotności nasion warzyw i ziół traktowanych preparatami EM i Akwatonem wykazali hamowanie wzrostu i rozwoju wielu grzybów patogenicznych

oraz redukcję niektórych grzybów patogenicznych przenoszonych z nasionami jak: *Alternaria*, *Fusarium* i *Botrytis*. W efekcie nastąpiła poprawa zdrowotności nasion i spadek procentowego udziału nasion spleśniałych. Prezentowane badania także potwierdziły zmniejszenie liczby nasion martwych, czyli spleśniałych po zaprawieniu preparatami z efektywnymi mikroorganizmami oraz mniej siewek nienormalnych powstałych w wyniku infekcji patogenów. Wymienieni autorzy ustalili, że na skuteczność preparatów miał również wpływ gatunek rośliny, czas traktowania oraz temperatura kiełkowania nasion. W prezentowanych badaniach zastosowano dawkę i czas moczenia zgodnie z zaleceniami producentów, a temperaturę kiełkowania według metodyki ISTA. Ponadto w prezentowanych badaniach u pszenicy nie stwierdzono poprawy zdolności kiełkowania nasion. Natomiast Foltyn i Miszkiele (2008) badając wpływ zaprawiania nasion pszenicy jarej na kiełkowanie stwierdzili, że na dynamikę kiełkowania wpływa korzystnie pojedyncza dawka EM, a hamująco podwójna dawka tego preparatu. Zaprawianie ziarna, w tym przypadku, nie zwiększyło istotnie suchej masy części korzeniowej siewek. Analizę kiełkowania autorzy przeprowadzili na podłożu bibułowym. Podobnie w prezentowanych badaniach nasiona wysiewano na podłoże bibułowe, a nasiona łubinu w piasku, który jest polecany dla strączkowych (Przepisy ISTA, 2010). Być może zastosowanie podłoża organicznego, które od niedawna jest polecane w Przepisach ISTA, spowoduje lepsze warunki dla oceny wartości siewnej nasion zaprawianych roztworami preparatów zawierających efektywne mikroorganizmy. Na początku roku 2011 odbyła się w Ministerstwie Rolnictwa i Rozwoju Wsi konferencja dotycząca poprawy jakości gleby między innymi poprzez zastosowanie efektywnych mikroorganizmów (www.minrol.gov.pl). Zagadnienie traktowania nasion preparatami zawierającymi efektywne mikroorganizmy nie stanowiło głównego tematu konferencji, ale było wymieniane wśród metod stosowanych w niektórych uprawach roślin, jako przykład pozytywnego współdziałania ze sobą różnych metod uprawy na procesy regeneracji gleby oraz zwiększenie jakości i ilości plonów.

PODSUMOWANIE

Przeprowadzone badania wykazały, że zaprawianie nasion preparatami zawierającymi efektywne mikroorganizmy nie miało wpływu na kiełkowanie pszenicy, jęczmienia i owsa. Łubin wąskolistny wykazał nieco wyższe kiełkowanie niż kontrola po zastosowaniu każdego z preparatów. Zdolność kiełkowania nasion seradeli wzrosła po moczeniu w roztworze Ema Plus i ISD, jednak różnica w stosunku do kontroli była statystycznie nieistotna. Nasiona facelii błękitnej najlepiej kiełkowały po zastosowaniu roztworu ISD. Pozostałe preparaty nie spowodowały wzrostu zdolności kiełkowania nasion tego gatunku. Jednak podczas analizy stwierdzono mniej siewek nienormalnych oraz nasion martwych. Prawdopodobnie powodem było działanie odkażające preparatów do zaprawiania nasion.

Przypuszczalnie zastosowanie podłoża organicznego, tj. mieszaniny torfu z piaskiem, które od niedawna jest polecane w Międzynarodowych Przepisach Oceny Nasion ISTA, spowoduje lepsze warunki do oceny wartości siewnej nasion zaprawianych efektywnymi mikroorganizmami.

LITERATURA

- Dziamba Sz., Dziamba J. 2009. Wpływ sposobów uszlachetniania nasion na wzrost, rozwój i plonowanie roślin. Mat. Konf. „Nauka dla hodowli roślin uprawnych”, Zakopane 02.02-06 II 2009: 65.
- Dziamba Sz., Dziamba J. 2010. Doświadczenia z EM-Farming — rola światła i pożytecznych mikroorganizmów w produkcji roślinnej. Mat. Konf. „Mikroorganizmy w rewitalizacji środowiska — nauka i praktyka. Lublin 23–24 marca 2010: 55.
- Dziąg A., Szczeczek M. 2011. Oddziaływanie *Trichoderma* na rozwój różnych gatunków roślin warzywnych i ich wrażliwość wobec *B. cinerea*. Mat. Konf. „*Trichoderma* i inne grzyby w nauce i praktyce” Radziejowice 29-30 IX 2011 r.: 32
- Faltyn U., Miszkieło T. 2008. Wpływ efektywnych mikroorganizmów (EM) na zdolność kiełkowania pszenicy jarej. Zesz. Nauk. UP Wroc., Rol. XCII nr 568: 31 — 36.
- Janas R., Grzesik M. 2005. Zastosowanie środków biologicznych do poprawy jakości nasion roślin ogrodniczych. Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin 45 (2) :739 — 741.
- Janas R., Grzesik M. 2006a. Proekologiczne metody poprawy jakości nasion roślin ogrodniczych. Zeszyty Naukowe Postępów Nauk Rolniczych 2006 z. 510: 213 — 221.
- Janas R., Grzesik M. 2006b. Efektywność biologicznych metod ochrony w uprawach nasiennych roślin leczniczych i ozdobnych. Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin 46 (2): 727 — 731.
- Janas R. 2009. Możliwości wykorzystania efektywnych mikroorganizmów w ekologicznych systemach produkcji roślin uprawnych. Problemy Inżynierii Rolniczej 3/2009: 111 — 119.
- Małuszyńska E., Szydłowska A. 2009. Wstępna ocena skuteczności wybranych metod zaprawiania nasion do stosowania w rolnictwie ekologicznym — komunikat. Biul. IHAR 252 :27 — 34.
- Międzynarodowe Przepisy Oceny Nasion 2010. Wersja polska 2010. Opracowanie IHAR — PIB ZNIN, Radzików.
- Nowakowska H. 2005. Antagonistic activity of some fungi and *Actinomycetes* against pathogens of damping-off of sugar beet seedlings. Plant Breeding & Seed Science vol. 52: 69 — 78.
- Okorski A. 2007. Biologiczna ochrona roślin przed chorobami — mechanizmy i perspektywy rozwoju. Post. Nauk Roln. 5/2007 :21 — 36.
- Okorski A., Majchrzak B. 2008. Grzyby zasiedlające nasiona grochu siewnego po zastosowaniu preparatu mikrobiologicznego EM 1. Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin 48 (4): 1314 — 1318.
- Wolna-Maruwka A., Schroeder-Zakrzewska A., Borowiak K. 2010. Wpływ preparatu EM na stan mikrobiologiczny podłoża przeznaczonego do uprawy pelargonii (*Pelargonium × hortorum*). Nauka Przyr. Technol. 4,6,#98 :1 — 12.
- www.minrol.gov.pl/ 2011. Materiały z konferencji pt. ”Czy Polsce zagraża spadek żyzności gleb” z dnia 9 lutego 2011 r.
- www.ior.poznan.pl/. 2011. Badania w zakresie ochrony ekologicznych upraw rolniczych/ Efektywne mikroorganizmy w rolnictwie ekologicznym.

TOMASZ GÓRAL¹**PIOTR OCHODZKI**¹**ZOFIA BULIŃSKA-RADOMSKA**²¹ Pracownia Chorób Roślin, Zakład Fitopatologii,² Krajowe Centrum Roślinnych Zasobów Genowych

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — PIB, Radzików

Odporność na fuzariozę kłosów powodowaną przez *Fusarium culmorum* i zawartość mikotoksyn fuzaryjnych w ziarnie gatunków zbóż jarych przeznaczonych do upraw ekologicznych*

Resistance to *Fusarium* head blight caused by *Fusarium culmorum* and *Fusarium* mycotoxins content in grain of spring cereal species intended for organic farming

Celem pracy było określenie odporności na fuzariozę kłosów odmian/genotypów zbóż jarych należących do rodzajów *Avena*, *Hordeum* i *Triticum* oraz oznaczenie zawartości mikotoksyn fuzaryjnych (deoksyniwalenolu i jego pochodnych) w ziarnie. Porażenie kłosów oraz ziarniaków odmian jęczmienia było niskie i wyniosło 7,3% oraz 8,3%, jednakże akumulacja DON w ziarnie wyniosła średnio 1,23 ppm. W przypadku owsa porażeniu ulegało 26,5% wiech. Uszkodzenie ziarniaków było niskie i wyniosło 6,0%. Owies akumulował niewielkie ilości DON w ziarnie (0,44ppm). Stwierdzono znaczne zróżnicowanie reakcji genotypów z rodzaju *Triticum* pod względem porażenia kłosa (1,0–34,7%), uszkodzenia ziarniaków (0,7–30,1%) oraz akumulacji deoksyniwalenolu w ziarnie (0,26–6,61 ppm). Najbardziej podatne były odmiany pszenicy zwyczajnej. Obserwowano również znaczne zróżnicowanie wewnątrzgatunkowe odporności pszenicy zwyczajnej, orkisz i płaskurki. Zidentyfikowano formy odporne i średnio odporne na fuzariozę kłosów.

Słowa kluczowe: *Fusarium culmorum*, jęczmień, odporność, owies, orkisz, pszenica, pszenica samopsza, płaskurka

The aim of the study was to determine *Fusarium* head blight resistance of spring type genotypes from the genera *Triticum*, *Avena* and *Hordeum*, and to determine the content of *Fusarium* mycotoxins (deoxynivalenol — DON and its derivatives) in grain. Head and kernel infection of barley was low and amounted 7.3% and 8.3%, respectively. However, barley accumulated 1.23 ppm of DON in grain. As for oat varieties, 26.5% of panicles showed FHB symptoms. *Fusarium* kernel damage was low and

* Praca wykonana w ramach projektu finansowanego przez MRiRW „Badania wartości siewnej i użytkowej odmian zbóż i ziemniaków w warunkach plantacji nasiennych gospodarstw ekologicznych”

amounted 6.0%. Oat accumulated low amounts of DON in grain (0.44 ppm). Significant variation was found in genotypes of the genus *Triticum* in head infection (1.0–34.7%), kernel damage (0.7–30.1%) and accumulation of deoxynivalenol in grain (0.26–6.61 ppm). The cultivars of bread wheat were the most susceptible. There was also a significant intraspecific diversity of resistance in wheat, spelt and emmer. *Fusarium* head blight resistant and medium-resistant genotypes were identified.

Key words: barley, einkorn, emmer, *Fusarium culmorum*, oat, resistance, spelt, wheat

WSTĘP

Rośliny zbożowe są miejscem bytowania wielu gatunków grzybów, z których część powoduje choroby oraz produkuje metabolity wtórne szkodliwe dla roślin, zwierząt oraz ludzi, określane wspólnym mianem mikotoksyn. W roku 2005 Unia Europejska wprowadziła normy określające maksymalne zawartości deoksynivalenolu (DON) (Rozporządzeniu Komisji [WE] NR 1126/2007 z dnia 28 września 2007 r.), produkowanego przez grzyby z rodzaju *Fusarium*. Maksymalne dopuszczalne stężenie DON ustalono na poziomie 1250 µg/kg ziarna nieprzetworzonego (=1,25 ppm — parts per milion), z wyjątkiem pszenicy twardej i owsa, dla których limit wynosi 1750 µg/kg (1,75 ppm). Mikotoksyny fuzaryjne wytwarzane są w warunkach polskich głównie przez *F. culmorum* i *F. graminearum*. Grzyby te powodują fuzariozę kłosów, obniżając jakość ziarna, m.in. poprzez produkcję mikotoksyn, które działają negatywnie zarówno na zwierzęta gospodarskie, jak i na człowieka. Najważniejszymi mikotoksynami produkowanymi przez *Fusarium* są DON i zearalenon. Dlatego konieczna jest ocena odmian zbóż wprowadzanych do uprawy pod kątem zarówno podatności na porażenie przez grzyby *Fusarium*, jak też pod kątem zawartości produkowanych przez nie mikotoksyn. Jest to szczególnie istotne, gdy technologia uprawy wyklucza stosowanie środków ochrony roślin, jak to mam miejsce w gospodarstwach ekologicznych. Brak ochrony chemicznej może zwiększyć zagrożenie chorobami fuzaryjnymi w tym fuzariozą kłosów, a w następstwie tego skażaniem ziarna mikotoksynami.

Celem pracy było określenie odporności na fuzariozę kłosów odmian zbóż jarych należących do rodzajów *Avena*, *Hordeum* i *Triticum* oraz oznaczenie zawartości mikotoksyn fuzaryjnych w ziarnie.

MATERIAŁ I METODY

Określenie odporności na fuzariozę kłosów

W doświadczeniach polowych w IHAR Radzików w dwóch kolejnych latach badano następujące genotypy zbóż jarych:

- 11 odmian pszenicy jarej zwyczajnej (*Triticum aestivum* subsp. *aestivum*)
- 4 genotypy pszenicy jarej orkisz (*T. aestivum* subsp. *spelta*)
- 7 genotypów pszenicy jarej płaskurki (*T. turgidum* subsp. *dicoccon*)
- 1 genotyp pszenicy jarej samopszej (*T. monococcum* subsp. *monococcum*)
- 5 odmiany jęczmienia jarego (*Hordeum vulgare* subsp. *vulgare*)
- 4 odmiany owsa jarego (*Avena sativa*)
- 1 odmiana owsa nagoziarnowego (*Avena nuda*)

Ziarno powyższych genotypów uzyskano z banku genów Krajowego Centrum Roślinnych Zasobów Genowych w IHAR — PIB Radzików, z wyjątkiem odmian znajdujących się aktualnie w krajowym rejestrze (Chwat, Cytra, Koksa, Korynta, Nawra, Polar, Rodos, Sławko, Stratus, Szakal, Torka). Genotypy te były badane pod kątem przydatności do uprawy w warunkach ekologicznych w ramach projektu „Badania wartości siewnej i użytkowej odmian zbóż i ziemniaków w warunkach plantacji nasiennych gospodarstw ekologicznych” realizowanego przez Krajowe Centrum Roślinnych Zasobów Genowych IHAR — PIB w latach 2006–2011.

Obiekty wysiane zostały w dwóch powtórzeniach na poletkach o powierzchni 1 m². Materiałem infekcyjnym była mieszanina konidiów 5 izolatów *F. culmorum*. Wszystkie izolaty należały do chemotypów wytwarzających DON (Ochodzki i Góral, 2006).

Izolaty były inkubowane na autoklawowanym ziarnie pszenicy w szklanych kolbach w ciemności w temperaturze 20°C przez około 1 tygodnia a następnie naświetlane światłem UV (350 nm) przez 12 godzin na dobę przez około 3 tygodni w temperaturze 15°C. Ziarno przerosnięte grzybnią z widocznymi oznakami zarodnikowania *F. culmorum* było następnie suszone i przechowywane w temperaturze 4°C.

W dniu, kiedy wykonywana była inokulacja, ziarno z grzybnią i zarodnikami *F. culmorum* namaczano w wodzie przez około 2 godziny, a następnie filtrowano w celu uzyskania zawiesiny zarodników. Stężenie zawiesin zarodników wszystkich izolatów było ustalane na około 5×10^5 zar./ml za pomocą hematokrytu. Zawiesiny mieszano w równych proporcjach.

Genotypy inokulowane były w stadium pełni kwitnienia przez oprysk kłosów zawiesiną zarodników, każdy obiekt oddzielnie w zależności od terminu kwitnienia. Po przekwitnięciu wszystkich obiektów przeprowadzono ponowną inokulację. Stopień porażenia kłosów/wiech oceniany był od momentu ukazania się pierwszych objawów fuzariozy kłosów. Porażenie kłosa jest miernikiem odporności typu I (odporność na infekcję) + II (odporność na rozprzestrzenianie się patogen w kłosie) na fuzariozę kłosów (Foroud i Eudes, 2009). W przypadku pszenic określano procent kłosów porażonych na poletku oraz procentowe porażenie kłosa (brane pod uwagę były tylko kłosy z objawami choroby). Mierniki te posłużyły do wyliczenia indeksu fuzariozy kłosów według formuły: indeks FK (%) = (% kłosów porażonych x % porażenie kłosa)/100. Dla odmian jęczmienia określano średnie porażenie kłosa, biorąc pod uwagę tylko kłosy porażone na poletku. W przypadku owsa oceniano procentowy udział wiech z objawami porażenia na poletku.

W czasie żniw zbierano ręcznie po 50 kłosów z każdego poletka. Kłosy były młócone ręcznie lub za pomocą młocarni laboratoryjnej o słabym nawiewie dla zapobieżenia utracie lekkich porażonych ziarniaków. Proporcja ziarniaków uszkodzonych przez *Fusarium* (odporność typu III wg Foroud i Eudes, 2009) określana była wizualnie (Argyris i in., 2003). Ziarniaki rozdzielano na dwie frakcje różniące się stopniem uszkodzenia: bez widocznych objawów porażenia: „zdrowe” i „zdrowe pomarszczone”, oraz z objawami porażenia: „duże białe” (przebarwione, normalnej wielkości) i „białe pomarszczone” (przebarwione, z objawami zarodnikowania *Fusarium*, pomarszczone).

Oznaczenie zawartości deoksyniwalenolu (DON) i jego pochodnych w ziarnie

Materiał do analiza zawartości mikotoksyn w ziarnie (odporność typu V na akumulację mikotoksyn wg Foroud i Eudes, 2009) stanowiły próby zebrane w doświadczeniu infekcyjnym z 2 powtórzeń. Ziarno zmielono na młynku laboratoryjnym (WŻ-1). Naważono 5 g próby do probówki i dodano 20 ml roztworu acetonitryl : woda (84:16). Próbę wytrząsano 30 min., pozostawiono na całą noc, i ponownie wytrząsano 30 min. Przesączono ekstrakt, i 6 ml przesącza naniesiono na kolumnę oczyszczającą Multisep 227 Trich+ (Romerlabs). Pobrano 4 ml oczyszczonego ekstraktu, odparowano do sucha, rozpuszczono w 0,5 ml fazy ruchomej (8% acetonitryl w wodzie), i oznaczono zawartość mikotoksyn metodą HPLC.

Użyto wysokosprawnego chromatografu cieczowego HP 1050, wyposażonego w detektor UV-VIS, ręczny port nastrzykowy i integrator HP 3395 z programem PEAK 96. Związki rozdzielano na kolumnie RP C18 Lichrospher 100, 250 × 4,6 mm., kolumna kolumna wielkości ziarna 5 mikrometrów. Fazę ruchomą stanowił 8% wodny roztwór acetonitrylu, podawany z prędkością 0,8 ml/min. Identyfikacji DON oraz jego acetylowych pochodnych dokonano na podstawie czasu retencji — pojawienia się w detektorze od chwili nastrzyku. Oceny ilościowej dokonano metodą wzorca zewnętrznego, po stworzeniu krzywej kalibracji za pomocą czystych substancji wzorcowych.

Analiza statystyczna

Analiza wariancji indeksu fuzariozy kłosów, uszkodzenia ziarniaków oraz zawartości DON w ziarnie została wykonana przy użyciu procedury GLM SAS 9.2 pakietu (SAS 2008). Relacje między wynikami dla fuzariozy kłosów, FDK i DON zostały określone za pomocą korelacji Pearsona przy użyciu procedury CORR SAS. W celu oszacowania ogólnej odporności zastosowano analizę składowych głównych (PCA) na macierzy korelacji zmiennych (indeks FK, uszkodzenie ziarniaków, DON – oddzielnie z obu lat badań) przy użyciu procedury PRINCOMP pakietu SAS.

WYNIKI

Porażenie kłosów odmian jęczmienia przez *F. culmorum* wyniosło średnio 7,3% (tab. 1). Najsilniej porażane były kłosy jęczmienia orkisz, najslabiej odmiany Lubicki. Stopień uszkodzenia ziarniaków wynosił 8,3%. Zależność pomiędzy porażeniem kłosa i uszkodzeniem ziarniaków była istotna statystycznie (współczynnik korelacji $r = 0,852$, $\alpha < 0,01$). W ziarnie jęczmienia stwierdzono obecność DON. Średnio zawartość wyniosła 1,23 ppm. Najwięcej DON było akumulowane w ziarnie odmiany Atol, najmniej w ziarnie odmiany Rodos.

W przypadku owsa obserwowano bielenie pojedynczych kłosek w wiechach. Średnio objawy fuzariozy wystąpiły na 26,5% wiech na poletku (tab. 1). Najniższe porażenie wiech przez *F. culmorum* wystąpiło u odmiany Szakal, najwyższe u odmiany owsa nagoziarnowego Polar. Ziarniaki owsa uszkodzone były w niewielkim stopniu (6,0%). Najsilniej uszkodzone były ziarniaki odmiany nago ziarnowej Polar. Akumulacja DON w ziarnie była niska i wyniosła 0,44ppm. Najwięcej DON stwierdzono w ziarnie odmiany Chwat (1,15ppm). Podatny owies nago ziarnowy akumulował małe ilości DON w ziarnie (0,26 ppm).

Tabela 1

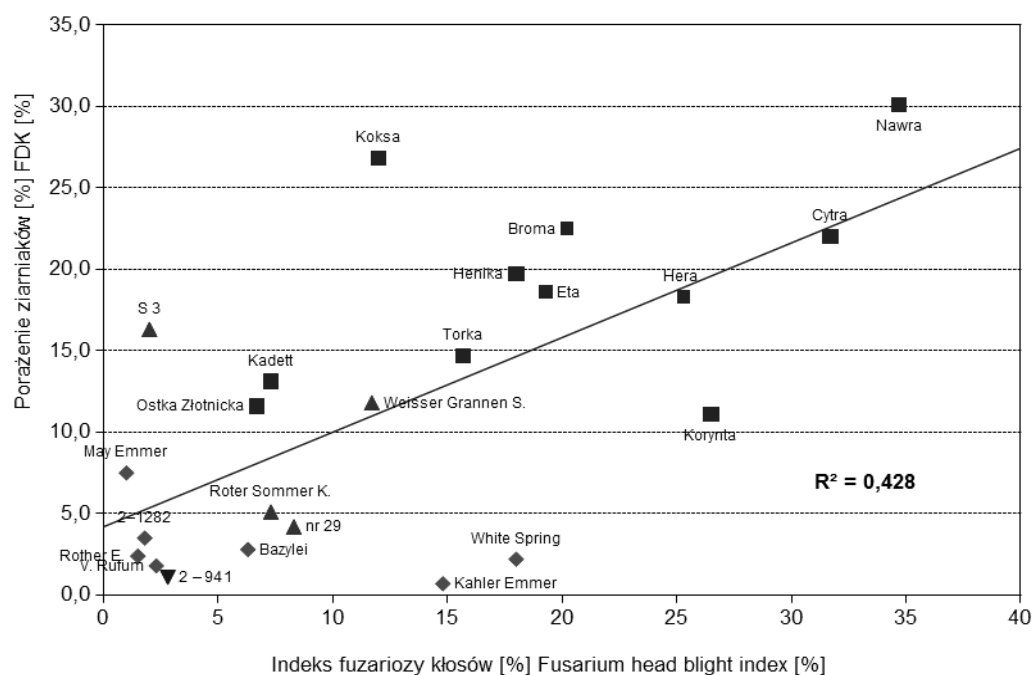
Reakcja odmian jęczmienia jarego i owsa jarego na inokulację kłosów (wiech) grzybem *Fusarium culmorum*
Reaction of cultivars of spring barley and spring oat to inoculation of heads with *Fusarium culmorum*

Lp. No.	Gatunek Species	Odmiana Cultivar	Fuzarioza kłosów Fusarium head blight[%] ¹	Uszkodzenie ziarniaków FDK [%]	DON [ppm]
1	<i>H. v. ssp. vulgare</i>	Lubicki ³	2,5	4,0	1,52
2	<i>H. v. ssp. vulgare</i>	Rodos	3,8	5,9	0,61
3	<i>H. v. ssp. vulgare</i>	Stratus	5,0	6,2	1,30
4	<i>H. v. ssp. vulgare</i>	Atol	10,0	13,8	1,67
5	<i>H. v. ssp. vulgare</i>	Jęczmień orkisz ³	15,0	11,5	1,07
Średnia dla jęczmienia — Mean for barley			7,3	8,3	1,23
6	<i>A. sativa</i>	Szakał	13,3	4,6	0,17
7	<i>A. sativa</i>	Chwat	19,4	7,2	1,15
8	<i>A. sativa</i>	Sławko	23,8	4,9	0,11
9	<i>A. sativa</i>	Tatrzański ³	33,8	5,1	0,54
10	<i>A. nuda</i>	Polar ²	42,5	8,3	0,26
Średnia dla owsa spp — Mean for oat			26,5	6,0	0,44

¹ — jęczmień – nasilenie fuzariozy kłosów na kłosach z objawami choroby, owies – procent wiech z objawami bielienia kłosków; barley – disease severity on infected heads, oat — percentage of panicles showing disease symptoms

² — owies nagoziarnowy; naked oat

³ — stare odmiany jęczmienia i owsa; old cultivars of barley and oat



Rys. 1. Zależność pomiędzy porażeniem kłosa przez *F. culmorum* a stopniem uszkodzenia ziarniaków przez *Fusarium* dla 23 jarych genotypów z rodzaju *Triticum*

Fig. 1. Relationship between Fusarium head blight caused by *F. culmorum* and *Fusarium* damaged kernels for 23 spring genotypes of the *Triticum* genus

Kłosa genotypów należących do 4 gatunków z rodzaju *Triticum* były porażane w różnym stopniu (tab. 2). Średni indeks fuzariozy kłosów wyniósł 12,8%, zakres zmienności od 1,0 do 34,7%. Najslabiej porażane były kłosa 4 genotypów płaskurki, 1 genotypu orkiszu oraz genotyp pszenicy samopszej. Do najsilniej porażonych należały 4 odmiany pszenicy zwyczajnej (Hera, Korynta, Cytra, Nawra). Średnie uszkodzenie ziarniaków przez *F. culmorum* wyniosło 10,9%, zakres zmienności od 0,7–30,1% (tab. 1). Bardzo niskie uszkodzenie ziarniaków obserwowano u 6 odmian/genotypów płaskurki, 2 odmian/genotypów orkiszu oraz genotypu pszenicy samopszej. Najsilniej porażone ziarniaki znaleziono u odmian pszenicy zwyczajnej Cytra, Broma, Koksa i Nawra. Niskie uszkodzenie ziarniaków wykazała stara odmiana pszenicy zwyczajnej Ostka Złotnicka oraz współczesna Korynta.

Tabela 2

Reakcja 23 jarych genotypów z rodzaju *Triticum* na inokulację kłosów grzybem *Fusarium culmorum*
Reaction of 23 spring genotypes of *Triticum* to inoculation of heads with *Fusarium culmorum*

Lp. No.	Gatunek Species	Odmiana/genotyp Cultivar/genotype	Indeks fuzariozy kłosów Fusarium head blight index [%]	Uszkodzenie ziarniaków FDK [%] ²	DON [ppm] ²
1	<i>T. t. ssp. dicoccon</i>	May - Emmer	1,0 a----- ¹	7,5	0,41
2	<i>T. t. ssp. dicoccon</i>	Rother Emmer	1,5 a-----	2,4	0,60
3	<i>T. t. ssp. dicoccon</i>	2 - 1282	1,8 a-----	3,5	0,40
4	<i>T. a. ssp. spelta</i>	S 3	2,0 ab-----	16,3	0,72
5	<i>T. t. ssp. dicoccon</i>	V. Rufum	2,3 ab-----	1,8	0,26
6	<i>T. m. ssp. monococcum</i>	2 - 941	2,8 abc-----	1,1	0,80
7	<i>T. t. ssp. dicoccon</i>	Bazylei	6,3 -bcd-----	2,8	0,51
8	<i>T. a. ssp. aestivum</i>	Ostka złotnicka ³	6,7 --cd-----	11,6	0,79
9	<i>T. a. ssp. aestivum</i>	Kadett ³	7,3 --cde-----	13,1	1,60
10	<i>T. a. ssp. spelta</i>	Roter Sommer Kolben	7,3 --cde-----	5,1	1,39
11	<i>T. a. ssp. spelta</i>	nr 29	8,3 ---def-----	4,2	1,26
12	<i>T. a. ssp. spelta</i>	Weisser Grannen Spelz	11,7 ----efg----	11,8	1,30
13	<i>T. a. ssp. aestivum</i>	Koksa	12,0 ----fg----	26,8	3,48
14	<i>T. t. ssp. dicoccon</i>	Kahler Emmer	14,8 -----gh---	0,7	3,38
15	<i>T. a. ssp. aestivum</i>	Torka	15,7 -----ghi--	14,7	3,17
16	<i>T. a. ssp. aestivum</i>	Henika	18,0 -----hi--	19,7	2,76
17	<i>T. t. ssp. dicoccon</i>	White Spring	18,0 -----hi--	2,2	3,77
18	<i>T. a. ssp. aestivum</i>	Eta	19,3 -----hi--	18,6	6,61
19	<i>T. a. ssp. aestivum</i>	Broma	20,2 -----i--	22,5	5,36
20	<i>T. a. ssp. aestivum</i>	Hera	25,3 -----j-	18,3	4,31
21	<i>T. a. ssp. aestivum</i>	Korynta	26,5 -----j-	11,1	3,55
22	<i>T. a. ssp. aestivum</i>	Cytra	31,7 -----k	22,0	3,88
23	<i>T. a. ssp. aestivum</i>	Nawra	34,7 -----k	30,1	4,96
Średnia Mean			12,8	10,9	2,44
Średnia dla <i>T. a. ssp. aestivum</i> — Mean for <i>T. a. ssp. aestivum</i>			19,8	19,0	3,68
Średnia dla <i>T. t. ssp. dicoccon</i> — Mean for <i>T. t. ssp. dicoccon</i>			6,5	3,0	1,33
Średnia dla <i>T. a. ssp. spelta</i> — Mean for <i>T. a. ssp. spelta</i>			7,3	9,4	1,17

¹ — obiekty oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie statystycznie na podstawie testu Duncana dla $\alpha = 0,05$; means followed by the same letter are not significantly different according to Duncan multiple range test at $P = 0,05$

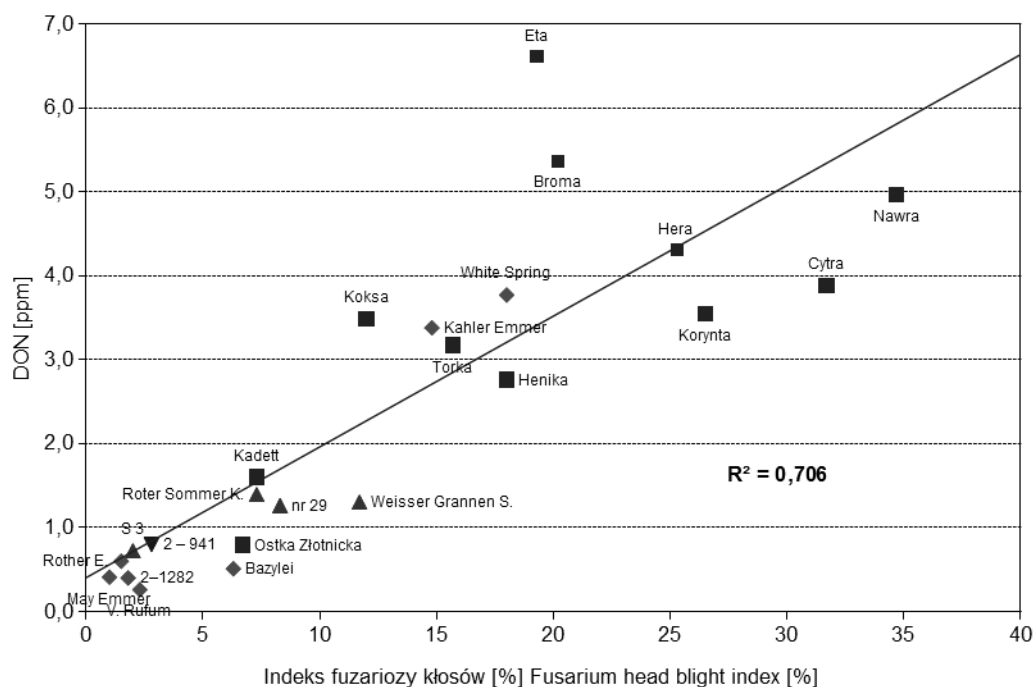
² — obiekty różnią się istotnie statystycznie na podstawie analizy wariancji; means differ statistically significantly according to AOV

³ — stare odmiany pszenicy zwyczajnej; old cultivars of bread wheat

Zależność pomiędzy stopniem porażenia kłosa a uszkodzeniem ziarniaków była wyraźna i istotna statystycznie ($r = 0,654$, $\alpha < 0,01$) (rys. 1). Spośród odmian pszenicy zwyczajnej odporność typu III wykazała odmiana Korynta, natomiast odmiana Koksa miały niski poziom tej odporności. Dwie odmiany płaskurki (White Spring, Kahler Emmer) charakteryzowały się bardzo wysoką odpornością typu III.

W badanych próbach nie stwierdzono obecności acetylowych pochodnych DON. Widoczne było duże zróżnicowanie w produkcji DON zarówno między gatunkami, jak też w obrębie gatunków (tab. 2). Średnio, najmniej DON zawierały ziarniaki orkisz (1,17 ppm), a najwięcej pszenicy zwyczajnej (3,68 ppm). Spośród wszystkich badanych genotypów, najmniej DON akumulowały płaskurki V. Rufum, 2-1282 oraz May-Emmer, a najwięcej odmiany pszenicy zwyczajnej: Torka, Hera, Nawra, Broma i Eta.

Indeks fuzariozy kłosów istotnie korelował ($r = 0,840$, $\alpha < 0,01$) z zawartością DON (rys. 2). Współczynnik korelacji między stopniem uszkodzenia ziarniaków a zawartością DON był istotny statystycznie, jednakże miał niższą wartość ($r = 0,645$, $\alpha < 0,05$) (rys. 3).

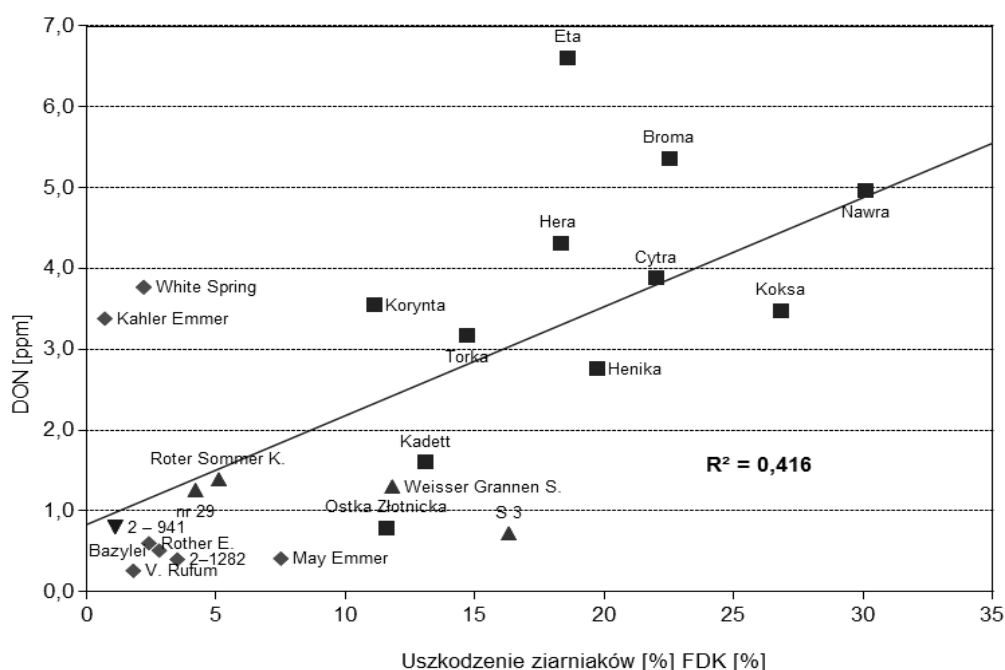


Rys. 2. Zależność między porażeniem kłosa przez *F. culmorum* a zawartością DON w ziarnie 23 genotypów z rodzaju *Triticum*

Fig. 2. Relationship between Fusarium head blight caused by *F. culmorum* and DON accumulation in grain for 23 spring genotypes of the *Triticum* genus

Genotypy pszenicy samopszej i płaskurki wykazały wysoką odporność na fuzariozę kłosów (typ I+II: odporność na porażenie kłosa oraz typ III: odporność na porażenie

ziarniaków) (tab. 2). Szczególnie widoczne było to w przypadku odporności na porażenie ziarniaków odmian White Spring i Kahler Emmer, które było bardzo niskie mimo obserwowanego porażenia kłosa. Orkisz był porażany silniej niż powyższe gatunki i wykazał wyższy stopień porażenia ziarniaków (odmiana Weisser Grannen Spelz i genotyp S3), co wskazuje na niższą odporność typu III u tego gatunku w porównaniu z płaskurką (rys. 1). Orkisz wykazał jednakże wyższą odporność na akumulację DON w ziarnie (typ V odporności). Najbardziej podatne na fuzariozę kłosów były odmiany pszenicy zwyczajnej, jednakże obserwowano znaczne zróżnicowanie odporności tych odmian na fuzariozę kłosów, zarówno typu I+II jak i typu III. Najmniej porażona były stare odmiany Ostka Żłotnicka, oraz Kadett, najsilniej — odmiana Nawra.

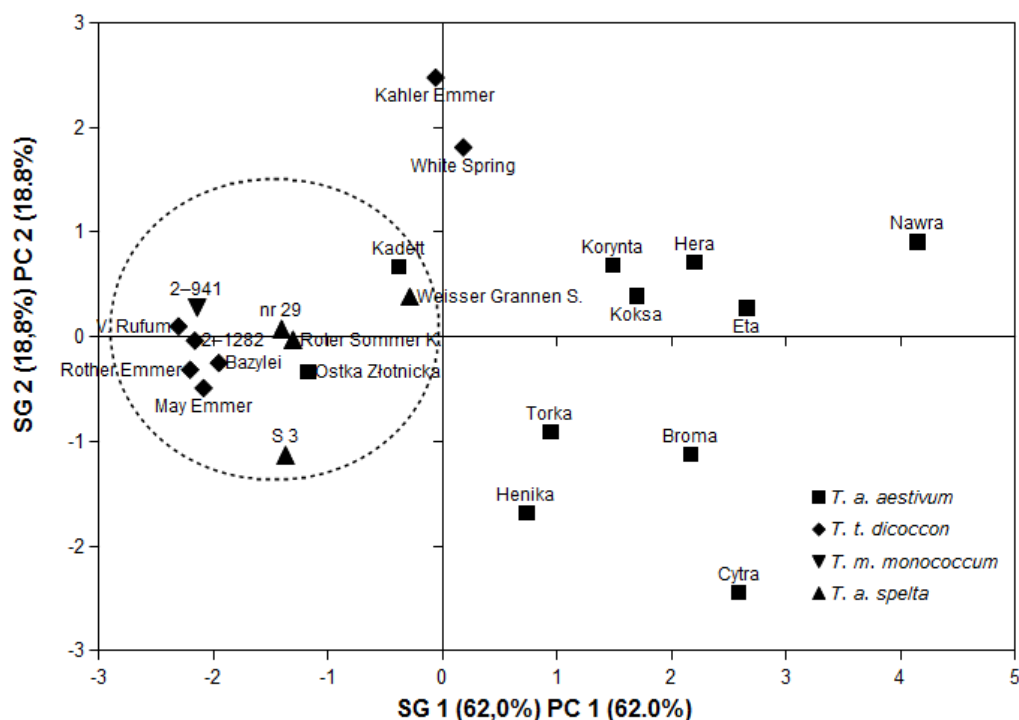


Rys. 3. Zależność między stopniem uszkodzenia ziarniaków a zawartością DON w ziarnie 23 genotypów z rodzaju *Triticum*

Fig. 3. Relationship between Fusarium damaged kernels and DON accumulation in grain for 23 spring genotypes of the *Triticum* genus

Ze względu na złożoność odporności na fuzariozę kłosów uzyskane w obu latach badań wyniki poddano statystycznej analizie składowych głównych (rys. 4). Największe znaczenie miała składowa pierwsza wyjaśniająca 62,0% zmienności genotypów pod względem wszystkich cech. W grupie genotypów podatnych (SG 1 $\geq$ 0) znalazło się większość odmian pszenicy zwyczajnej oraz dwie odmiany płaskurki (ze względu na akumulację DON w ziarnie). Odmiany Kadett i Weisser Grannen Spelz miały zbliżoną wartość SG 1 do powyższych odmian płaskurki jednakże akumulowały one mniej DON w

ziarnie. Wynikała stąd niższa wartość SG 2. Pozostałe genotypy/odmiany tworzyły grupę form odpornych na fuzariozę kłosów o zbliżonych wartościach składowych 1 i 2.



Rys. 4. Genotypy z rodzaju *Triticum* przedstawione w układzie 2 składowych głównych wyjaśniających kolejno 62,0 i 18,8% zmienności odporności na fuzariozę kłosów mierzoną zmiennymi: indeks fuzariozy kłosów, uszkodzenie ziarniaków oraz DON w dwóch latach badań

Fig. 4. Genotypes of the genus *Triticum* shown on the principal coordinates map for the first and second components explaining 62.0 and 18.8% of FHB resistance variability estimated for FHB index, FDK and DON in two experimental years

DYSKUSJA

Uzyskane wyniki wskazują, że do upraw ekologicznych konieczny jest dobór odmian o wysokiej odporności na fuzariozę kłosa. Szczególnie dotyczy to pszenicy zwyczajnej. Odmiany podatne, takie jak Nawra lub Cytra, w znacznie większym stopniu są zagrożone skażeniem mikotoksynami niż odmiany odporne, takie jak Kadett lub Ostka Złotnicka.

Limit zawartości DON, ustanowiony w Unii Europejskiej w roku 2005, i obowiązujący od 2006, wynosi 1,25 ppm dla pszenicy zwyczajnej i 1,75 ppm dla pszenicy twardej (*T. turgidum* subsp. *durum*) i owsa. W około połowie badanych prób nie przekroczono tego progu, mimo intensywnego zakażenia. Można jednak stwierdzić duże zróżnicowanie wewnątrz- i międzygatunkowe. Szczególnie duże było zróżnicowanie reakcji tetraploidalnych genotypów płaskurki. Zidentyfikowano potencjalnie wysoko odporne

genotypy, które mogłyby stanowić źródło odporności dla pszenicy twardej (Cai i in., 2005). Wysoka zmienność odporności na fuzariozę kłosów była obserwowana przez innych autorów. Zależnie od badanej populacji badane genotypy były wysoko podatne (Wan i in., 1997 a,b) lub identyfikowano liczne odporne genotypy (Oliver i in., 2008).

Jedyny badany genotyp pszenicy samopszej wykazał odporność na porażenie kłosa i uszkodzenie ziarniaków, jednakże akumulował dość dużo DON (~1ppm). Pod tym względem przypominał reakcję części genotypów płaskurki. Publikowane badania wskazują, że również w populacji diploidalnej pszenicy samopszej istnieje zmienność odporności na fuzariozę kłosów. Wan i in. (1997a,b) zaklasyfikowali badane genotypy pszenicy samopszej jako podane lub wysoko podatne, natomiast Saur (1991) badając dużo większą liczbę obiektów, zidentyfikował formy o niskiej podatności.

Podobnie jak w przypadku gatunków di- i tetraploidalnych u heksaploidalnego orkisz obserwowano zróżnicowanie reakcji na inokulację *F. culmorum* — odporny genotyp S3, średnio podatny Weisser Grannen Spelz. Suchowilska i in. (2007) stwierdzili wyższą średnią podatność orkisz na porażenie kłosa w porównaniu do pszenicy zwyczajnej. Jednakże o wynikach w znacznym stopniu zdecydował dobór obiektów badań. Odmiana Weisser Grannen Spelz okazała się najbardziej podatna spośród odmian orkisz badanych w niniejszej pracy. W populacji badanej przez Suchowilską i in. (2007) była natomiast odmianą o najwyższej odporności. Wysoką podatność niektórych odmian orkisz obserwowano również w badaniach form ozimych oraz innych genotypów jarych (Góral i in., 2008; Wiwart i in., 2009).

Współczynnik korelacji między oceną stopnia uszkodzenia ziarniaków a zawartością DON był istotny, jednakże miał niską wartość. Wynikało to przede wszystkim z dużej zawartości DON w ziarnie odmian płaskurki: White Spring i Kahler Emmer, które wykazywały niskie uszkodzenia ziarniaków przez *F. culmorum*. Mogło być to spowodowane transportem DON z plewek do ziarniaków (wysoki stopień porażenia kłosów) (Buśko i in., 2008). Jednocześnie te formy mogą charakteryzować się wysoką tolerancją na obecność DON z ziarnie (typ IV wg Foroud i Eudes, 2009), gdyż obserwowano słabe uszkodzenie ziarniaków, pomimo dużego stężenia DON. Jest to cecha niekorzystna ze względów użytkowych i hodowlanych.

Wysoką zawartość DON stwierdzono również w ziarnie odmian Eta i Broma o średnim uszkodzeniu ziarniaków. Natomiast względnie niską zawartość DON w ziarnie przy znacznym porażeniu ziarniaków wykazały odmiany Henika i Koksa oraz orkisz S3. Może to świadczyć o istnieniu specyficznych mechanizmów odporności na fuzariozę u tych odmian. Mechanizm ten określany jest jako typ odporności V (Mesterhazy, 2002; Foroud i Eudes, 2009), czyli odporność na akumulację DON w ziarnie.

Uzyskane wyniki powinny być wstępem do szerszego badania zarówno form jarych, jak też ozimych, które chce się wprowadzić do uprawy w warunkach ograniczonego stosowania środków ochrony roślin. Wydaje się istotne wprowadzanie do badań nowych form, bardziej odpornych na fuzariozę kłosów i jednocześnie eliminowanie odmian najbardziej podatnych. Wśród polskich odmian pszenicy zwyczajnej istnieje znaczne zróżnicowanie odporności na fuzariozę kłosów (Wiśniewska i Buśko, 2005; Góral, 2006; Góral i Ochodzki, 2007). Jeżeli chodzi o inne gatunki *Triticum*, dobór odmian do upraw

ekologicznych również musi być poprzedzony badaniami ze względu na istniejącą zmienność odporności na fuzariozę kłosów (Suchowilska i in., 2010).

WNIOSKI

1. Stwierdzono istotne zróżnicowanie odporności badanych genotypów na fuzariozę kłosów.
2. Najmniej deoksyniwalenolu w ziarnie akumulowały odmiany owsa, najwięcej – odmiany pszenicy zwyczajnej.
3. Wśród gatunków z rodzaju *Triticum* najwyższą odporność na fuzariozę kłosów i uszkodzenie ziarniaków wykazała płaskurka, najmniej deoksyniwalenolu w ziarnie akumulowały genotypy orkisz.
4. Współczesne odmiany pszenicy zwyczajnej wykazały wysoką podatność na fuzariozę kłosów i akumulację deoksyniwalenolu w ziarnie.

LITERATURA

- Argyris J., Van Sanford D., TeKrony D. 2003. *Fusarium graminearum* infection during wheat seed development and its effect on seed quality. *Crop Sci* 43: 1782 — 1788.
- Buśko M., Perkowski J., Wiwart M., Góral T., Suchowilska E., Stuper K., Matysiak A., Szwajkowska-Michałek L. 2008. Distribution of fungal biomass in spike of naturally contaminated and inoculated with *Fusarium culmorum*. *Cereal Res. Commun.* 36, Suppl. B: 477 — 479.
- Cai X., Chen P.-D., Xu S.-S., Oliver R.E., Chen X. 2005. Utilization of alien genes to enhance *Fusarium* head blight resistance in wheat – A review. *Euphytica* 142: 309 — 318.
- Foroud, N. A., Eudes F. 2009. *Trichothecenes* in cereal grains. *Int. J. Mol. Sci.* 10: 147 — 173.
- Góral T. 2006. Odporność odmian pszenicy ozimej na fuzariozę kłosów powodowaną przez *Fusarium culmorum* (W. G. Smith) Sacc. *Biul. IHAR* 242: 79 — 88.
- Góral T., Ochodzki, P. 2007. Wpływ porażenia kłosa i ziarniaków odmian pszenicy ozimej przez *Fusarium culmorum* na akumulację mikotoksyn fuzaryjnych w ziarnie. *Mat. Konferencji naukowej „Nauka dla hodowli roślin uprawnych”*, Zakopane, 29. 01 — 02.02.2007 r.
- Góral T., Ochodzki P., Mazurek A., Bulińska-Radomska Z. 2008. Resistance of species from genus *Triticum* to *Fusarium* head blight and accumulation of *Fusarium*-metabolites in grain. *Cereal Res. Commun.* 36, Suppl. B: 95 — 97.
- Mesterhazy A. 2002. Theory and practice of the breeding for *Fusarium* head blight resistance in wheat. *J. Appl. Genet* 43A: 289 — 302.
- Ochodzki, P., Góral, T. 2006. Production of mycotoxins by selected *Fusarium graminearum* and *F. culmorum* isolates cultured on rice and wheat grain. *Abstracts of the 28th Mycotoxin Workshop*, Bydgoszcz, 29 — 31st May, 2006.
- Oliver, R. E., X. Cai, T. L. Friesen, S. Halley, R. W. Stack, and S. S. Xu, 2008. Evaluation of *Fusarium* head blight resistance in tetraploid wheat (*Triticum turgidum* L.). *Crop Sci.* 48: 213 — 221.
- SAS Institute Inc. 2008. The SAS system for Windows. Release 9.2. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Saur L. 1991. Recherche de géniteurs de résistance à la fusariose de l'épi causée par *Fusarium culmorum* chez le blé et les espèces voisines. *Agronomie* 11: 535 — 541.
- Suchowilska E., Wiwart M., Borusiewicz A. 2007. The reaction of the selected *Triticum aestivum*, *Triticum spelta* and *Triticum dicoccum* genotypes to spike infection by *Fusarium culmorum*. *Proc. of the Conference „Organic farming 2007”*, Praha Suchdol, 6–7. 2. 2007: 172 — 174 pp.
- Suchowilska E., Kandler, W., Sulyok, M., Wiwart, M., Krska, R. 2009. Mycotoxin profiles in the grain of *Triticum monococcum*, *Triticum dicoccum* and *Triticum spelta* after head infection with *Fusarium culmorum*. *J. Sci. Food Agric.* 90: 556 — 565

- Wan Y.-F., Yen C., Yang J.-L. 1997a. The diversity of head-scab resistance in *Triticeae* and their relation to ecological conditions. *Euphytica* 97: 277 — 281.
- Wan Y.-F., Yen C., Yang J.-L. 1997b. Sources of resistance to head scab in *Triticum*. *Euphytica* 94: 31 — 36.
- Wiśniewska H., Buśko M. 2005. Evaluation of spring wheat resistance to *Fusarium* seedling blight and head blight. *Biologia* 60: 287 — 293.
- Wiwart M., Kandler W., Perkowski J., Berthiller F., Preinerstorfer B., Suchowilska E., Busko, M., Laskowska, M., Kraska, R. 2009. Concentrations of some metabolites produced by fungi of the genus *Fusarium* and selected elements in spring spelt grain. *Cereal Chem* 86: 52 — 60.

WŁODZIMIERZ MAJTKOWSKI**GABRIELA MAJTKOWSKA**Ogród Botaniczny Krajowego Centrum Roślinnych Zasobów Genowych
Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — Państwowy Instytut Badawczy, Bydgoszcz

Fitosanitarna rola szaty roślinnej na zrehabilitowanej hałdzie popiołów w Sowlanach k. Białegostoku

Phytosanitary functions of plants used for the reclamation of the heap of ashes in Sowlany near Białystok

W 1999 roku, na części składowiska odpadów paleniskowych w Sowlanach o powierzchni 5,5 ha, wykonano rekultywację, której celem było ograniczenie erozji wietrznej. Rekultywacja biologiczna była poprzedzona pracami technicznymi — formowaniem skarp i tarasów oraz nawiezieniem komunalnych osadów ściekowych w ilości 1500 t·ha⁻¹. W czerwcu 1999 r. powierzchnię hałdy obsiano mieszkanką traw pastewnych, motylkowatych i gorczycy, założono doświadczenie z 29 gatunkami traw z kolekcji Ogrodu Botanicznego KCRZG w Bydgoszczy oraz obsadzono krzewami i drzewami tarasy. W następnych latach prowadzono obserwacje rozwoju zastosowanych roślin oraz badania składu chemicznego podłoża i materiału roślinnego. Po 12 latach, które minęły od rekultywacji hałdy można stwierdzić, że główny cel — zahamowanie erozji wietrznej pyłów — został osiągnięty. Na skarpie głównej składowiska popiołów ukształtowała się zwarta szata roślinna, złożona z kilku wieloletnich gatunków traw oraz taksonów sukcesji spontanicznej. W części doświadczałnej największą trwałością odznaczyły się: *Bromus inermis*, *Elymus elongatus*, *Festuca arundinacea*, *Miscanthus sacchariflorus* i *Spartina pectinata*. Gęsty pas zieleni utworzyły wysadzone na półkach drzewa i krzewy — *Amorpha fruticosa*, *Elaeagnus angustifolia*, *Hippophaë rhamnoides*. Zastosowane osady ściekowe były źródłem metali ciężkich, zwłaszcza cynku, który w największych ilościach był kumulowany przez gatunki drzew oraz trawy *Elymus elongatus* i *Spartina pectinata*, w ilościach od 227–562 mg·kg⁻¹ s.m.

Słowa kluczowe: metale ciężkie, osady ściekowe, popioły węglowe, rekultywacja, trawy

In the year 1999, a reclamation aiming at the reduction of wind erosion was performed on the furnace waste heap in Sowlany with a surface area of 5.5 ha. The biological reclamation followed technical works —forming of escarpments and terraces and the fertilization using communal sewage sludge in the amount of 1500 t·ha⁻¹. In June 1999 the surface of the slag heap was sown with fodder grasses, papilionaceous crops and mustard. The experiment with 29 species of the grasses from the collection of IHAR Botanical Garden in Bydgoszcz was created and the terraces were sown with bushes and trees. During the following years the observations of the plants' development and the examination of chemical composition of substrate and plant material were done. After 12 years, that passed since the reclamation of the slag heap, the main goal — the inhibition of wind erosion of ashes — was achieved. On the main slag heap of ashes stockpile dense flora consisting of perennial grass species and

secondary plant succession was formed. In the experimental part, the following species: *Bromus inermis*, *Elymus elongatus*, *Festuca arundinacea*, *Miscanthus sacchariflorus* and *Spartina pectinata* showed highest durability. The shrubs and trees sown on the erosion platform — *Amorpha fruticosa*, *Elaeagnus angustifolia*, *Hippophaë rhamnoides* — created a dense green belt. The used sewage deposits became the source of heavy metals, especially zinc, which was cumulated in the highest amount (from 227 to 562 mg·kg⁻¹ D.M) by tree species and grasses *Elymus elongatus* and *Spartina pectinata*.

Key words: coal ash, grasses, heavy metals, reclamation, sewage sludge

WSTĘP

Polska należy do krajów, w których wytwarzanie energii cieplnej i elektrycznej oparte jest głównie na spalaniu węgla kamiennego bądź brunatnego. Przemysł energetyczny wytwarza rocznie ponad 18,5 mln ton odpadów, co stanowi 14,8% ogólnej ilości powstających w Polsce odpadów przemysłowych. Część z nich jest wykorzystywana gospodarczo, ale pomimo to blisko 100 tys. ton w skali roku kierowane jest na składowiska, których łączna powierzchnia wynosiła 2884 ha (Seweryn i Woźniak, 2007). Składowiska odpadów paleniskowych stanowią uciążliwość dla środowiska spowodowaną nadmiernym pyleniem. Skuteczną metodą ograniczenia erozji eolicznej pyłów jest pokrycie powierzchni składowiska trwałą i zwartą roślinnością (Siuta, 1999; Woźniak i Rostański, 2000), jednak czynnikiem decydującym o możliwości wegetacji roślin na tym obiekcie jest brak materii organicznej w deponowanym materiale. Znaczący wpływ na skuteczne zadarnienie takich siedlisk ma także dobór odpowiednich gatunków roślin użytych do rekultywacji. Składowisko popiołów paleniskowych z Elektrociepłowni w Białymstoku o powierzchni 32,7 ha, zlokalizowane jest we wsi Sowłany. Powierzchnia eksploatacyjna wynosi 27,2 ha; pozostała część została zamknięta i poddana rekultywacji. W czerwcu 1999 r. na rekultywowanej hałdzie wysiano mieszanek traw pastewnych, motylkowatych i gorczycy oraz założono doświadczenie z gatunkami traw z kolekcji Ogrodu Botanicznego KCRZG w Bydgoszczy. W celu zmniejszenia podatności na erozję wodną na zboczach hałdy wykonano tarasy, które obsadzono krzewami i drzewami. W celu wprowadzenia życia biologicznego do martwego podłoża popiołów paleniskowych wykorzystano osady ściekowe. Przez okres 12 lat prowadzono obserwacje rozwoju zastosowanych roślin oraz badania składu chemicznego podłoża i materiału roślinnego w celu określenia dynamiki zmian zachodzących na zrehabilitowanym składowisku oraz wyodrębnienia gatunków roślin, które można zalecić do stosowania w rekultywacji biologicznej powierzchni składowisk odpadów paleniskowych.

MATERIAŁY I METODY

Przeznaczoną do rekultywacji powierzchnię składowiska ukształtowano w formie ściętej piramidy o nachyleniu skarp 1:4, na których wykonano tarasy o szerokości ok. 4 m, przeznaczone dla roślinności drzewiastej. W celu użyźnienia bezglebowego podłoża zastosowano przefermentowany i zagęszczony do 30% s.m. osad ściekowy, w ilości 1500 t·ha⁻¹, który pochodził z Miejskiej Oczyszczalni Ścieków w Białymstoku. Przed wprowa-

dzeniem roślinności na powierzchni zbocza o powierzchni ok. 5,5 ha zastosowano uzupełniające nawożenie NPK ($120 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$) oraz wykonano poprzeczną orkę pługiem łąkowym. Na tak przygotowane podłoże wysiano nasiona mieszanki rekultywacyjnej, złożonej z sześciu gatunków traw pastewnych, lucerny siewnej, koniczyny łąkowej i gorczycy białej; półki obsadzono drzewami i krzewami (m.in.: rokitnikiem, oliwnikiem, amorfą), a na udostępnionej Instytutowi Hodowli i Aklimatyzacji Roślin powierzchni ok. 0,1 ha założono poletka doświadczalne z kolekcją 29 gatunków traw, głównie z rodzaju perz (*Agropyron*) i wydmuchrzyca (*Elymus*). Ze względu na ograniczoną ilość nasion zestaw doświadczalny traw wysiano bez powtórzeń na poletkach o rozmiarach $5 \times 5 \text{ m}$. Dwa gatunki miskanta cukrowego i spartinę preriową wprowadzono w postaci sadzonek. Wykaz zastosowanych gatunków roślin podano w tabeli 1. Zrekultywowana część składowiska została wyposażona w instalację zraszającą, która była wykorzystywana przez okres 3 lat po wprowadzeniu roślinności. Pielęgnację roślin ograniczono do corocznego wykaszania i zbioru biomasy.

Badania prowadzone przez IHAR obejmowały:

- ocenę zadarnienia powierzchni poletek, w 9-stopniowej skali bonitacyjnej (1 — brak wschodów, 9 — zadarnienie gęste, zwarte),
- ocenę stanu roślin, w 9-stopniowej skali bonitacyjnej (1 — brak roślin, 9 — rozwój b. dobry),
- rozwój roślin na podstawie pomiarów biometrycznych (wysokości roślin na koniec sezonu wegetacyjnego, plon biomasy),
- analizę składu chemicznego podłoża (makroskładniki, metale ciężkie) i materiału roślinnego (metale ciężkie).

Terminy prowadzonych badań zaznaczono w tabelach.

Analizy składu chemicznego podłoża wykonano w Laboratorium Chemicznym Zakładu Technologii Produkcji Roślin Okopowych — Oddział IHAR w Bydgoszczy, gdzie przy użyciu uniwersalnej metody ogrodniczej wg Nowosielskiego (2004) oznaczono:

- pH i zasolenie, w H_2O destylowanej,
- N-NO_3 — przy pomocy elektrody jono-selektywnej,
- P — metodą kolorymetryczną (Spekol 11 Carl Zeiss Jena),
- Ca, K, Na — metodą spektrometrii emisyjnej,
- Mg — metodą absorpcji atomowej (spektrofotometr absorpcji atomowej PU 9100X Philips).

Na podstawie uzyskanych wyników ustalono przedziały zasobności, odczynu i zasolenia dla badanych gleb.

Na Wydziale Technologii i Inżynierii Chemicznej Uniwersytetu Technologiczno-Przyrodniczego w Bydgoszczy przeprowadzono badania zawartości metali ciężkich. Z poddanego suszeniu i zmieleniu surowca roślinnego odważono próbki o masie 250 mg, które umieszczano w bombach mikrofalowych, a następnie zalewano 1 cm^3 30% H_2O_2 i 5 cm^3 65% HNO_3 . Użyte do przygotowania odczynniki miały czystość Czda. Tak przygotowane próbki, po trwającej 24 h wstępnej mineralizacji, umieszczono w mineralizatorze mikrofalowym i poddano mineralizacji falowej według własnej procedury UTP Bydgoszcz. Kolejnym etapem było wykonanie analizy chemicznej za pomocą atomowej

spektrometrii emisyjnej z indukcyjnie wzbudzoną plazmą (ICP — AES), zgodnie z przyjętą metodą badawczą wg PN-EN ISO 11885:2001.

WYNIKI I DYSKUSJA

Po 12 latach, które minęły od rekultywacji, na skarpie głównej składowiska popiołów w Sowlanach ukształtowała się zwarta szata roślinna. Niektóre gatunki spełniły funkcję rośliny ochronnej, dominując w roku wysiewu. Były to gatunki roczne — *Lolium multiflorum* i *Sinapis alba*. W kolejnym sezonie ustąpiły miejsca trawom wieloletnim (tab. 1).

Tabela 1

Wyniki waloryzacji rozwoju roślin zastosowanych na hałdzie popiołów z elektrociepłowni w Sowlanach k. Białegostoku w latach 1999–2010

The results of the valorization of plant growth applied on the heap of ashes from the heat and power plants in Sowlany near Białystok in the years 1999–2010

L.p. No.	Część składowiska Part of the stockpile	Gatunek Species	Zadarnienie — Sodding (valuation scale 1–9)			Stan roślin w 2010 r. Condition of plants in 2010 (bonitacja/ scale 1–9)
			1999	2000	2001	
1	2	3	4	5	6	7
1	Skarpa główna The main scarp	<i>Arrhenatherum elatius</i> (L.) P.B.	3	3	3	1
		<i>Dactylis glomerata</i> L.	5	7	9	7
		<i>Festuca rubra</i> L.	5	5	5	7
		<i>Lolium multiflorum</i> Lam.	7	3	1	1
		<i>Lolium perenne</i> L.	7	9	7	3
		<i>Medicago sativa</i> L.	3	5	5	3
		<i>Phleum pratense</i> L.	3	3	3	3
		<i>Sinapis alba</i> L.	9	3	1	1
		<i>Trifolium pratense</i> L.	3	5	5	3
2	Zadrzewione półki Trees covered terraces	<i>Amorpha fruticosa</i> L.				9
		<i>Elaeagnus angustifolia</i> L.				9
		<i>Hippophaë rhamnoides</i> L.				9
3	Poletka doświadczalne Experimental plots	<i>Agropyron agroelymoides</i> J. Hunzik	9	9	5	1
		<i>A. aucheri</i> Boiss.	3	5	5	1
		<i>A. campestre</i> Godr. & Gren.	5	5	9	1
		<i>A. cristatum</i> Beauv.	7	9	9	7
		<i>A. desertorum</i> (Fisch. & Link) Schult.	3	3	7	1
		<i>A. littorale</i> Dum.	3	3	5	1
		<i>A. smithii</i> Rydb.	5	7	7	1
		<i>A. tanaiticum</i> Nevski	1	1	1	1
		<i>A. trichophorum</i> (Link) Richt.	7	7	9	1
		<i>A. ugamicum</i> Drob.	3	3	7	1
		<i>Bromus inermis</i> Leyss.	7	7	9	9
		<i>Elymus condensatus</i> J. & C. Presl.	3	3	5	3
		<i>E. dahuricus</i> Turcz. ex Griseb.	3	3	3	1
		<i>E. elongatus</i> (Host) Run.	9	9	9	9
		<i>E. farctus</i> (Viv.) Run. & Melder.	5	1	1	1

c.d. Tabela 1

1	2	3	4	5	6	7
		<i>E. giganteus</i> Vahl.	9	7	3	1
		<i>E. hispidus</i> (Opiz) Melder.	9	9	7	5
		<i>E. pyracanthus</i> (Drob.) Nevski	5	7	7	3
		<i>E. riparius</i> Vieg.	5	5	3	1
		<i>E. villosus</i> Muhl. ex Willd.	3	3	7	1
		<i>Elytrigia pruinifera</i> Nevski	5	7	7	3
		<i>E. pungens</i> (Pers.) Tutin	3	7	7	3
		<i>Festuca arundinacea</i> Schreb.	9	9	9	9
		<i>Leymus chinensis</i> (Trin.) Tzvel.	7	7	9	1
		<i>L. mollis</i> (Trin.) Pilger	5	5	7	1
		<i>L. racemosus</i> (Lam.) Tzvel.	3	5	7	5
		<i>L. secalinus</i> (Georgi) Tzvel.	7	7	9	1
		<i>Miscanthus sacchariflorus</i> Hack.	5	5	5	9
		<i>Spartina pectinata</i> Bosc. ex Link.	9	9	9	9

W części doświadczalnej największą trwałością odznaczyło się kilka gatunków traw: *Bromus inermis*, *Elymus elongatus*, *Festuca arundinacea*, *Miscanthus sacchariflorus* i *Spartina pectinata*. *Spartina* preriowa wyróżniała się także plonem biomasy, który w przeliczeniu na 1 ha wyniósł ponad 28 ton (tab. 2).

Tabela 2

Zestawienie wyników oceny rozwoju miskanta cukrowego i spartiny preriowej na hałdzie popiołów w Sowlanach pod koniec sezonu wegetacyjnego 2007 i 2011 r.

The results of the evaluation of development of *Miscanthus sacchariflorus* and *Spartina pectinata* on the heap of ashes in Sowłany at the end of 2007 and 2011 growing season

L.p. No.	Gatunek Species	Wysokość roślin Plant height (cm)		Plon świeżej biomasy Fresh biomass yield (t·ha ⁻¹)		Wilgotność próby Humidity (%)
		2007	2011	2007	2011	
1	<i>Miscanthus sacchariflorus</i> Hack.	142	175	4,8	9,5	37,5
2	<i>Spartina pectinata</i> Bosc. ex Link.	198	196	28,8	15,0	63,9

Na szczególną przydatność traw w biologicznej rekultywacji składowisk odpadów zwracają uwagę: Patrzalek (1984, 2000), Pawluśkiewicz i Gutkowska (2005), Prończuk i Prończuk (2000), Wolski i in. (2006). Gęsty pas zieleni utworzyły wysadzone na półkach drzewa i krzewy — oliwnik wąskolistny, amorfia krzewiasta i rokitnik zwyczajny. Oprócz gatunków celowo wprowadzonych w 1999 r. na hałdzie w następnych latach pojawiły się nowe taksony, najczęściej na drodze sukcesji spontanicznej, np.: *Calamagrostis epigejos* (L.) Roth, *Urtica dioica* L., *Artemisia vulgaris* L., *Tanacetum vulgare* L., *Cytisus scoparius* (L.) Link. lub wprowadzone przez człowieka (np. *Helianthus tuberosus* L. i *Salix viminalis* L.).

Na rozwój zastosowanych roślin wpływ mogły mieć także warunki klimatyczne, panujące w okresie prowadzonych obserwacji. Zgodnie z podziałem rolniczo-klimatycznym Polski Romualda Gumińskiego, Białystok położony jest w dzielnicy podlaskiej, w której klimat jest wyraźnie chłodniejszy od innych dzielnic nizinnych. W rejonie Białegostoku wyraźnie zaznacza się kontynentalizm klimatu z ostrymi zimami

oraz gorętszymi i bardziej suchymi latami. Średnia temperatura roczna wynosi ok. +7 °C, a średnie temperatury stycznia mieszczą się w granicach od -4 do -6 °C, należą one do najniższych w Polsce. Według danych stacji meteorologicznej w Białymstoku roczna suma opadów w roku 2000 wynosiła 453 mm, w roku 2005 — 546 mm, w 2008 — 602 mm, w 2009 — 703 mm, podczas gdy średnia wieloletnia z lat 1971–2000 wynosiła 577 mm. Średnia temperatura powietrza w roku 2000 wynosiła 8,6°C, w roku 2005 — 7,1°C, w 2008 — 8,2°C, w 2009 — 7,2°C; średnia wieloletnia w latach 1971–2000 wynosiła 6,9°C (Informator Białostocki, 2012). Wpływem warunków klimatycznych można wyjaśnić, odnotowane w 2010 r., pogorszenie stanu badanych roślin w stosunku do oceny z lat 1999–2001, zwłaszcza gatunków traw pochodzących z innych rejonów świata (tab. 1).

W stosunku do zawartości mikroelementów w glebach naturalnych odpady paleniskowe zawierają więcej ołowiu, cynku, chromu, niklu, a szczególnie boru, mniej potasu, fosforu i azotu (Seweryn i Woźniak, 2007). Według Klimonta (2011) wniesienie komunalnych osadów ściekowych do rekultywacji popiołów i wprowadzenie roślinności trawiastej wpłynęło na inicjację życia biologicznego w martwym podłożu, a wytworzona materia organiczna stworzyła kompleks sorpcyjny ułatwiający gromadzenie składników pokarmowych i wody. Dzięki temu w poziomie próchnicznym prawie 2-krotnie zwiększyła się zawartość substancji organicznej (do 66,2 g·kg⁻¹), w porównaniu do samego popiołu (38,6 g·kg⁻¹). Także Bielińska i in. (2009) uważają, że zastosowanie osadów ściekowych przyczynia się do dynamicznego wzrostu substancji organicznej, ulegającej szybkiej transformacji do próchnicy glebowej.

Tabela 3

Ilość składników pokarmowych w podłożach z hałdy popiołów w Sowłanach w październiku 2009 r.
The amounts of the nutrients in substrates from the heap of ashes in Sowłany in October in the 2009

Podłoże Substrate	pH	Zasolenie Salinity (g·kg ⁻¹)	N-NO ₃ (mg·kg ⁻¹)	P (mg·kg ⁻¹)	K (mg·kg ⁻¹)	Ca (mg·kg ⁻¹)	Na (mg·kg ⁻¹)	Mg (mg·kg ⁻¹)
Popiół Ash	6,47	0,07	<10	94	20	1831	25	59
Popiół + osad Ash + sewage sludge	6,10	0,04	32	81	31	1646	15	57

Zastosowane osady ściekowe były źródłem metali ciężkich, zwłaszcza cynku (tab. 4). Na podstawie zaproponowanych przez Poznańskiego (1997) progowych zawartości metali śladowych, wynoszących odpowiednio dla celów paszowych: Cd 0,1–0,5; Zn 20–150; Pb 3–10 mg·kg⁻¹ s.m., dokonano oceny analizowanego materiału roślinnego. Najwyższą zawartość cynku (od 227–562 mg·kg⁻¹ s.m.) stwierdzono w pędach amorfy krzewiastej, oliwnika wąskolistnego i żarnowca miotlastego oraz w biomasie wydmuchrzycy wydłużonej i spartiny preriowej (tab. 5). Topinambur i amorfa należały do gatunków kumulujących najwięcej ołowiu (odpowiednio 86,7 i 65,4 mg·kg s.m.). W tkankach amorfy stwierdzono także najwięcej chromu (17,6 mg·kg s.m.). Uzyskane wyniki pozwalają wytypować gatunki szczególnie przydatne w oczyszczaniu środowiska metodą fitoremediacji.

Tabela 4

Zawartość metali ciężkich w podłożach pobranych z haldy popiołów w Sowlanach w październiku 2009 r.

The content of heavy metals in substrates taken from the heap of ashes in Sowlany in October in the 2009

Podłoże Substrate	Cd (mg·kg ⁻¹)	Cr (mg·kg ⁻¹)	Pb (mg·kg ⁻¹)	Zn (mg·kg ⁻¹)
Popiół Ash	<5	36,22	<10	385,83
Popiół + osady ściekowe Ash + sewage sludge	<5	28,42	<10	647,62
Dopuszczalne stężenie metali ciężkich zanieczyszczających glebę średnio zwięzłą* Maximum acceptable concentration of heavy metals contaminating semi-compacted soil*	1	80	70	200

* Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi (Dziennik Ustaw nr 37 poz. 344 z 21.03.2002 r.)

* Regulation of the Minister of Agriculture and Rural development (Journal of laws no. 37 item 344 from 21.03.2002)

Tabela 5

Zawartość metali ciężkich w materiale roślinnym pobranym ze zrekultywowanej haldy popiołów z EC w Białymstoku-Sowlanach w październiku 2009 r.

The content of heavy metals in plant material taken from the heap of ashes from power plants in Białystok-Sowlany in October 2009

L.p. No.	Materiał roślinny Plant material	Cd (mg·kg ⁻¹)	Cr (mg·kg ⁻¹)	Pb (mg·kg ⁻¹)	Zn (mg·kg ⁻¹)
1	<i>Spartina pectinata</i>	<5	<5	<10	354,2
2	<i>Elaeagnus angustifolia</i>	5,85	<5	37,64	227,49
3	<i>Elymus elongatus</i>	<5	<5	12,26	370,46
4	<i>Cytisus scoparius</i>	<5	<5	217	328,03
5	<i>Tanacetum vulgare</i>	<5	<5	<10	75,92
6	<i>Bromus inermis</i>	<5	<5	<10	43,49
7	<i>Festuca arundinacea</i>	<5	<5	<10	38,84
8	<i>Miscanthus sacchariflorus</i>	<5	<5	<10	25,26
9	<i>Helianthus tuberosus</i> — bulwy tubers	0	<5	<10	17,35
10	<i>Helianthus tuberosus</i> — łodygi stems	<5	<5	86,69	10,55
11	<i>Hippophaë rhamnoides</i> — owoce fruits	<5	0	<10	26,23
12	<i>Hippophaë rhamnoides</i> — pędy shoots	0	<5	<10	35,37
13	<i>Urtica dioica</i>	0	<5	<10	40,11
14	<i>Amorpha fruticosa</i>	<5	17,65	65,38	562,39
Progowe zawartości metali ciężkich w roślinach na cele paszowe*:					
15	The threshold values for heavy metals in plants for fodder purposes*:				
	liście — leaves	0,1	—	3	20
	korzenie (bulwy) — roots (tubers)	0,2	—	5	40

* Poznański (1997)

Według Marecika i in. (2006) rośliny wykorzystywane w procesach fitoremediacji powinny charakteryzować się tolerancją na duże stężenia ksenobiotyków, wysokim stopniem akumulacji lub biodegradacji zanieczyszczeń, nawet przy relatywnie niskim poziomie skażenia, zdolnością do akumulacji kilku zanieczyszczeń jednocześnie, szybkim wzrostem, dużą produkcją biomasy, odpornością na choroby i szkodniki, a także trudne

warunki środowiskowe. Ze względów praktycznych (zminimalizowanie kosztów związanych ze zbiorem), rośliny stosowane w tej metodzie, oprócz zdolności do akumulacji dużej ilości zanieczyszczeń, szybkiego wzrostu i dużej produkcji biomasy, powinny odznaczać się akumulacją ksenobiotyków w częściach nadziemnych — łodygach i liściach. Wymienione cechy posiadają: spartina preriowa, wydmuchrzyca wydłużona i topinambur (tab. 2 i 5).

WNIOSKI

1. Na gruncie bezglebowym z odpadów paleniskowych można tworzyć zbiorowiska roślin, stosując proste działania agrotechniczne, takie jak: wniesienie komunalnych osadów ściekowych oraz obsiewanie mieszkanką traw.
2. Pomimo niekorzystnych warunków siedliskowych, powodowanych rodzajem podłoża, powierzchnia zrehabilitowanej hałdy charakteryzuje się dużą bioróżnorodnością, wynikającą zarówno ze sztucznego wprowadzania gatunków roślin, jak również procesu sukcesji wtórnej.
3. Główny cel rekultywacji hałdy — zahamowanie erozji wietrznej pyłów — został osiągnięty; obecność roślinności na skarpie składowiska skutecznie redukuje procesy erozji wietrznej.
4. Przekroczenia dopuszczalnych progowych zawartości metali ciężkich w roślinach, dotyczące głównie cynku i ołowiu, stanowić mogą zagrożenie dla zdrowia organizmów żywych.
5. Niektóre z badanych gatunków roślin można zastosować do fitoremediacji gleb zanieczyszczonych metalami ciężkimi.

LITERATURA

- Bielińska E. J., Kołodziej B., Wiśniewski J., Kawecka-Radomska M. 2009. Wpływ zróżnicowanych dawek osadu ściekowego na właściwości chemiczne i biochemiczne gleb zlokalizowanych na terenie składowiska odpadów komunalnych. W: Stankowski S., Pacewicz K. (red.) Tereny zdegradowane i rekultywowane – możliwości ich zagospodarowania. Szczecin-Ostoja, 27.11.2009: 17 — 24.
- Klimont K. 2011. Rekultywacyjna efektywność osadów ściekowych na bezglebowym podłożu wapna popłotacyjnego i popiołów paleniskowych. Problemy Inżynierii Rolniczej 2: 165 — 176.
- Informator Białostocki. 2012. Klimat (<http://www.info.bialystok.pl/info/klimat/obiekt.php>).
- Marecik R., Króliczak P., Cyplik P. 2006. Fitoremediacja — alternatywa dla tradycyjnych metod oczyszczania środowiska. Biotechnologia 3 (74): 88 — 97.
- Nowosielski O. 2004. Nawozy nasienne i korzeniowe. Owoce, Warzywa, Kwiaty 8: 17.
- Patrzalek A. 1984. Wzrost i rozwój niektórych traw i roślin motylkowatych na zwałowiskach odpadów węgla kamiennego „Smolnica”. Arch. Ochr. Środ. 1: 183 — 197.
- Patrzalek A. 2000. Udział i rola roślinności spontanicznej w tworzeniu zbiorowisk z wysiewanymi odmianami traw na gruncie z odpadowej karbońskiej masy skalnej. Fragm. Flor. Geobot. Polonica 7: 215 — 227.
- Pawluśkiewicz B., Gutkowska A. 2005. Występowanie zbiorowisk trawiastych na rekultywowanym składowisku popiołów elektrownianych. Łąkarstwo w Polsce 8: 165 — 172.
- Poznański E. 1997. Stopień skażenia gleb i roślin metalami ciężkimi na terenie aglomeracji bydgoskiej. Materiały z IV i V Forum Ochrony Środowiska w Bydgoszczy, seria Ochrona Środowiska: 28 — 36.
- Prończuk S., Prończuk M. 2000. Nasiennictwo traw dla rekultywacji terenów trudnych. Łąkarstwo w Polsce 3: 29 — 139.

- Seweryn A., Woźniak M. 2007. Wyniki badań ankietowych składowisk popiołowych w Polsce. Krakowska Konferencja Młodych Uczonych: (http://www.profuturo.agh.edu.pl/pliki/./ISr./SEWERYN_WOZNIAK.pdf): 357 — 362.
- Siuta J. 1999. Rekultywacyjna efektywność osadów ściekowych (w: Przyrodnicze użytkowanie osadów ściekowych]. Materiały z III Konferencji Naukowo-Technicznej, Świnoujście 9-11.06.1999. Wydawnictwo Ekoinżynieria, Lublin: 21 — 35.
- Wolski K., Szymura M., Szymura T., Gierula A., Sokulska D. 2006. Gatunki traw występujące na obwałowaniach składowiska odpadów flotacyjnych Żelazny Most. Zeszyty Naukowe Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu (R.) 545: 301 — 308.
- Woźniak G., Rostański A., 2000. Rola traw w spontanicznej sukcesji roślinnej na osadnikach ziemnych wód kopalnianych na Górnym Śląsku. Łąkarstwo w Polsce 3: 159 — 169.

MILENA PIETRASZKO**DOMINIKA BOGUSZEWSKA-MAŃKOWSKA**

Zakład Agronomii Ziemniaka w Jadwisinie

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — PIB

Wpływ nawadniania w uprawie ziemniaka na porażenie bulw potomnych przez *Clavibacter* *michiganensis* subsp. *sepedonicus*

Influence of irrigation on bacterial ring rot infection in potato progeny tubers

W pracy przedstawiono wyniki doświadczenia przeprowadzonego w 2008 roku na mikropoletkach na terenie IHAR — PIB Oddział w Jadwisinie. Celem badania była ocena wpływu nawadniania ziemniaka na porażenie bakteriozą pierścieniową bulw potomnych w postaci objawowej i latentnej w warunkach sztucznej inokulacji sadzeniaków zawiesiną komórek *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (*Cms*) o zróżnicowanej gęstości (10^6 jtk/ml i 10^8 jtk/ml). Nawadnianie prowadzono systemem kroplującym. Najwięcej bulw potomnych (1,96%) z objawami bakteriozy pierścieniowej stwierdzono w kombinacji nienawadnianej. Udział prób z wykrytą za pomocą testu IF obecnością komórek *Cms* dla obiektów nienawadnianych wynosił 76,5%, zaś dla obiektów nawadnianych 89,2%. Obserwowano zmienne nasilenie porażenia bezobjawowego bulw w poszczególnych kombinacjach. Najsilniej uległy mu bulwy na obiekcie nawadnianym, pochodzące od sadzeniaków zakażonych zawiesiną bakteryjną o stężeniu 10^8 jtk/ml. Zastosowane w doświadczeniu nawadnianie nie miało istotnego wpływu na stopień porażenia bulw przez bakterie *Cms*. Stwierdzono natomiast istotnie wyższy stopień porażenia bulw potomnych pochodzących od sadzeniaków zakażanych zawiesiną bakteryjną o stężeniu 10^8 jtk/ml.

Słowa kluczowe: bakterioza pierścieniowa ziemniaka, *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*, porażenie latentne, zawiesina bakteryjna *Cms*

We present here the results of the field experiments set up on microplots in 2008 at Jadwisin Division of Plant Breeding and Acclimatization Institute. The aim of this study was to assess impact of irrigation on symptomatic and latent ring rot infection of potato progeny tubers. Seed potatoes were inoculated with bacterial suspension of two different concentrations of *Cms* cells: 10^6 cfu/ml and 10^8 cfu/ml. The most progeny tubers with symptoms of ring rot (1.96%) were found in non-irrigated combination. The share of samples with *Cms* cells detected using IF test for non-irrigated objects was 76.5%, while for irrigated objects was 89.2%. The latent infection was most intensive in progeny tubers derived from irrigated objects when seed tubers were inoculated with bacterial suspension of concentrations *Cms* of 10^8 cfu/ml. Irrigation had no significant effect on the degree of progeny tubers infection with ring rot symptoms. The significantly higher degree of progeny tubers infection was determined for samples in which potato seed tubers were inoculated with bacterial suspension of concentration *Cms* of 10^8 cfu/ml.

Key words: bacterial ring rot, *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*, *Cms* bacterial suspension, latent infection

WSTĘP

Bakterioza pierścieniowa ziemniaka jest chorobą kwarantannową bardzo trudną do rozpoznania i wyeliminowania głównie ze względu na epidemiologiczne cechy jej sprawcy — bakterii *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (*Cms*). Bakteria charakteryzuje się niskim tempem wzrostu, co zazwyczaj powoduje, że jej koncentracja w bulwach i łodygach ziemniaków przez długi czas jest bardzo niska, a rozwój choroby zachodzi bezobjawowo (Dykstra, 1941; Slack, 1987).

Pierwsze symptomy choroby na częściach nadziemnych roślin ziemniaka pojawiają się na niżej położonych liściach, wokół łodygi bądź z jednej jej strony. Brzegi liści zwijają się do zewnątrz ku górze, bledną i więdną. Liście stają się stopniowo matowo zielone, czasem są cętkowane, w końcu brunatnieją i obumierają.

Objawom występującym na częściach nadziemnych roślin towarzyszą objawy na bulwach. Porażenie bulw następuje poprzez stolon. Wczesne objawy porażenia mogą być obserwowane po przekrojeniu bulwy w części przystolonowej, w postaci wąskich, szklistych do kremowo żółtych przebarwień wiązki przewodzącej. W przypadku bardziej zaawansowanej choroby przebarwienie wiązki przewodzącej może być koloru jasnobrązowego i obejmować cały jej obwód. Charakterystyczne jest, że po ściśnięciu bulwy, w miejscu wiązki następuje jej rozwarstwienie i wyciek kremowego, bezwonnoego śluzu bakteryjnego.

Objawy chorobowe, uwidaczniają się często dopiero pod koniec okresu wegetacji lub przechowywania bulw ziemniaka. Na roślinach mogą być mylone lub maskowane z objawami innych chorób, takich jak: zaraza ziemniaka (*Phytophthora infestans*), więdnienie (*Verticillium albo-atrum*), lub błędnie identyfikowane jako objawy starzenia się rośliny. Natomiast na bulwach mogą być mylone z objawami mokrej zgnilizny (*Ervinia carotovora* subsp. *atroseptica*). Nasilenie objawów jest uzależnione od warunków otoczenia, populacji bakterii wewnątrz rośliny, jak również odmiany ziemniaka (Pastuszewska i Junosza Kisielewska, 2004).

Niewielka liczba bakterii zasiedlających łodygi lub bulwy może nie wywoływać żadnych objawów chorobowych. Zanim komórki *Cms* nie rozmnożą się do poziomu wywołującego makroskopowe objawy lub wykrywalnego metodami immunologicznymi, choroba w postaci latentnej może utrzymywać się nawet przez trzy rozmnożenia roślin, stwarzając zagrożenie infekcyjne (De Boer i McNaughton, 1986; Slack, 1987; Manzer i in., 1987). Częstotliwość pojawiania się porażen latentnych jest wciąż niepoznana. Przypuszcza się, że na wielkość populacji bakterii *Cms* mają wpływ warunki środowiskowe (De Boer i McNaughton, 1986). Wiele doświadczeń potwierdziło zmienność nasilenia porażenia roślin w zależności od warunków zewnętrznych. Sztucznie inokulowane bulwy traktowane w jednakowy sposób reagowały różnie (De Boer i in., 1992a; Nelson i in., 1992; Westra i in., 1994; Kawchuk i in., 1998).

Celem badania było określenie wpływu nawadniania ziemniaka na porażenie bakteriozą pierścieniową w postaci objawowej i latentnej, bulw potomnych sztucznie zakażonych, zawiesiną komórek *Cms* o zróżnicowanej liczebności, sadzeniaków.

MATERIAŁ I METODY

Doświadczenie przeprowadzono w warunkach kwarantannowych na 6 mikropoletkach na terenie IHAR — PIB Oddział w Jadwisinie w roku 2008, w ramach projektu badawczego pt: „Agrotechniczne metody zwalczające lub ograniczające rozprzestrzenianie bakteriozy pierścieniowej ziemniaka wywoływanej przez *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*”.

Badania prowadzono na odmianie Syrena. Sadzeniaki zakażano *Cms* bezpośrednio przed sadzeniem, poprzez dziesięciokrotne nakłuwanie skalpelem w okolicy oczek, uprzednio zanurzonym w zawieszynie bakteryjnej. Użyto dwie gęstości zawieszyny bakteryjnej: 10^6 jtk/ml i 10^8 jtk/ml (jednostek tworzących kolonie/mililitr).

W doświadczeniu porównywano następujące kombinacje:

Obiekty bez nawadniania:

- 1 sadzeniaki zakażone zawiesiną bakteryjną o gęstości 10^6 jtk/ml
- 2 sadzeniaki zakażone zawiesiną bakteryjną o gęstości 10^8 jtk/ml
- 3 sadzeniaki niezakażane — kontrola

Obiekty z nawadnianiem:

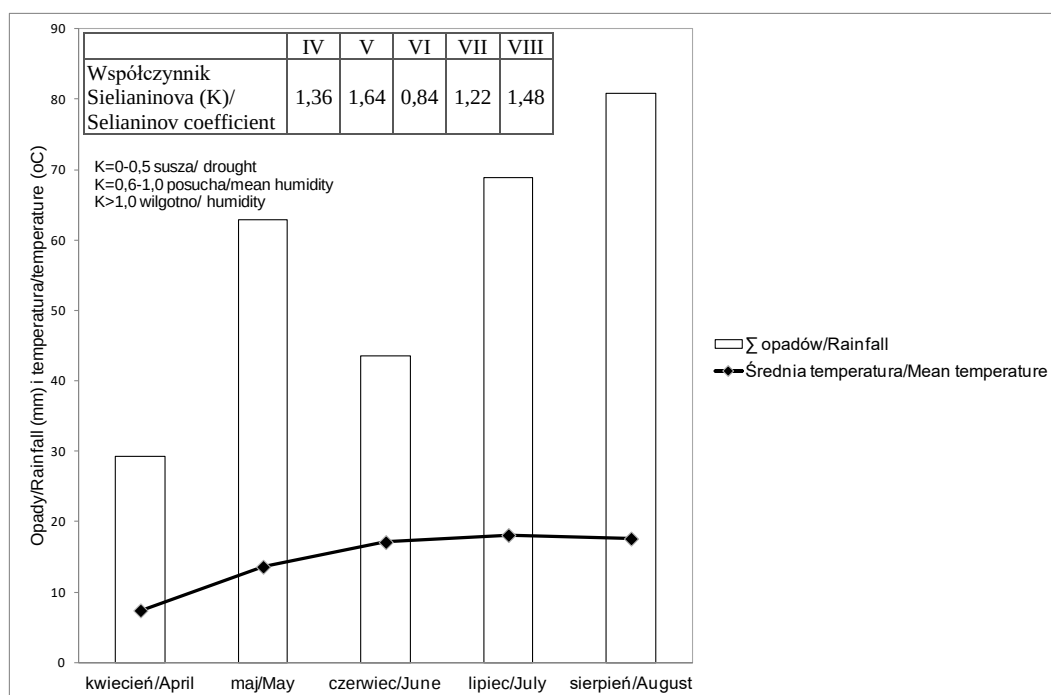
- 4 sadzeniaki zakażone zawiesiną bakteryjną o gęstości 10^6 jtk/ml
- 5 sadzeniaki zakażone zawiesiną bakteryjną o gęstości 10^8 jtk/ml
- 6 sadzeniaki niezakażane — kontrola.

Na każdym mikropoletku wysadzono po 24 bulwy. W trakcie wegetacji stosowano ręczne usuwanie chwastów oraz chemiczną ochronę przeciwko stoncy i zarazy ziemniaka.

Nawadnianie prowadzono systemem kroplującym. Jest to system pozwalający na precyzyjne dostarczanie wody w czasie okresu wegetacji bezpośrednio do gruntu, a więc bez konieczności zwilżania powierzchni asymilacyjnej roślin. Dawki nawodnieniowe ustalano na podstawie analizy bilansu opadów i potrzeb wodnych roślin. Przyjęto zasadę stosowania nawadniania w momencie spadku wilgotności gleby poniżej 60% PPW. Wilgotność gleby była mierzona tensjometrem.

W trakcie zbioru prowadzonego w pełni dojrzałości, plon każdej z roślin zbierano oddzielnie, notując ogólną liczbę bulw, liczbę bulw z widocznymi objawami porażenia *Cms* na przekroju oraz liczbę bulw zgniłych, bez określania przyczyny gnicia. Zebrany plon (tj. wszystkie pozostałe bulwy spod każdej z roślin) umieszczono w przechowalni.

Łączna suma opadów atmosferycznych w okresie wegetacji ziemniaków wynosiła 285,4 mm, średnia temperatura $14,8^{\circ}\text{C}$, a wartość współczynnika hydrotermicznego przekroczyła 1 (rys. 1). W trakcie całego sezonu wegetacyjnego dla kombinacji nawodnieniowej zastosowano zabiegi nawodnieniowe o łącznej sumie opadu 103,7 mm.



Rys. 1. Warunki termiczno-wilgotnościowe okresu wegetacji
Fig. 1. Weather conditions of the vegetation period

Około trzy tygodnie po zbiorze, w celu oceny latentnej formy bakteriozy pierścieniowej, z plonu każdej z roślin danej kombinacji pobrano po 10 bulw, które stanowiły łączną próbę do dalszej analizy. Pojedyncza roślina ziemniaka stanowiła jedno powtórzenie. Z każdego mikroplota pobrano 24 próby. Łącznie, analizie laboratoryjnej na obecność komórek *Cms* poddano 144 próby. Próby oceniano testem immunofluorescencji pośredniej (IF). Postępowanie z każdą z prób było zgodne z procedurą dla testu IF, podaną w Dyrektywie Komisji 2006/56/WE z dnia 12 czerwca 2006 roku. Zastosowano przeciwciała poliklonalne firmy Loeve. Test odczytywano pod mikroskopem fluorescencyjnym, przy powiększeniu 1000 razy. W preparatach z badanych prób, w przynajmniej 10 polach widzenia, poszukiwano morfologicznie typowych, jaskrawo fluoryzujących komórek *Cms* i przeliczano je na mililitr zawieszonego osadu, zgodnie z procedurą (Dyrektywa Komisji 2006/56/WE). Próg wykrywalności w teście IF wynosi 10^3 – 10^4 jtk/ml osadu.

Do wykonania analiz statystycznych zebranych danych eksperymentalnych użyto 8-stopniowej skali porażenia bulw w próbie. Skalę utworzono w oparciu o liczebność komórek bakteryjnych obserwowanych w preparacie i odpowiadające jej stężenia w 1 ml osadu. W skali tej, 0 oznacza brak komórek *Cms* w preparacie, a 8 najwyższą liczbę i stężenie komórek *Cms* w 1 ml osadu (tab. 1).

Tabela 1

Ośmiostopniowa skala porażenia bulw przez *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (Cms) na podstawie testu IF (Townsend i Heuberger, 1943)
8 -degree scale of tubers infection caused by *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (Cms) on the basis of IF test

Stopień porażenia The degree of infection	Liczebność komórek Cms w 1 ml zawieszonego osadu (jtk/ml) Concentration of Cms cells in 1 ml of pellet	Liczba komórek Cms obserwowanych w okienku preparatu lub polu widzenia Number of Cms cells observed in window of microscopic slide or field of vision
0	brak komórek Cms w preparacie lack of Cms cells in sample	brak komórek Cms w okienku preparatu lack of Cms cells in window of microscopic slide
1	50–10 ³	1–20 w okienku preparatu / in window of confection
2	1,4×10 ⁵	0–5 w polu widzenia / in field of vision
3	2,9×10 ³ –1,4×10 ⁵	1–5 w polu widzenia / in field of vision
4	1,4×10 ⁵ –2,9×10 ⁵	5–10 w polu widzenia / in field of vision
5	1,4×10 ⁶	50 w polu widzenia / in field of vision
6	2,9×10 ⁶	100 w polu widzenia / in field of vision
7	5,8×10 ⁶	200 w polu widzenia / in field of vision
8	1,4×10 ⁷ i więcej	500 i więcej w polu widzenia / and more in field of vision

Wartości wyrażone w stopniach przeliczono na ogólny stopień porażenia bezobjawowego bulw z danego obiektu, według wzoru Townsenda i Heubergera (1943): $\frac{\sum n \cdot v}{i \cdot N} \cdot 100$ i średni stopień porażenia bulw: $\frac{\sum n \cdot v}{N}$, gdzie: n — liczba prób z danego obiektu w danym stopniu porażenia, v — stopień porażenia, i — najwyższy stopień skali porażenia, N — całkowita liczba badanych prób z danego obiektu). Wyniki poddano analizie statystycznej testem Tukeya, wykonując analizę wariancji ($\alpha = 0,05$) dla dwóch zmiennych, stężenia zawiesiny bakteryjnej i kombinacji.

WYNIKI

Zebrane bulwy potomne poddano analizie makroskopowej. W plonie ziemniaków wyrosłych na kombinacjach kontrolnych nie znaleziono bulw z objawami porażenia przez Cms.

Tabela 2

Ocena porażenia przez *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (Cms) bulw potomnych ziemniaka, uprawianych w różnych kombinacjach, na podstawie obserwacji makroskopowej
Evaluation of *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (Cms) infection of progeny tubers of potatoes grown in different experimental combinations, on the basis of visual observations

Kombinacja Combination	Obiekt bez nawadniania Non-irrigated object		Obiekt z nawadnianiem Irrigated object	
Gęstość zawiesiny Cms użytej do zakażenia sadzeniaków Concentration of Cms suspension used to inoculate seed	10 ⁶ jtk/ml 10 ⁶ cfu/ml	10 ⁸ jtk/ml 10 ⁸ cfu/ml	10 ⁶ jtk/ml 10 ⁶ cfu/ml	10 ⁸ jtk/ml 10 ⁸ cfu/ml
Liczba bulw potomnych z objawami bakteriozy pierścieniowej/ogólna liczba bulw potomnych Number progeny tubers with ring rot symptoms/total number of progeny tubers	0/318	6/305	1/357	1/294
Procent bulw potomnych z objawami bakteriozy pierścieniowej Percentage of progeny tubers with ring rot symptoms	0	1,96	0,28	0,34
		0,98		0,31

Najwięcej bulw potomnych z objawami bakteriozy pierścieniowej stwierdzono w kombinacji nienawadnianej, pochodziły one z sadzeniaków zakażanych zawiesiną bakteryjną o gęstości 10^8 jtk/ml — stanowiły niecałe 2% wszystkich bulw tej kombinacji. W plonie pochodzącym z pozostałych obiektów udział bulw z objawami nie przekroczył 0,5% lub był równy 0 (tab. 2).

Na podstawie oceny preparatów mikroskopowych wykonanych metodą IF, nie stwierdzono obecności komórek bakterii *Cms* w bulwach potomnych pochodzących z kombinacji kontrolnych. Wykazano natomiast, że większość bulw pochodzących z roślin wyrosłych z sadzeniaków zakażonych zawiesiną bakteryjną o gęstości 10^6 jtk/ml lub 10^8 jtk/ml została porażona latentnie przez *Cms*. Średni procentowy udział prób z wykrytą obecnością komórek *Cms* dla obiektów nienawadnianych wynosił 76,5%, zaś dla obiektów nawadnianych 89,2% (tab. 3).

Tabela 3

Porażenie przez *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (*Cms*) bulw potomnych ziemniaka, uprawianych w różnych kombinacjach, na podstawie wyników testu IF
Evaluation of *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (*Cms*) infection of progeny tubers of potatoes grown in different experimental combinations, on the basis of IF test

Kombinacja Combination	Obiekt bez nawadniania Non-irrigated object		Obiekt z nawadnianiem Irrigated object	
Gęstość zawiesiny <i>Cms</i> użytej do zakażenia sadzeniaków Concentration of <i>Cms</i> suspension used to inoculate seed	10^6 jtk/ml 10^6 cfu/ml	10^8 jtk/ml 10^8 cfu/ml	10^6 jtk/ml 10^6 cfu/ml	10^8 jtk/ml 10^8 cfu/ml
Procent porażonych prób Percentage of infected samples	69,6	83,3	82,6	95,8
	76,5		89,2	

Obserwowano zmienne nasilenie porażenia bezobjawowego bulw w poszczególnych kombinacjach. Najsilniej uległy mu bulwy na obiekcie nawadnianym, pochodzące od sadzeniaków zakażonych zawiesiną bakteryjną o gęstości 10^8 jtk/ml. Ogólny stopień porażenia bulw potomnych osiągnął poziom 40,6%, zaś średni stopień porażenia — 3,3. Najsłabsze porażenie latentne odnotowano w bulwach z kombinacji nienawadnianej i niższej gęstości zawiesiny *Cms* — 10^6 jtk/ml. Ogólny stopień porażenia bulw potomnych w tym przypadku wyniósł 20,1%, natomiast średni stopień porażenia — 1,6 (tab. 4).

Tabela 4

Stopień porażenia przez *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (*Cms*) bulw potomnych ziemniaka pochodzących z obiektów bez nawadniania i z nawadnianiem o zróżnicowanym stężeniu zawiesiny *Cms* użytej do zakażenia sadzeniaków, liczony wg 8-stopniowej skali na podstawie testu IF
The degree of progeny tubers infection by *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (*Cms*), derived from non - irrigated and irrigated objects inoculated with suspensions of *Cms* in different concentrations, in the 8-degree scale of IF test

Kombinacja Combination	Obiekt bez nawadniania Non-irrigated object		Obiekt z nawadnianiem Irrigated object	
Gęstość zawiesiny <i>Cms</i> użytej do zakażenia sadzeniaków Concentration of <i>Cms</i> suspension used to inoculate seed	10^6 jtk/ml 10^6 cfu/ml	10^8 jtk/ml 10^8 cfu/ml	10^6 jtk/ml 10^6 cfu/ml	10^8 jtk/ml 10^8 cfu/ml
Ogólny stopień porażenia bulw potomnych (%) General degree of progeny tubers infection (%)	20,1%	32,8%	28,3%	40,6%
Średni stopień porażenia bulw potomnych Mean degree of progeny tubers infection	1,6	2,6	2,3	3,3

Zastosowane w doświadczeniu nawadnianie nie miało istotnego wpływu na stopień porażenia bulw przez bakterie *Cms*. Stwierdzono natomiast istotne zróżnicowanie stopnia porażenia bulw potomnych zależnie od poziomu stężenia zawiesiny bakteryjnej użytej do zakażenia sadzeniaków. Porażenie bakteriozą pierścieniową bulw potomnych zebranych z roślin wyrosłych z bulw infekowanych zawiesiną bakteryjną o gęstości 10^8 jtk/ml było wyższe zarówno na obiekcie nawadnianym i nienawadnianym (tab. 5).

Tabela 5

Średni stopień porażenia bulw potomnych ziemniaka przez *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (*Cms*) w zależności od obiektów na których były uprawiane oraz stężenia zawiesiny *Cms* użytej do zakażenia sadzeniaków, liczony wg skali 0–8 na podstawie testu IF
Mean degree of progeny tubers infection by *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (*Cms*) depending on the objects in which the potatoes were grown and the concentration of *Cms* suspensions used to inoculate seed in the 8 -degree scale of IF test

Kombinacja Combination	Obiekt bez nawadniania Non-irrigated object	Obiekt z nawadnianiem Irrigated object	10^6 jtk/ml 10^6 cfu/ml	10^8 jtk/ml 10^8 cfu/ml
Średni stopień porażenia bulw potomnych Mean degree of progeny tubers infection	2,17	2,77	1,93	2,99
NIR $p=0,05$ LSD $p=0,05$	nieistotne not significant		0,79	

DYSKUSJA

Nasilenie objawów bakteriozy pierścieniowej ziemniaka jest uzależnione głównie od warunków otoczenia i stężenia bakterii wewnątrz rośliny. W literaturze dominują prace opisujące wpływ warunków klimatycznych na występowanie objawów jedynie u roślin ziemniaka w czasie okresu wegetacji. Donoszą one, że utrzymująca się susza i temperatura optymalna dla wzrostu *Cms* ($21\text{--}23^\circ\text{C}$), wpływają stymulująco na wystąpienie objawów porażenia na roślinach ziemniaka (EPPO/CABI 1997; Pastuszevska, 2000; Van der Wolf i in., 2005). Inną zależność uzyskał Dykstra (1941), otrzymując na polu nawadnianym nawet trzykrotnie więcej porażonych przez *Cms* roślin niż na polu nienawadnianym. Przypuszczano wówczas, że nawadnianie może wpływać na szybsze przemieszczanie się *Cms* w systemie naczyniowym rośliny, ale nie zostało to potwierdzone w kolejnych badaniach (Van der Wolf i in., 2005). Uzyskany w badaniach własnych ogólny niski udział bulw z objawami chorobowymi, może wynikać, jak w przypadku objawów na roślinach w polu, z niesprzyjających warunków pogodowych okresu wegetacji — zbyt wilgotno i chłodno. Wyniki można też spróbować odnieść do stwierdzenia, że warunki bardziej suche — obiekt bez nawadniania i wysoka liczebność bakterii wewnątrz rośliny ziemniaka — 10^8 jtk/ml stymulują rozwój objawów bakteriozy pierścieniowej.

W przeprowadzonym doświadczeniu udowodniono także istotną statystycznie różnicę w stopniu porażenia bakteriozą pierścieniową bulw potomnych w zależności od gęstości zawiesiny bakteryjnej użytej do infekowania sadzeniaków. Przy wyższej gęstości komórek *Cms* w zawieszynie, którą infekowano sadzeniaki, uzyskano porażone w większym stopniu bulwy potomne.

W dostępnym piśmiennictwie brak jest bezpośrednich danych opisujących zależność między warunkami termiczno-wilgotnościowymi na plantacji ziemniaka a porażeniem przez *Cms* bulw potomnych. Wyniki doświadczenia wykazują, iż na glebie o podwyższonej wilgotności, uzyskanej przez zastosowanie nawadniania kroplującego, stwierdzono 12% więcej prób bulw z wykrytą za pomocą testu IF obecnością komórek *Cms*. Odpowiadałoby to stwierdzeniu Gawińskiej-Urabanowicz (2009), że warunkami sprzyjającymi rozwojowi choroby jest wysoka wilgotność gleby. Nawadnianie nie miało jednak istotnego wpływu na stopień porażenia bulw.

Wykazany w powyższym doświadczeniu ogólnie niski udział bulw potomnych ziemniaka z objawami bakteriozy pierścieniowej i jednocześnie wysoki udział w plonie bulw porażonych latentnie jest zjawiskiem często notowanym w literaturze (Golenia i Pajewska, 1978; Manzer i in., 1987; De Boer i in., 1992 b; De Boer i Mc Cann, 1990; Kawchuk i in., 1998; Pastuszewska i Junosza Kisieleska, 2002, 2004; Pastuszewska i in., 2004, 2010). Dla przykładu, De Boer i Mc Cann (1990) w próbach, w których testem IF wykrywali liczną populację bakterii *Cms*, stwierdzali jedynie 9% bulw z objawami.

Przedstawione w pracy wyniki mają charakter komunikatu i wymagają potwierdzenia w kolejnych badaniach.

WNIOSKI

1. System uprawy i poziom stężenia bakterii *Cms* w tkance roślin ziemniaka miał znaczenie dla wystąpienia objawów bakteriozy pierścieniowej w bulwach.
2. Stwierdzono ponad 12% więcej prób z wykrytą obecnością komórek *Cms* za pomocą testu IF pochodzących z obiektów nawadnianych w porównaniu z próbami pochodzącymi z obiektów nienawadnianych.
3. Nawadnianie nie miało istotnego wpływu na stopień porażenia bulw przez bakterie *Cms*.
4. Porażenie bakteriozą pierścieniową bulw potomnych zebranych z roślin wyrosłych z bulw infekowanych zawiesiną bakteryjną o liczebności 10^8 jtk/ml było istotnie wyższe niż porażenie bulw potomnych zebranych z roślin wyrosłych z bulw infekowanych zawiesiną bakteryjną o liczebności 10^6 jtk/ml.

LITERATURA

- De Boer S. H., Van Vaerenbergh J., Stead D. E., Janse J. D., Mc Kenzie A. R. 1992 a. A comparative study in five laboratories on detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* in potato stems and tubers. *Potato Research* 35: 217 — 226.
- De Boer S.H., Janse J.D., Stead D.E., Van Vaerenbergh J., Mc Kenzie A.R. 1992 b. Detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* in potato stems and tubers grown from seed pieces with various levels of *inoculum*. *Potato Research* 35: 202 — 216.
- De Boer S.H., Mc Cann M. 1990. Detection of *Corynebacterium sepedonicum* in potato cultivars with different propensities to express ring rot symptoms. *Am. Potato J.* 57: 685 — 694.
- De Boer S.H., McNaughton M.E., 1986. Evaluation of immunofluorescence with monoclonal antibodies for detecting latent bacterial ring rot infection. *Am. Potato J.* 63: 533 — 542.
- Dykstra T.P. 1941. Result of experiments in control of bacterial ring rot of potatoes in 1940. *Am. Potato J.* 18: 17: 27 — 55.

- Dyrektywa Komisji 2006/56/WE z dnia 12 czerwca 2006 r. zmieniająca załączniki do dyrektywy Rady 93/85/EWG w sprawie zwalczania bakteriozy pierścieniowej ziemniaka. Dziennik Urzędowy Unii Europejskiej L.182/ PL/1-43.
- EPPO/CABI 1997. Quarantine Pests for Europe. Second Edition: 986 — 990.
- Gawińska-Urbanowicz H. 2009. Bakterie czynią szkody. Wiadomości Rolnicze Polska. Nr 05 (57): 13.
- Golenia A., Pajewska M. 1978. Badania nad rozprzestrzenianiem bakteriozy pierścieniowej ziemniaka (*Corynebacterium sepedonicum* (Spieck. et Kotth.) skapt. (et Burkh.)) z sadzeniaków na rośliny i bulwy potomne oraz z roślin porażonych na zdrowe na polu. Roczniki Nauk Rolniczych. Seria E, T. 7, Z. 2: 37 — 47.
- Kawchuk L. M., Lynch D.R., Kozub G. A., Nelson G. A., Kulcsar F., Fujimoto D. K. 1998. Multi-year evaluation of *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* disease symptoms in cultivated potato genotypes. Am. J. Potato Res. 75: 235 — 243.
- Manzer F.E., Gudmestad N.C., Nelson G. A. 1987. Factors affecting infection disease development and symptom expression of bacterial ring rot. Am. Potato J. 64: 641 — 676.
- Nelson G.A., Lynch D. R., Kozub G. C. 1992. Ring rot symptom development on potato cultivars and lines in southern Alberta. Potato Research 35: 133 — 142.
- Pastuszewska T. 2000. Bakterioza pierścieniowa ziemniaka (*Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*) — Światowy problem w uprawie ziemniaka. Materiały Konf. „Bakteryjne choroby roślin”. Skierniewice 12 grudnia 2000: 7 — 18.
- Pastuszewska T., Junosza Kisielewska I. 2002. Podatność wybranych odmian ziemniaka na bakteriozę pierścieniową (*Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*). Prog. Plant Protection/Post. Ochr. Roślin 42 (2): 920 — 923.
- Pastuszewska T., Junosza Kisielewska I. 2004. Reakcja wybranych odmian ziemniaka na inokulację bakteriami *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*. Prog. Plant Protection/Post. Ochr. Roślin 44 (2): 1014 — 1016.
- Pastuszewska T., Junosza Kisielewska I., Grzech W., Brzozowski S. 2004. Rozwój bakteriozy pierścieniowej ziemniaka w rozmnożeniach wegetatywnych roślin. Biul. IHAR 233: 277 — 287.
- Pastuszewska T., Gryń G., Franke K. 2010. Podatność wybranych odmian ziemniaka na porażenie przez *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*. Prog. Plant Protection/Post. Ochr. Roślin 50 (1): 245 — 248.
- Slack S.A. Biology and ecology of *Corynebacterium sepedonicum*. Am. Potato J. 64: 665 — 669.
- Townsend G., Heuberger J. 1943. Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments. Pl. Dis. Rep. 27: 340 — 343.
- Westra A. A. G., Slack S. A., Drennan J. L. 1994. Comparison of some diagnostic assays for bacterial ring rot of potato: A case study. Am. Potato J. 9: 557 — 565.
- Van der Wolf J.M., Elphinstone J.G., Stead D.E., Metzler M., Müller P., Hukkanen A., Karjalainen R. 2005. Epidemiology of *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* in relation to control of bacterial ring rot. Plant Research International B. V., Wageningen: 3 — 21.

ZBIGNIEW LAUDAŃSKI¹**DARIUSZ R. MAŃKOWSKI**²**MAŁGORZATA FLASZKA**³¹ Zakład Biometrii, Wydział Zastosowań Informatyki i Matematyki, SGGW Warszawa² Pracownia Ekonomiki Nasiennictwa i Hodowli Roślin, Zakład Nasiennictwa i Nasionoznawstwa IHAR — PIB Radzików³ Katedra Doświadczalnictwa i Bioinformatyki, Wydział Rolnictwa i Biologii, SGGW Warszawa

Eksploracyjna analiza czynnikowa w badaniach struktury zespołu zmiennych obserwowanych

Exploratory factor analysis in studying the structure of multivariate observations

W pracy przedstawiono podstawy i zastosowania praktyczne w naukach rolniczych eksploracyjnej analizy czynnikowej, EFA. Opisano zagadnienia numeryczne związane z prowadzeniem niezbędnych obliczeń. Na przykładach przedstawiono sposób interpretacji wyników EFA oraz przykłady jej wykorzystania w badaniach rolniczych.

Słowa kluczowe: analiza czynnikowa EFA, analiza składowych głównych PCA, korelacje

The paper presents the basic principles and practical applications in agricultural sciences of exploratory factor analysis, EFA. We described the numerical issues related to conducting the necessary calculations. Presented examples demonstrated how to interpret the results of EFA and examples of its use in agricultural research.

Key words: factor analysis EFA, principal component analysis PCA, correlations

WSTĘP

Nauki empiryczne opierają się na doświadczeniach, w których badane są wpływy różnych czynników istotnych dla badanego problemu — zjawiska lub procesu. Często w wielu dziedzinach życia czynniki istotne dla danego problemu musimy dopiero zidentyfikować. Są one określane jako czynniki wspólne lub latentne (ang. common factors, latent factors). Do tego celu przydatne są metody specjalnego typu, metody badające bezpośrednie związki (korelacje) między wieloma zmiennymi (cechami) obserwowalnymi i na podstawie tych związków pozwalające na identyfikację czynników wspólnych.

Wiadomym jest, że istnienie korelacji między dwoma pomiarami (cechami) nie daje jeszcze bezpośrednio żadnych informacji o powiązaniach przyczynowo-skutkowych. Podając jednak wzajemne korelacje między wieloma zmiennymi, możemy snuć pewne przypuszczenia o układzie czynników przyczynowych. Otóż operując korelacjami między

wieloma cechami możemy oczekiwać pewnej nadmiarowości, tzn. pokrywania się informacji zawartych w poszczególnych cechach, gdyż jedne korelacje wyznaczają wartości innych, a zawartą w tych korelacjach informację można wyrazić przy użyciu mniejszej liczby zmiennych, tzw. hipotetycznych wpływów przyczynowych — inaczej czynników. Przykładowo, jeżeli stwierdzamy, że można odtworzyć korelacje między piętnastoma cechami przy pomocy trzech czynników wspólnych (latentnych), to mamy prawo przypuszczać, że są one odpowiedzialne za całość, bądź zdecydowaną większość zmienności i współzmienności badanego zespołu cech. Tak określone postępowanie nosi nazwę eksploracyjnej analizy czynnikowej (EFA, ang. Exploratory Factor Analysis).

W przygotowaniu niniejszego opracowania skorzystano z następujących publikacji: Thurstone (1931, 1947), Kaiser (1958), Rao (1964), Gower (1966), Caliński i in. (1975), Cureton i Mulaik (1975), Gnanadesikan (1977), Szczotka (1977), Kim i Mueller (1978), Mardia i in. (1979), Seber (1984), Krzanowski (1988), Wójcik i Laudański (1989), Morrison (1990), Everitt i Dunn (1992), Hatcher (1994), Khatre i Naik (1999, 2000), Krzyśko (2000, 2009), Timm (2002), Sieczko i in. (2004, 2008), Armitage i Colton (2005), O'Rourke i in. (2005), Mądry (2007), Ukalska i in. (2007, 2008), Mańkowski i in. (2009), Walesiak i Gatnar (2009), Mądry i in. (2010).

Prezentowane w pracy przykłady obliczeniowe analizowano z wykorzystaniem Systemu SAS 9.2 (SAS Institute Inc. 2009) [Przykład 1] oraz pakietu SPSS (IBM SPSS Statistics) [Przykład 2].

ANALIZA SKŁADOWYCH GŁÓWNYCH

Analiza składowych głównych jest to metoda obliczeniowa analizowania struktury zbioru danych prezentowanych przez wektory zmiennych (cech) na podstawie współzależności między nimi. Cała informacja potrzebna do wyznaczenia składowych głównych zawiera się w macierzy kowariancji (**C**) analizowanych zmiennych. Nie mniej jednak, często analizę przeprowadzamy na macierzy kowariancji zmiennych standaryzowanych. Przy czym standaryzacja zmiennych realizowana jest przez standaryzację obserwacji: odjęcie odpowiedniej wartości średniej i podzielenie przez odchylenie standardowe. Praktycznie, jest to macierz korelacji analizowanych zmiennych (**R**). Składowe główne otrzymane dla macierzy **C** i dla macierzy **R** nie muszą być takie same, a przejście od jednych składowych do drugich w prosty sposób najczęściej nie jest możliwe. Własności składowych głównych konstruowanych na podstawie macierzy korelacji są o wiele bardziej kompleksowe niż składowych wyznaczanych z macierzy kowariancji. Jednakże niektórzy autorzy (Gnanadesikan, 1977; Mardia i in., 1979, Seber, 1984; Krzyśko, 2009) wskazują, że standaryzacja zmiennych polegająca na użyciu macierzy korelacji **R** w miejsce macierzy kowariancji **C** może powodować pewne komplikacje w interpretacji, wnioskowaniu oraz w określaniu rozkładu prawdopodobieństwa uzyskiwanych składowych głównych. Mardia i in. (1979) zaznaczają jednak, że powyższe komplikacje nie wpływają na jakość analizy czynnikowej metodą składowych głównych.

Celem analizy składowych głównych jest określenie kolejnych składowych głównych. Pierwsza składowa powstaje przez znalezienie takiego wektora $\mathbf{a}_1 = [a_{11}, a_{21}, \dots, a_{p1}]$ o długości jednostkowej ($\sum_{i=1}^p a_{i1}^2 = 1$), by kombinacja liniowa postaci:

$$\mathbf{Z}_1 = a_{11}\mathbf{X}_1 + a_{21}\mathbf{X}_2 + \dots + a_{p1}\mathbf{X}_p \quad 1$$

miała największą wariancję wśród wszystkich takich kombinacji liniowych, gdzie $\mathbf{X}_i$ ($i = 1, 2, \dots, p$) to wektory obserwowanych wartości zmiennych losowych.

Druga składowa główna powstaje przez znalezienie takiego wektora jednostkowego $\mathbf{a}_2 = [a_{12}, a_{22}, \dots, a_{p2}]$, który jest ortogonalny do wektora pierwszej składowej $\mathbf{a}_1 = [a_{11}, a_{21}, \dots, a_{p1}]$, to znaczy spełnia równość $\sum_{i=1}^p a_{i1} \cdot a_{i2} = 0$, a utworzona przez niego kombinacja

$$\mathbf{Z}_2 = a_{12}\mathbf{X}_1 + a_{22}\mathbf{X}_2 + \dots + a_{p2}\mathbf{X}_p \quad 2$$

daje maksymalną wariancję wśród wszystkich takich kombinacji liniowych.

Warunek ortogonalności tych wektorów zapewnia nam niezależność ocen, czyli sumowanie się wariancji kolejnych składowych głównych do całkowitej wariancji układu. Ogólnie, kolejna składowa główna odpowiadająca kombinacji liniowej o największej wariancji wśród takich kombinacji jest ortogonalna z wcześniejszymi składowymi głównymi, tzn. pierwszą, drugą, itd.

Wektor $\mathbf{a}_j = [a_{1j}, a_{2j}, \dots, a_{pj}]$ dla $j = 1, 2, \dots, p$ nazywamy j -tym wektorem ładunków lub współczynników j -tej składowej.

Matematycznie rozwiązanie niniejszego problemu uzyskujemy przez znalezienie wartości własnych i wektorów własnych macierzy korelacji. Wektor $\mathbf{a}_1 = [a_{11}, a_{21}, \dots, a_{p1}]$, który daje maksymalną wariancję przy dodatkowym warunku $\mathbf{a}'_1 \mathbf{a}_1 = \sum_{i=1}^p a_{i1}^2 = 1$ jest wektorem własnym odpowiadającym największej wartości własnej macierzy korelacji $\mathbf{R}$. Wariancja nowej zmiennej

$$\mathbf{Z}_1 = a_{11}\mathbf{X}_1 + a_{21}\mathbf{X}_2 + \dots + a_{p1}\mathbf{X}_p$$

jest zatem równa największej wartości własnej analizowanej macierzy.

Druga i kolejne składowe główne są kolejnymi wektorami własnymi analizowanej macierzy, podobnie jak kolejne wartości własne są wariancjami tych składowych.

ANALIZA CZYNNIKOWA

Podstawą zastosowania analizy czynnikowej jest przypuszczenie, że jeżeli mamy dużą liczbę powiązanych wewnętrznie wskaźników (cech), to związki między nimi mogą wynikać z istnienia jednego lub wielu czynników wspólnych, które są powiązane z poszczególnymi cechami analizowanego zespołu. Możemy stwierdzić, że u podstaw analizy czynnikowej leży założenie, że w zespole p cech $\{\mathbf{X}_i; i = 1, 2, \dots, p\}$ są ukryte czynniki, a w najprostszym przypadku jeden, będące źródłem wspólnej informacji tkwiącej w nich. Celem eksploracyjnej analizy czynnikowej jest wykrycie tych wspólnych czynników (nowego zbioru zmiennych), odpowiedzialnych za zachowanie się poszczególnych cech, czy też poszczególnych grup cech. Tak więc analiza czynnikowa

służy także do określania (poszukiwania) grup cech podobnie zachowujących się według ustalonych ocen związków między cechami, na przykład współczynników korelacji. Można założyć, że w poszukiwaniu wspólnych czynników najczęściej wykorzystujemy macierz korelacji ($\mathbf{R}$) między poszczególnymi cechami analizowanego zespołu. Najbardziej upowszechnioną metodą wyznaczania czynników jest metoda składowych głównych, polegająca na przypisaniu czynnika $\mathbf{Z}_j$ wektorowi własnemu dla j -tej wartości własnej macierzy korelacji. Często udaje się „znalezionym” czynnikom nadawać sensowną interpretację merytoryczną. Należy jednak pamiętać o tym, że są to umowne wielkości pozwalające na opis matematyczny badanego zbioru danych. Należy nadmienić, że do najpopularniejszych metod wyodrębniania czynników głównych, poza analizą składowych głównych, należą między innymi metoda osi głównych oraz metoda największej wiarygodności.

Zakładamy więc, że między czynnikami $\mathbf{Z}_j$ ($j = 1, 2, \dots, q < p$) i zmiennymi $\mathbf{X}_i$ zachodzą związki liniowe dla $i = 1, 2, \dots, p$:

$$\mathbf{X}_i = a_{i1}\mathbf{Z}_1 + a_{i2}\mathbf{Z}_2 + \dots + a_{iq}\mathbf{Z}_q + b_i\mathbf{U}_i = \sum_{j=1}^q a_{ij}\mathbf{Z}_j + b_i\mathbf{U}_i, \quad 3$$

a zapisane w notacji macierzowej:

$$\mathbf{X}_{p \times 1} = \mathbf{A}_{p \times q}\mathbf{Z}_{q \times 1} + \mathbf{B}_{p \times p}\mathbf{U}_{p \times 1}, \text{ gdzie } \mathbf{B} = \text{diag}(b_1, b_2, \dots, b_p). \quad 4$$

Współczynniki a_{ij} noszą nazwę ładunków czynnikowych czynnika $\mathbf{Z}_j$ (tzw. czynnik wspólny) na cechę $\mathbf{X}_i$ (nasilenie czynnika j w zmiennej i). Zmienne $\mathbf{U}_i$ są składnikami (czynnikami) specyficznymi w każdej zmiennej $\mathbf{X}_i$. Czynniki $\mathbf{Z}_j$ i $\mathbf{U}_i$, traktowane jako zmienne losowe, są wewnątrznie i między sobą nieskorelowane. Oznacza to, że $\text{kor}(\mathbf{Z}_j; \mathbf{Z}_m) = 0$ i $\text{kor}(\mathbf{U}_j; \mathbf{U}_m) = 0$ dla $j \neq m$ oraz $\text{kor}(\mathbf{Z}_j; \mathbf{U}_m) = 0$ dla $j = 1, 2, \dots, q$ i $m = 1, 2, \dots, p$. Przy tych założeniach macierz korelacji $\mathbf{R}$ między p zmiennymi można przedstawić w postaci

$$\mathbf{R} = \mathbf{A}_{p \times q}\mathbf{A}_{q \times p}^T + \mathbf{B}_{p \times p}^2. \quad 5$$

Jest to podstawowe równanie analizy czynnikowej.

Wielkość $h_i^2 = \sum_{j=1}^q a_{ij}^2$ nazywamy zasobem wspólnej zmienności cechy $\mathbf{X}_i$ determinowanej czynnikami $\mathbf{Z}_j$ (część wariancji zmiennej $\mathbf{X}_i$, odpowiadająca czynnikowi $\mathbf{Z}_j$). Wielkość $b_i^2 = 1 - h_i^2$, odpowiadająca czynnikowi specyficznemu $\mathbf{U}_i$, nazywamy wariancją specyficzną. Suma zasobów $h_i^2 = \sum_{j=1}^q a_{ij}^2$ daje łączną determinację zmienności wszystkich $\mathbf{X}_i$, $i = 1, 2, \dots, p$, przez czynniki $\mathbf{Z}_j$, $j = 1, 2, \dots, q$.

Ponieważ suma wariancji zmiennych $\mathbf{X}_i$ jest równa p (suma elementów głównej przekątnej macierzy korelacji), więc współczynnik: jest zespołowym współczynnikiem determinacji.

$$R_{X \cdot Z}^2 = \frac{1}{p} \sum_{i=1}^p h_i^2 = \frac{1}{p} \sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^q a_{ij}^2, \quad 6$$

Suma kwadratów ładunków może być rozdzielona na części i przypisana poszczególnym uzyskanym czynnikom $\mathbf{Z}_j$, tzn.

$$\lambda_j = \sum_{i=1}^p a_{ij}^2 \quad (j = 1, 2, \dots, q), \quad 7$$

Wielkość ta określa wagę j -tego czynnika wspólnego w determinacji zmienności zbioru $\{\mathbf{X}_i\}$.

ORTOGONALNE ROTACJE CZYNNIKÓW

Niech $\mathbf{R}$ oznacza macierz korelacji zmiennych $\{\mathbf{X}_i\}$. Oznaczając przez $\mathbf{A}$ macierz ładunków o elementach a_{ij} oraz p wierszach i q kolumnach, możemy zapisać macierz korelacji (analogicznie jak w (5)):

$$\mathbf{R} = \mathbf{A} \cdot \mathbf{A}^T + \mathbf{B}^2, \quad 8$$

gdzie: $\mathbf{B}^2 = \text{diag}(b_1^2, b_2^2, \dots, b_p^2)$.

Otóż, jeżeli macierz $\mathbf{D}$ jest macierzą ortogonalną (iloczyn $\mathbf{D} \cdot \mathbf{D}^T$ jest macierzą jednostkową), to transformacja czynników $\mathbf{Z}^T = \mathbf{Z} \cdot \mathbf{D}$ nie zmienia struktury macierzy korelacji $\mathbf{R}$, ponieważ:

$$(\mathbf{A} \cdot \mathbf{D})(\mathbf{A} \cdot \mathbf{D})^T = \mathbf{A} \cdot \mathbf{D} \cdot \mathbf{D}^T \cdot \mathbf{A}^T = \mathbf{A} \cdot \mathbf{A}^T. \quad 9$$

Transformacji, danej macierzą $\mathbf{D}$, geometrycznie odpowiada obrót kierunków głównych określających składowe główne. Można dokonać obrotu tak, aby ładunki przy cechach maksymalnie się różnicowały, przez co otrzymuje się ich prostszą interpretację.

Stąd warunek by *warians* kwadratów ładunków był maksymalny:

$$\text{vara} = \sum_{j=1}^q \left[\frac{1}{p} \sum_{i=1}^p (a_{ij}^2 - \bar{a}_j^2)^2 \right] = \max!, \quad 10$$

gdzie: $\bar{a}_j^2 = \frac{1}{p} \sum_{i=1}^p a_{ij}^2$, prowadzi do metody *varimax* (maximum of the variance), sformułowanej przez Kaisera (1958) i dającej maksymalne zróżnicowanie ładunków w ramach czynnika.

Metoda *varimax* skupia się na prostej interpretacji kolumn macierzy czynników, natomiast metoda, która skupia się na prostej interpretacji wierszy tejże macierzy znana jest pod nazwą metody *quartimax*.

PRZYKŁAD 1

W swojej pracy o liniowych funkcjach dyskryminacyjnych Fisher (1936), jako przykład zastosowania uzyskanych wyników, badał trzy populacje (gatunki) kwiatów irysa — *setosa*, *versicolor* i *virginica*, każda po 50 obserwacji (kwiatów).

Dla trzech opisanych w doświadczeniu gatunków irysa wykonano odrębne analizy EFA metodą składowych głównych z rotacją varimax.

W tabeli 1 przedstawiono wartości własne wyznaczonych czynników głównych oraz ich udział w objaśnieniu obserwowanej zmienności. Dla *I. setosa*: pierwszy czynnik główny objaśniał ponad 51% obserwowanej zmienności, czynnik drugi — 25,6%, trzeci — 16,7%, a czwarty — 6,3%. Dla *I. versicolor*: pierwszy czynnik główny objaśniał 73,2% obserwowanej zmienności, czynnik drugi — 13,7%, trzeci — 9,9%, a czwarty — 3,3%. Dla *I. virginica*: pierwszy czynnik główny objaśniał 61,4% obserwowanej zmienności, czynnik drugi — 24,2%, trzeci — 11,3%, a czwarty — 3,2%.

Tabela 1

Wartości własne czynników wspólnych i ich udział w objaśnianiu obserwowanej zmienności
Common factors eigenvalues and their participation in explanation of observed variability

Nr czynnika Factor number	<i>I. setosa</i>			<i>I. versicolor</i>			<i>I. virginica</i>		
	wartość własna eigenvalue	% objaśnianej zmienności % of explained variation	skumulowany % objaśnianej zmienności cumulated % of explained variation	wartość własna eigenvalue	% objaśnianej zmienności % of explained variation	skumulowany % objaśnianej zmienności cumulated % of explained variation	wartość własna eigenvalue	% objaśnianej zmienności % of explained variation	skumulowany % objaśnianej zmienności cumulated % of explained variation
1	2,0585	0,5146	0,5146	2,9263	0,7316	0,7316	2,4547	0,6137	0,6137
2	1,0222	0,2555	0,7702	0,5463	0,1366	0,8682	0,9647	0,2412	0,8549
3	0,6678	0,1670	0,9371	0,3950	0,0987	0,9669	0,4523	0,1131	0,9679
4	0,2515	0,0629	1,0000	0,1324	0,0331	1,0000	0,1283	0,0321	1,0000

Na rysunku 1 przedstawiono wykresy osypiska pozwalające na ocenę liczby właściwych, niosących największy ładunek informacyjny, czynników latentnych wystarczających do opisu obserwowanej zmienności cech rzeczywistych. W dalszej analizie skoncentrowano się na dwóch pierwszych czynnikach głównych, które łącznie odpowiadały za 77% zmienności *I. setosa*, 86,8% zmienności *I. versicolor* oraz 85,5% zmienności *I. virginica*.

W tabeli 2 przedstawiono wartości ładunków czynnikowych dla dwóch pierwszych czynników głównych trzech badanych gatunków irysa przed i po rotacji. Jak widać rotacja pozwoliła na wyraźniejsze zróżnicowanie struktury cech budujących wyznaczone czynniki główne. Przyjmując za wartość graniczną 0,5 można stwierdzić, iż dla gatunku *I. setosa* pierwszy czynnik główny budowały przede wszystkim długość działki kielicha i szerokość działki kielicha; drugi czynnik główny — długość płatków i szerokość płatków.

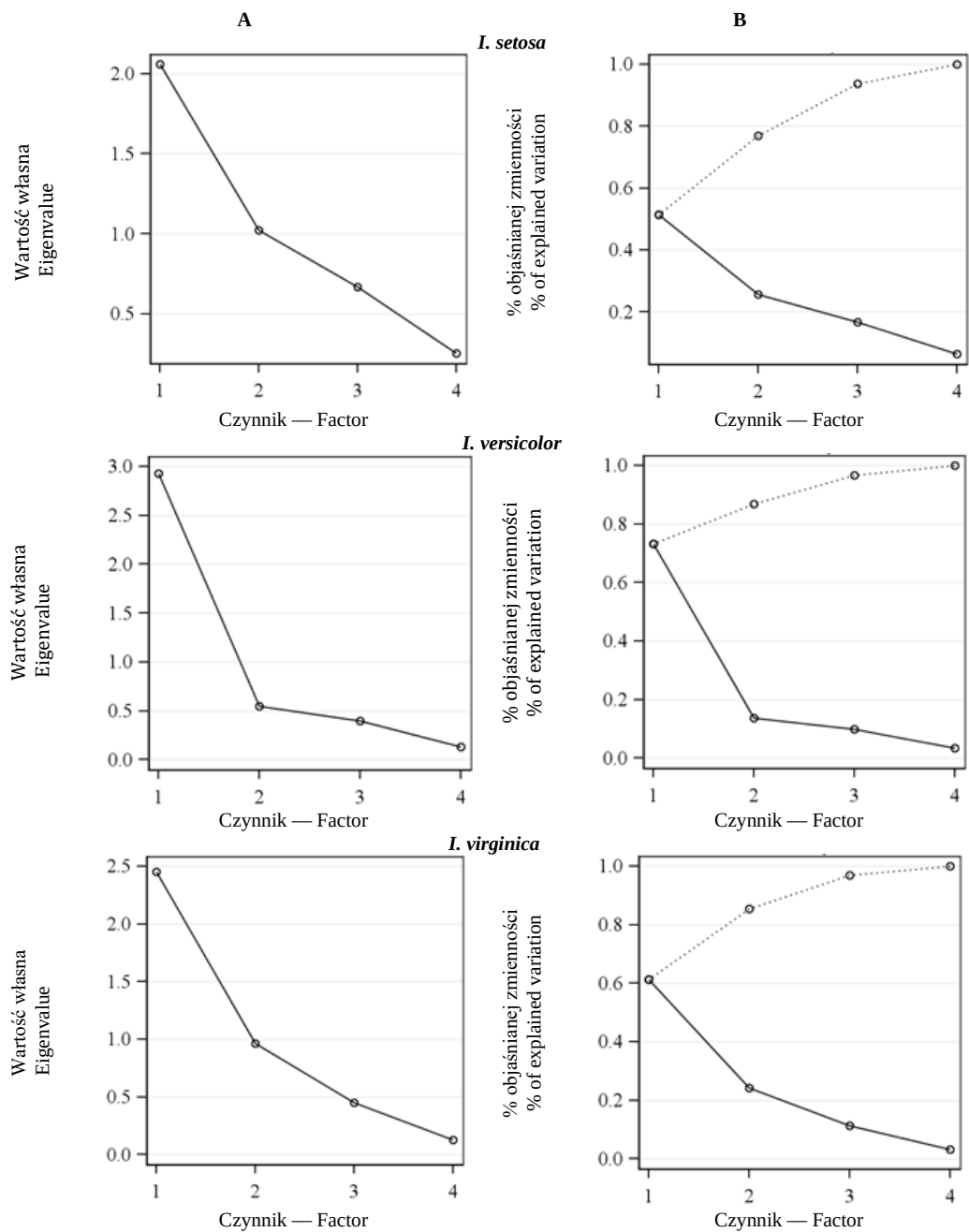
Tabela 2

Ładunki czynnikowe dla badanych gatunków irysa przed i po rotacji
Before and after rotation common factor loadings for studied species of iris

Gatunek Species	Cechy Feature	Ładunki czynnikowe przed rotacją Factor loadings before rotation		Ładunki czynnikowe po rotacji Factor loadings after rotation	
		Czynnik 1 Factor 1	Czynnik 2 Factor 2	Czynnik 1 Factor 1	Czynnik 2 Factor 2
<i>I. steosa</i>	Długość działki kielicha Sepal length	0,86719	-0,33869	0,90797	0,20572
	Szerokość działki kielicha Sepal width	0,82588	-0,44571	0,93376	0,09393
	Długość płatka Petal length	0,53866	0,63389	0,09067	0,82689
	Szerokość płatka Petal width	0,57818	0,55408	0,16814	0,78296
<i>I. versicolor</i>	Długość działki kielicha Sepal length	0,82510	-0,45144	0,90965	0,23899
	Szerokość działki kielicha Sepal width	0,79519	0,49726	0,23602	0,90768
	Długość płatka Petal length	0,91437	-0,22679	0,82014	0,46354
	Szerokość płatka Petal width	0,88156	0,20922	0,49670	0,75777
<i>I. virginica</i>	Długość działki kielicha Sepal length	0,86873	-0,42474	0,94498	0,20521
	Szerokość działki kielicha Sepal width	0,74504	0,43234	0,31664	0,80109
	Długość płatka Petal length	0,86189	-0,42202	0,93793	0,20310
	Szerokość płatka Petal width	0,63411	0,64753	0,09621	0,90118

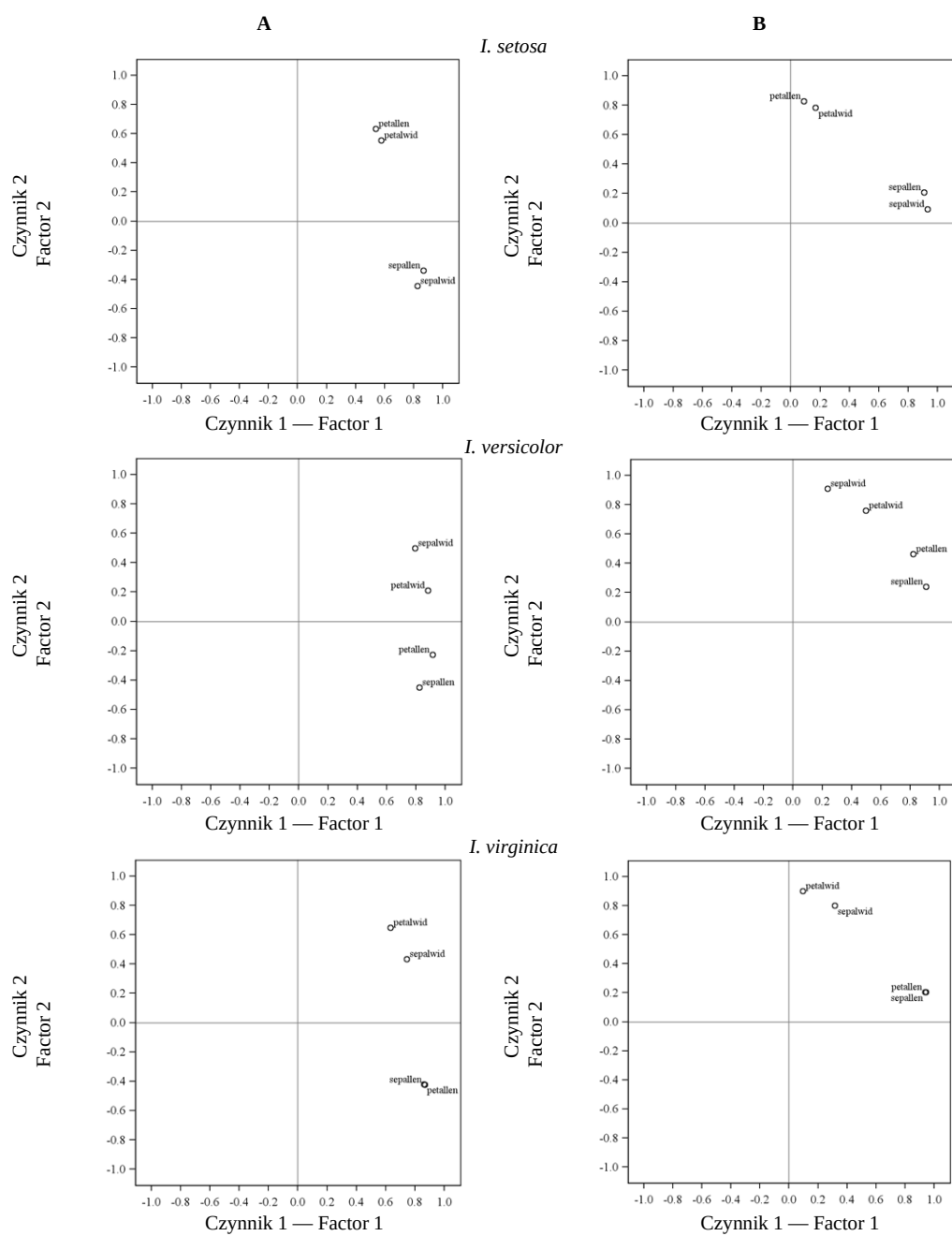
Dla gatunków *I. versicolor* oraz *I. virginica*: pierwszy czynnik główny budowały przede wszystkim długość działki kielicha i długość płatka; a drugi czynnik główny — szerokość działki kielicha i szerokość płatka. Pomimo podobnej konstrukcji wyznaczonych czynników głównych te dwa ostatnie gatunki różnią się strukturą szczegółową (ładunkami) dla omawianych czynników głównych. Różnice to potwierdza również wykres rozmieszczenia cech w układzie dwóch pierwszych czynników głównych (rys. 2). Na rysunku tym można również zauważyć, jakie zmiany w układzie analizowanych cech przyniosła przeprowadzona rotacja.

Podsumowując ten przykład obliczeniowy, można stwierdzić, że analiza czynnikowa pozwoliła na wskazanie różnic w strukturze wielocechowej charakteryzującej trzy badane w pracy Fishera (1936) gatunki irysa. Jest to przesłanką do stwierdzenia, że możliwe jest przeprowadzenie stosownej analizy dyskryminacyjnej pozwalającej z minimalnym błędem na rozdzielenie tych trzech gatunków na podstawie informacji o działkach kielicha i płatkach kwiatów irysa.



Rys. 1. Wykresy osypiska (A) oraz wykresy stopnia objaśnianej zmienności przez wyznaczone czynniki główne (B) dla trzech gatunków irysa uzyskane w analizie EFA

Fig. 1. Obtained in the EFA analysis scree plots (A) and plots of the degree of variability explained by appointed common factors (B) for three tested iris species



Rys. 2. Wykresy rozmieszczenia analizowanych cech w układzie dwóch pierwszych czynników głównych przed (A) i po (B) rotacji
Fig. 2. Plots of distribution of analyzed features in the layout of the first two common factors before (A) and after (B) rotation

PRZYKŁAD 2

W Pracowni Ekonomiki Nasiennictwa i Hodowli Roślin Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — Państwowego Instytutu Badawczego w latach 1986–2003 prowadzono, obejmujące teren całego kraju, badania ankietowe gospodarstw indywidualnych. Zbierano informacje o uprawianych odmianach dziesięciu głównych ziemiopłodów oraz o rodzaju materiału siewnego, charakterystykę pól uprawnych, informacje o stosowanych czynnikach produkcji i agrotechnice. W ramach badań ankietowych, prowadzonych w ciągu 18 lat, zebrano informacje o około 8 500 polach na których uprawiano w tym czasie pszenicę ozimą. Z tej bazy danych odrzucono rekordy dotyczące najmniejszych gospodarstw i najmniejszych pól uprawnych, rekordy zawierające braki danych oraz rekordy dotyczące marginalnie uprawianych odmian pszenicy ozimej, pozostawiając do dalszych analiz około 4 000 rekordów charakteryzujących pola uprawne gospodarstw produkcyjnych. Spośród badanych w ankietach cech do dalszych analiz wybrano cechy będące znaczącymi czynnikami warunkującymi uzyskiwane plony (Laudański i in., 2007 a, 2007 b). Były to: liczba zabiegów środkami ochrony roślin, jakość przedplonu wyrażona w punktach, rodzaj stosowanego materiału siewnego, odczyn gleby, odmiana, jakość gleby wyrażona w punktach waloryzacji rolniczej przestrzeni produkcyjnej, liczba lat od ostatniego użycia obornika, ilość wysiewu, dawka nawożenia NPK w czystych składnikach oraz termin siewu. Wymienione czynniki agrotechniczne miały charakter cech jakościowych oraz ilościowych. Część z nich, (np. odmiany) przyjmowała wartości (poziomy czynnik) o konkretnych nazwach. Cechy te, określane jako nominalne, są ewidentnie jakościowe w tym sensie, że nie mają żadnych związków z cechami ilościowymi. Natomiast czynniki ilościowe, (np. nawożenie mineralne) reprezentowane przez wartości (kategorie) uporządkowane, mają w większym lub mniejszym stopniu związek z cechami ilościowymi. Czynniki te w analizach potraktowano, jako ewidentnie jakościowe poprzez dyskretyzację czynnika ilościowego — wartość cechy stała się kolejnym poziomem czynnika. W ten sposób wszystkie warianty czynników można ocenić odpowiadającą wielkością średniego plonu pszenicy, uzyskanego dla poszczególnych poziomów na podstawie nieobciążonych, ważonych estymatorów efektów czynnika z modelu obserwacji postaci

$$y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \varepsilon_{ijk},$$

gdzie drugi czynnik stanowiły lata badań. To przekształcenie pozwoliło na przyporządkowanie wartości $\mu + \alpha_i$ odpowiednim kategoriom analizowanych czynników.

Tak przygotowane dane poddano eksploracyjnej analizie czynnikowej, w celu wyodrębnienia głównych grup czynników produkcji — makroczynników determinujących uzyskiwane efekty w uprawie pszenicy ozimej w postaci plonu.

W tabeli 3 przedstawiono współczynniki korelacji liniowej Pearsona pomiędzy analizowanymi cechami i plonem pszenicy ozimej. Jak widać wyznaczone współczynniki korelacji nie są duże. Najwyższą wartość współczynnika korelacji odnotowano dla relacji nawożenie NPK — plon ($r = 0,541$).

Tabela 3

Współczynniki korelacji liniowej Pearsona pomiędzy plonem i analizowanymi czynnikami produkcji
Pearson linear correlation coefficient between yield and analyzed production factors

	Plon Yield	Liczba zabiegów pesty- cydami Number of pesticide usage	Wartość przed- plonu Forecrop value	Materiał siewny Seed material	Odczyn gleby Soil pH	Odmia- na Cultivar	Jakość gleby Soil quality	Liczba lat od użycia obornika Number of years since the use of manure	Ilość wysiewu Amount of seeding	Nawo- żenie NPK NPK fertili- zation	Termin siewu Date of sowing
Plon Yield	1	0,374	0,287	0,280	0,184	0,291	0,192	0,167	0,264	0,541	0,217
Liczba zabiegów pestycydami Number of pesticide usage	0,374	1	0,286	0,304	0,072	0,327	0,033	0,208	0,127	0,375	0,149
Wartość przedplonu Forecrop value	0,287	0,286	1	0,194	0,058	0,188	0,084	0,231	0,090	0,260	0,134
Materiał siewny Seed material	0,280	0,304	0,194	1	0,087	0,337	0,049	0,163	0,090	0,265	0,095
Odczyn gleby Soil pH	0,184	0,072	0,058	0,087	1	0,098	0,015	0,028	0,054	0,110	0,100
Odmiana Cultivar	0,291	0,327	0,188	0,337	0,098	1	0,071	0,106	0,081	0,284	0,109
Jakość gleby Soil quality	0,192	0,033	0,084	0,049	0,015	0,071	1	0,051	0,081	0,057	0,023
Liczba lat od użycia obornika Number of years since the use of manure	0,167	0,208	0,231	0,163	0,028	0,106	0,051	1	0,076	0,175	0,114
Ilość wysiewu Amount of seeding	0,264	0,127	0,090	0,090	0,054	0,081	0,081	0,076	1	0,191	0,129
Nawożenie NPK NPK fertilization	0,541	0,375	0,260	0,265	0,110	0,284	0,057	0,175	0,191	1	0,168
Termin siewu Date of sowing	0,217	0,149	0,134	0,095	0,100	0,109	0,023	0,114	0,129	0,168	1

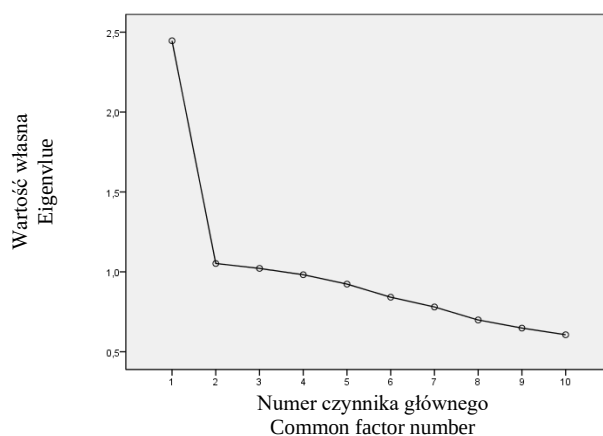
W tabeli 4 przedstawiono wartości własne wyznaczonych czynników głównych oraz ich udział w objaśnieniu obserwowanej zmienności. Wyodrębnienie istotnej liczby czynników głównych odbyło się na podstawie tzw. kryterium wartości własnej, które mówi, iż tylko te czynniki są znaczące, dla których wartości własne są powyżej 1 (kryterium to można stosować tylko i wyłącznie, gdy analizę opieramy na macierzy korelacji). Na podstawie tego kryterium, zwanego również kryterium Kaisera, wskazano cztery znaczące czynniki główne. Odpowiadały one łącznie za ponad 55% obserwowanej zmienności, w tym pierwszy czynnik, po rotacji — 19,5%, drugi — 12,7%, trzeci — 12,6%, a czwarty — 10,3% zmienności obserwowanej w źródłowym zbiorze danych. W praktyce, często można spotkać jeszcze dwa popularne kryteria wyodrębniania znaczącej liczby czynników głównych. Pierwsze to kryterium osypiska — polega na sporządzeniu wykresu osypiska (rys. 3), a następnie z tego wykresu odczytuje się liczbę czynników dla

której krzywa przestaje cechować się gwałtownym spadkiem. Drugie kryterium to tak zwane kryterium stopnia objaśnianej zmienności. Polega ono na tym, że z góry ustala się stopień zmienności jaki ma być objaśniany przez czynniki główne, a następnie wybiera się taką liczbę czynników, by skumulowany procent objaśnianie zmienności nie był mniejszy od założonego poziomu.

Tabela 4

Wartości własne czynników wspólnych i ich udział w objaśnianiu obserwowanej zmienności
Common factors eigenvalues and their participation in explanation of observed variability

Numer czynnika Factor number	Początkowe wartości własne Initial eigenvalues			Wartości własne po wyodrębnieniu Extracted eigenvalues			Wartości własne po rotacji Eigenvalues after rotation		
	ogółem total	% wariacji % of variation	% skumulowany cumulated %	ogółem total	% wariacji % of variation	% skumulowany cumulated %	ogółem total	% wariacji % of variation	% skumulowany cumulated %
1	2,446	24,461	24,461	2,446	24,461	24,461	1,945	19,449	19,449
2	1,052	10,523	34,984	1,052	10,523	34,984	1,272	12,717	32,166
3	1,022	10,217	45,200	1,022	10,217	45,200	1,255	12,552	44,718
4	0,982	9,820	55,021	0,982	9,820	55,021	1,030	10,303	55,021
5	0,923	9,233	64,254						
6	0,841	8,413	72,667						
7	0,780	7,801	80,468						
8	0,699	6,988	87,456						
9	0,648	6,481	93,937						
10	0,606	6,063	100,000						



Rys. 3. Wykresy osypiska dla analizowanych czynników produkcji
Fig. 3. Scree plot for analyzed production factors

Dla wyodrębnionych czterech czynników głównych wyznaczono wartości ładunków czynnikowych (tab. 5). Stosując, podobnie jak to miało miejsce w pierwszym omawianym przykładzie, graniczną wartość 0,5, można zaobserwować, że pierwszy czynnik główny budowały przede wszystkim: odmiana, rodzaj materiału siewnego, liczba zabiegów ochrony roślin pestycydami oraz nawożenie NPK. Wszystkie ładunki czynnikowe dla tych

cech były dodatnie, co można interpretować jako wprost proporcjonalny wpływ tych cech na kształtowanie się wartości czynnika głównego. Z racji, że wszystkie wymienione cechy powiązane są z nakładami finansowymi, które bezpośredni rolnik musi ponieść (np. dobór i zakup nasion konkretnej odmiany, wybór rodzaju materiału siewnego, zakup i użycie pestycydów, zakup i wysiew nawozów mineralnych) pierwszy czynnik główny możemy określić jako **czynnik nakładowy**.

Tabela 5

Ładunki czynnikowe po rotacji dla analizowanych czynników produkcji
After rotation common factor loadings for analyzed production factors

Czynniki produkcji Production factors	Czynnik główny Common factor			
	1	2	3	4
Odmiana Cultivar	0,755	-0,036	-0,005	0,068
Materiał siewny Seed material	0,707	0,074	-0,026	0,020
Liczba zabiegów pestycydami Number of pesticide usage	0,623	0,333	0,121	-0,043
Nawożenie NPK NPK fertilization	0,542	0,250	0,300	0,047
Liczba lat od użycia obornika Number of years since the use of manure	0,107	0,714	0,112	-0,024
Wartość przedplonu Forecrop value	0,321	0,554	0,128	0,072
Termin siewu Date of sowing	0,015	0,231	0,686	-0,115
Ilość wysiewu Amount of seeding	0,012	0,118	0,575	0,359
Odczyn gleby Soil pH	0,273	-0,456	0,565	-0,100
Jakość gleby Soil quality	0,066	0,009	-0,003	0,929

Drugi czynnik główny budowały: liczba lat do ostatniego użycia obornika oraz wartość przedplonu. Cechy te wpływały wprost proporcjonalnie na kształtowanie się drugiego czynnika głównego. Obydwie cechy związane były z wydarzeniami ‘historycznymi’ dotyczącymi pola uprawnego, dlatego też czynnik ten można określić jako **historię pola**.

Trzeci czynnik główny budowany był przede wszystkim przez: termin siewu, ilość wysiewu oraz odczyn gleby. Wszystkie te cechy wykazywały wpływ wprost proporcjonalny na kształtowanie się trzeciego czynnika głównego. Cechy te charakteryzowały siew pszenicy ozimej oraz warunki pola związane z jego właściwym utrzymaniem (wapnowanie), dlatego też trzeci czynnik główny możemy określić jako **przygotowanie pola i siew**.

Ostatni, czwarty czynnik główny budowany był przede wszystkim przez jedną cechę — jakość gleby. Czynnik ten przyjmował tym większe wartości im wyższa była jakość gleby, dlatego można go określić mianem **czynnika siedliskowego**.

Podsumowując, w powyższym przykładzie przedstawiono szeroką interpretację uzyskanych wyników danych włącznie z możliwością merytorycznej interpretacji wyznaczonych czynników głównych.

PODSUMOWANIE

Jednym z często poruszanych i ważnych zagadnień jest możliwie obiektywna ocena informacji jaka tkwi w określonym zbiorze wielkości (danych) opisujących interesujące nas zjawisko lub proces. Pojedyncze cechy na ogół nie oddają adekwatnego odbicia badanego zjawiska lub procesu wielowymiarowego. Każda z tych cech tylko w pewnym stopniu je odzwierciedla. Dlatego też omawiane w niniejszej pracy metody obliczeniowe statystyki matematycznej dają istotne możliwości analizowania struktur tkwiących w zespole wielocechowych danych przyrodniczych. Metody te pozwalają przede wszystkim na przybliżenie wielocechowych zjawisk poprzez sprowadzenie ich do prostszego opisu i interpretacji we wzajemnym porównywaniu populacji wybranych roślin. Przykład 1 wyraźnie artykułuje zróżnicowanie analizowanych wielocechowych obiektów w pierwszej fazie na dwie odrębne grupy, by w następnej fazie uzyskać potwierdzenie zróżnicowania kolejnych dwóch grup obiektów.

Inny obszar zastosowań niniejszych metod to wykorzystanie możliwości grupowania poszczególnych cech w zespoły pozwalające na ich praktyczną interpretację (przykład 2). Ma to szczególne znaczenie przy analizowaniu zbioru cech egzogenicznych (tj. cech o charakterze zmiennych niezależnych) w analizach zjawisk przyczynowo-skutkowych. Często pojedyncze cechy przyczynowe nie wskazują na ich istotny częściowy wpływ na badany skutek, ale w zespole z innymi cechami może okazać on się bardzo wyraźny i znaczący.

LITERATURA

- Armitage P., Colton T. (eds.) 2005. *Encyclopedia of Biostatistics*. 2nd Edition. John Wiley & Sons Inc., Hoboken: 2055 — 2067, : 4588 — 4592.
- Caliński T., Czajka S., Kaczmarek Z. 1975. *Analiza składowych głównych i jej zastosowania. Algorytmy biometryczne i statystyczne (ABS-36)*. AR Poznań.
- Cureton E. E., Mulaik S. A. 1975. The weighted varimax rotation and the promax rotation. *Psychometrika* 40: 183 — 195.
- Everitt B. S., Dunn G. 1992. *Applied Multivariate Data Analysis*. Oxford University Press, New York.
- Fisher R. A. 1936. The Use of Multiple Measurements in Taxonomic Problems. *Annals of Eugenics*, 7: 179 — 188.
- Gnanadesikan R. 1977. *Methods for statistical data analysis of multivariate observations*. Wiley, New York.
- Gower J. C. 1966. Some distance properties of latent root and vector methods used in multivariate analysis. *Biometrika*, 53 (3/4): 325 — 338.
- Hatcher L. 1994. *A Step-by-step Approach to Using SAS for Factor Analysis and Structural Equation Modeling*. SAS Publishing, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Kaiser, H. F. 1958. The varimax criterion for analytic rotation in factor analysis. *Psychometrika* 23: 187 — 200.
- Khattre R., Naik D. N. 2000. *Multivariate Data Reduction and Discrimination with SAS Software*. SAS Publishing, SAS Institute Inc., John Wiley & Sons Inc., New York, USA.

- Khattree R., Naik D. N. 1999. Applied Multivariate Statistics with SAS Software. Second Edition. SAS Publishing, SAS Institute Inc., John Wiley & Sons Inc., New York, USA.
- Kim J. O., Mueller C. W. 1978. Factor analysis. Statistical Methods and Practical Issues. Sage Publishing, Beverly Hills.
- Krzanowski W. J. 1988. Principles of multivariate analysis: a users's perspective. Oxford University Press.
- Krzyśko M. 2000. Wielowymiarowa analiza statystyczna. Wydawnictwo Naukowe UAM, Poznań.
- Krzyśko M. 2009. Podstawy wielowymiarowego wnioskowania statystycznego. Wydawnictwo Naukowe UAM, Poznań.
- Laudański Z., Mańkowski D. R., Sieczko L. 2007 a. Próba oceny technologii uprawy pszenicy ozimej na podstawie danych ankietowych gospodarstw indywidualnych. Część 1. Metoda wyodrębniania technologii uprawy. Biul. IHAR 244: 33 — 43.
- Laudański Z., Mańkowski D. R., Sieczko L. 2007 b. Próba oceny technologii uprawy pszenicy ozimej na podstawie danych ankietowych gospodarstw indywidualnych. Część 2. Ocena technologii uprawy. Biul. IHAR 244: 45 — 57.
- Mardia K. V., Kent J. T., Bibby J. M. 1979. Multivariate analysis. Academic Press, London.
- Mądry W. 2007. Metody statystyczne do oceny różnorodności fenotypowej dla cech ilościowych w kolekcjach roślinnych zasobów genowych. Zeszyty Probl. Post.-Nauk Rol., Nr 517: 21 — 41.
- Mądry W., Pluta S., Sieczko L., Studnicki M. 2010. Phenotypic diversity in a sample of blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) cultivars maintained in the fruit breeding department at the Research Institute of Pomology and Floriculture in Skierniewice, Poland. Journal of Fruit and Ornamental Plant Research, 18 (2): 23 — 37.
- Mańkowski D. R., Laudański Z., Martyniak D., Flaszka M. 2009. Struktura wielocechowej zmienności odmianowej wiechliny łąkowej (*Poa pratensis* L.). Biul. IHAR 254: 189 — 200.
- Morrison D. F., 1990. Wielowymiarowa analiza statystyczna. PWN, Warszawa.
- O'Rourke N., Hatcher L., Stepanski E. J. 2005. A step-by-step approach to using SAS for univariate & multivariate statistics. Second edition. SAS Publishing, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Rao C. R. 1964. The use and interpretation of principal component analysis in applied research. Sankhyā, A26: 329 — 358.
- SAS Institute Inc. 2009. SAS/STAT 9.2 User's Guide, Second Edition. SAS Publishing, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Seber G. A. F. 1984. Multivariate Observations. Wiley, New York.
- Sieczko L., Mądry W., Zieliński A., Paderewski J., Urbaś-Szwed K. 2004. Zastosowanie analizy składowych głównych w badaniach nad wielocechową charakterystyką zmienności genetycznej w kolekcji zasobów genowych pszenicy twardej (*Triticum durum* L.). XXXIV Coll. Biometryczne: 223 — 239.
- Sieczko L., Masny A., Mądry W., Żurawicz E. 2008. Analiza podobieństwa rodzin mieszańcowych truskawki powtarzającej owocowanie pod względem wielkości i jakości plonów owoców. Biul. IHAR 250: 297 — 307.
- Szczotka F. A. 1977. Podstawy analizy czynnikowej. Listy Biometryczne, Nr 55–59: 1 — 69.
- Thurstone L. L. 1931. Multiple factor analysis. Psychological Review, 38: 406 — 427.
- Thurstone L. L. 1947. Multiple factor analysis. Chicago, USA: The University of Chicago Press.
- Timm N. H. 2002. Applied multivariate analysis. Springer Verlag Inc., New York, USA.
- Ukalska J., Mądry W., Ukalski K., Masny A. 2007. Wielowymiarowa ocena różnorodności fenotypowej w kolekcji zasobów genowych truskawki. Cz. II. Grupowanie genotypów. Zeszyty Probl. Post. Nauk Rol. 517: 759 — 766.
- Ukalska J., Ukalski K., Śmiałowski T., Mądry W. 2008. Badanie zmienności i współzależności cech użytkowych w kolekcji roboczej pszenicy ozimej (*Triticum aestivum* L.) za pomocą metod wielowymiarowych. Cz. II. Analiza składowych głównych na podstawie macierzy korelacji fenotypowych i genotypowych. Biul. IHAR 249: 45 — 57.
- Walesiak M., Gatnar E. 2009. Statystyczna analiza danych z wykorzystaniem programu R. Wydawnictwa Naukowe PWN, Warszawa.
- Wójcik A. R., Laudański Z. 1989. Planowanie i wnioskowanie statystyczne w doświadczalnictwie. PWN, Warszawa.

DARIUSZ R. MAŃKOWSKI¹**ZBIGNIEW LAUDAŃSKI**²**MAŁGORZATA FLASZKA**³¹ Pracownia Ekonomiki Nasiennictwa i Hodowli Roślin, Zakład Nasiennictwa i Nasionoznawstwa

IHAR — PIB Radzików

² Zakład Biometrii, Wydział Zastosowań Informatyki i Matematyki, SGGW Warszawa³ Katedra Doświadczalnictwa i Bioinformatyki, Wydział Rolnictwa i Biologii, SGGW Warszawa

Propozycja metody oceny postępu biologicznego i technologicznego w uprawie roślin na przykładzie pszenicy ozimej

Proposal of a method for assessment of biological and technological progress in crops cultivation on the example of winter wheat

W pracy, na podstawie danych produkcyjnych, zidentyfikowane cztery główne czynniki odpowiedzialne za kształtowanie się efektywności uprawy pszenicy ozimej. Przeprowadzono szczegółową analizę struktury tych czynników oraz analizę trendów zmian wartości tych czynników w latach badań. Dodatkowo przeanalizowano zmiany w czynnikach nakładowych jakie miały miejsce w badanym okresie. Przeprowadzono również analizę zmian w efektywności technologii produkcji pszenicy ozimej oraz w efektywności doboru odmian do uprawy tego gatunku.

Słowa kluczowe: postęp biologiczny, postęp technologiczny, EFA

In this work, based on production data, four main factors were identified responsible for profitability of winter wheat cultivation. A detailed analysis of structure of these factors was performed and trends of changes in the factors' values in the years of study were assayed. Additionally, changes in the costs factors were analyzed which occurred during this period. The changes in efficiency of winter wheat production technology and efficiency of selection of varieties were also examined.

Key words: biological progress, technological progress, EFA

WSTĘP

W rolnictwie, szeroko rozumiany postęp jest ważnym czynnikiem produkcji zmierzającym do poprawy efektywności gospodarowania. Postęp w rolnictwie kojarzy się z osiągnięciem wyższego poziomu produkcyjnego, powodującego uzyskanie określonych efektów jakościowych i ilościowych, jak również uczynienia pracy ludzkiej lżejszą i wydajniejszą. W produkcji rolniczej związane jest to na ogół z osiągnięciem szybszych przyrostów plonów roślin uprawnych w stosunku do tempa wzrostu nakładów. W rolni-

ctwie mamy do czynienia z różnymi rodzajami postępu, które współdziałają ze sobą i wpływają na efektywność pracy rolnika. Można tu wymienić (Runowski, 1997; Mańkowski, 2009):

- postęp biologiczny — całokształt zmian samoczynnych (naturalnych), bądź wynikających z celowej działalności człowieka (antropogeniczny), w organizmach roślinnych i zwierzęcych, wpływający na cechy indywidualne tych organizmów. W sensie rolniczym jest to całokształt zmian wpływających na wartość technologiczno-użytkową roślin i zwierząt gospodarskich;
- postęp hodowlany w roślinach rolniczych — wszystkie nowe cechy użytkowe, bądź polepszenie cech posiadanych przez roślinę, wnoszone przez nowo wyhodowanerody i odmiany zgłoszone do doświadczeń przedrejestrów;
- postęp odmianowy w roślinach rolniczych — wszystkie nowe cechy użytkowe, bądź polepszenie cech posiadanych przez roślinę, wnoszone przez nowo zarejestrowane odmiany;
- postęp techniczny — proces doskonalenia techniki wytwarzania, polegający na wprowadzaniu do produkcji rolniczej ulepszonych i doskonalszych środków technicznych;
- postęp technologiczny — wprowadzanie nowych technologii produkcji;
- postęp organizacyjny — proces zmian w organizacji gospodarstwa i organizacji pracy prowadzących do bardziej efektywnego wykorzystania postępu technicznego, technologicznego i biologicznego oraz do poprawy ekonomicznych wyników gospodarstwa;
- postęp społeczno-ekonomiczny — zmiany w zakresie stosunków społecznych i ustroju rolnego.

W literaturze dotyczącej postępu biologicznego można spotkać szereg różnych podejść do problemu jego ilościowej estymacji. Stosowane metody oceny są bardzo różne i zależą w głównej mierze od rodzaju i pochodzenia analizowanych danych.

Oceny postępu hodowlanego i odmianowego dokonuje się często na podstawie ścisłych doświadczeń odmianowych i stosuje się analizę funkcji regresji liniowej ($y = a + b \cdot x$) plonów względem lat rejestracji badanych odmian (Kamasa, 1983; Calderini i in., 1995; Schuster i in., 1977, 1982; Fisher i in., 1998; Sayre i in., 1998; Slafer i Peltonen-Sainio, 2001; Ustun i in., 2001; Trethowan i in., 2002). W przypadku ścisłych doświadczeń rzadziej od wymienionych wcześniej modeli regresyjnych stosuje się funkcję regresji wielomianowej drugiego stopnia ($y = a + b \cdot x + c \cdot x^2$) (Hesselbach, 1985; Ustun i in., 2001). W literaturze można również odnaleźć prace, w których autorzy wykorzystali analizę regresji wielokrotnej połączoną z analizą wariancji do oceny potencjału plonotwórczego odmian, rodów i linii hodowlanych, a co za tym idzie do oceny postępu genetycznego w roślinach uprawnych (Teklu i Tefera, 2005).

Różnice w obserwowanych wartościach cech ilościowych wynikające z występowania interakcji genotypowo-środowiskowych oraz z różnych warunków przeprowadzania doświadczeń mogą utrudniać i zaciemniać obraz wykonanych analiz. Dlatego też, zależnie od ilości dostępnych danych i od okresu jaki obejmuje analiza, często wykorzystuje się metody oparte na porównaniach efektów poszczególnych odmian z wzorcem stałym,

wzorcem zbiorowym, bądź wzorcem pomostowym (Oleksiak i in., 2004; Mańkowski, 2009). Zastosowanie jednego z wyżej wymienionych wzorców pozwala wyeliminować lub zminimalizować zmienność, wynikającą ze zróżnicowanych warunków środowiskowych pomiędzy latami (Silvey, 1978 a, 1978 b, 1981, 1986; Bilski i in., 1979; Krzymuski i Kaczyński, 1980; Kamasa, 1983; Feyerherm i Paulsen, 1984; Krzymuski i Wilkos 1985, 1986; Krzymuski, 1988, 1993; Oleksiak, 1997, Oleksiak i in., 2004).

Celem niniejszego opracowania, na bazie wieloletnich danych ankietowych pochodzących z indywidualnych gospodarstw rolnych prowadzących produkcję towarową pszenicy ozimej, było zaprezentowanie metod poszukiwania struktury czynników agrotechnicznych oraz ocena ich wpływu na poziom produkcji oraz przedstawienie nowatorskiego podejścia do oceny efektów tzw. postępu odmianowego i postępu technologicznego w produkcji pszenicy ozimej.

MATERIAŁ I METODY

Do analiz wykorzystano dane produkcyjne pochodzące z badań ankietowych gospodarstw indywidualnych. Badania te prowadzone były przez Pracownię Ekonomiki Nasiennictwa i Hodowli Roślin, Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — Państwowego Instytutu Badawczego w Radzikowie. Rozpoczęto je w roku 1986 i były prowadzone w gospodarstwach prowadzących rachunkowość rolną na potrzeby Instytutu Ekonomiki Rolnictwa i Gospodarki Żywnościowej. Rocznie ankietowano od 420 do 620 indywidualnych gospodarstw rolniczych. Ankiety wypełniane były przez inspektorów rachunkowości rolnej IERiGŻ. Każda ankieta w postaci karty obejmowała jedno gospodarstwo, a każdy wiersz tej ankiety dotyczył jednego pola, czyli uprawy jednej odmiany jednego gatunku roślin uprawnych (Mańkowski, 2008). Dane z badań ankietowych odnośnie pszenicy ozimej przedstawiały informacje dotyczące 3 980 pól uprawnych i ich przygotowania, o powierzchni pojedynczego pola nie przekraczającej 10 ha i łącznej powierzchni 7 320 ha, z okresu lat 1992–2003.

Do badań wykorzystano dane charakteryzujące czynniki na poziomie pola uprawnego i jego przygotowania (tab. 1). Badane czynniki agrotechniczne miały charakter cech ilościowych oraz cech skategoryzowanych. Zmienne skategoryzowane były wyrażone w skali porządkowej. Natomiast zmienne ilościowe były wyrażone w skali ciągłej (np. nawożenie mineralne, ilość wysiewu) lub skokowej (np. liczba zabiegów ochrony chemicznej).

Zmienne ilościowe do dalszych analiz przekształcono do formy zmiennych skategoryzowanych (tab. 1) w taki sposób aby ich wartości liczbowe odpowiadały kolejnym poziomom cechy. W ten sposób wszystkie czynniki tworzyły dane skategoryzowane porządkowe.

Tabela 1

Analizowane zmienne dotyczące pola uprawnego i jego przygotowania oraz uprawianej odmiany pszenicy ozimej — wartości oryginalne, przekształcenie do postaci skategoryzowanej i uzyskane po transformacji nieobciążone wartości analizowanych kategorii cech

Analyzed variables concerning field, its preparation and winter wheat cultivars — original values, categorical values of original features and their unbiased forms expressed in yield scale

Nazwa zmiennej Variable name	Zmienne oryginalne Original variables		Skala zmiennych po przekształceniu do zmiennych skategoryzowanych nominalnych Variable scale after transformation to nominal categorical variables		Zróżnicowanie średniego plonu ¹ dla poziomów analizowanego czynnika Diversification of the mean yield ¹ for the analyzed levels of factor		
	rodzaj zmiennej variable's type	skala pomiarowa measure scale	liczba poziomów no. of levels	poziomy levels	min.	max.	wartość średnia mean value
1	2	3	4	5	6	7	8
Przedplon Forecrop	zmienna skategoryzowana porządkowa ordinal categorical variable	skala od 0 do 18 scale from 0 to 18	19	0- pszenica ozima / winter wheat; 1- pszenica jara / spring wheat; 2- jęczmień ozimy / winter barley; 3- jęczmień jary / spring barley; 4- żyto / rye; 5- owies / oat; 6- pszenżyto ozime / winter triticale; 7 ziemniak / potato; 8- burak cukrowy / sugar beet; 9- rzepak ozimy / winter rape; 10- kukurydza / maize; 11- okopowe pastewne / root plants; 12- mieszanka zbożowa / mixture of cereals; 13- strączkowe na nasiona / legumes for seed; 14- strączkowe na zielonkę / legumes for green mass; 15 -koniczyny / clovers; 16- lucerna / alfalfa; 17- trawy / grasses; 18- inne / other	34,192	47,834	40,038
Obornik Manure	zmienna ilościowa skokowa discrete quantitative variable;	liczba lat od ostatniego nawożenia no. of years from the last usage	16	0; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 10; 11; 12; 14; 15; 19; 20	17,511	68,587	40,066
Jakość gleby (klasa) Soil quality (class)	zmienna skategoryzowana porządkowa ordinal categorical variable	klasa bonitacyjna soil class	6	I; II; IIIa; IIIb; IVa; IVb; V; VI	28,969	44,819	40,061
Odczyn gleby Soil pH	zmienna skategoryzowana porządkowa ordinal categorical variable	skala od 1 do 5 scale from 1 to 5	5	1 bardzo kwaśny / highly acidic; 2 kwaśny / acidic; 3 lekko kwaśny / slightly acidic; 4 obojętny / neutral; 5 zasadowy / alkaline	37,776	45,130	40,061

c.d. Tabela 1

1	2	3	4	5	6	7	8
				0; 11; 14,7; 16; 16,4; 17; 18; 18,8; 19; 20; 21; 21,2; 23; 24; 25; 25,5; 26; 26,2; 27; 28; 28,8; 29; 30; 31; 32; 32,9; 33; 34; 35; 37; 37,2; 37,3; 37,5; 37,7; 38; 38,8; 38,9; 39; 40; 41; 42; 42,5; 43; 43,1; 44,4; 44,7; 45; 46; 46,6; 46,7; 47; 48; 48,5; 48,6; 49; 49,3; 49,5; 49,6; 50; 51; 51,1; 51,2; 52; 53; 53,8; 54; 54,4; 54,8; 55; 56; 56,5; 56,6; 56,7; 57; 57,1; 58; 58,2; 59; 59,3; 60; 61; 62; 62,3; 63; 64; 64,7; 65; 65,5; 66; 66,9; 67; 67,3; 67,7; 68; 68,8; 69; 69,9; 70; 70,7; 71; 71,7; 72; 72,2; 72,4; 73; 73,4; 74; 75; 76; 77; 77,6; 78; 78,8; 80; 81; 81,3; 82; 83; 84; 85; 86; 86,6; 87; 88; 89; 90; 90,6; 91; 92; 92,5; 93; 93,9; 94; 94,6; 95; 95,5; 96; 97; 98; 99; 100; 100,4; 101; 102; 103; 104; 104,3; 105; 105,4; 105,7; 106; 106,3; 106,4; 107; 108; 108,5; 108,6; 108,7; 109; 110; 110,7; 111; 111,2; 112; 113; 113,3; 113,6; 114; 115; 116; 117; 118; 118,5; 119; 120; 121; 121,6; 122; 123; 123,1; 124; 124,3; 124,5; 125; 125,3; 126; 126,5; 127; 127,2; 127,3; 128; 128,5; 128,6; 129; 130; 131; 131,4; 132; 132,5; 133; 134; 135; 136; 137; 138; 138,8; 139; 140; 141; 141,5; 142; 142,3; 143; 143,3; 144; 144,5; 145; 146; 146,1; 146,6; 147; 148; 149; 149,3; 150; 151; 152; 152,6; 153; 153,5; 154; 155; 155,3; 156; 156,5; 157; 157,1; 158; 159; 159,4; 160; 160,3; 161; 162; 162,2; 162,5; 163; 164; 164,2; 164,5; 165; 166; 167; 167,5; 168; 168,1; 168,3; 169; 170; 170,2; 170,5; 171; 172; 172,2; 172,4; 172,8; 173; 173,2; 174; 175; 176; 177; 178; 179; 179,6; 180; 181; 182; 182,8; 183; 183,9; 184; 185; 186; 186,7; 187; 187,5; 188; 189; 190; 190,5; 191; 191,9; 192; 192,6; 193; 194; 195; 196; 197; 198; 198,1; 198,5; 199; 199,8; 200; 201; 202; 202,5; 202,9; 203; 203,7; 204; 205; 206; 207; 208; 209; 210; 211; 212; 212,3; 213; 214; 215; 216; 217; 217,8; 218; 218,7; 219; 220; 220,5; 221; 222; 223; 224; 225; 226; 227; 228; 229; 229,1; 230; 231; 232; 233; 233,3; 234; 234,5; 235; 236; 237; 238; 238,7; 239; 240; 241; 242; 243; 243,2; 244; 245; 246; 247; 248; 249; 250; 250,5; 251; 252; 253; 253,3; 253,6; 254; 255; 255,3; 256; 257; 257,7; 258; 259; 260; 261; 262; 263; 264; 265; 266; 267; 268; 270; 271; 272; 273; 275; 276; 277; 278; 279; 280; 282; 283; 284; 286; 287; 288; 290; 291; 292; 293; 294; 295; 296; 296,2; 297; 298; 299; 300; 301; 301,7; 301,8; 304; 305; 306; 308; 309; 310; 311; 312; 313; 314; 316; 318; 319; 320; 321; 322; 326; 328; 330; 331; 332; 334; 335; 336; 338; 340; 341; 342; 345; 346; 347; 350; 352; 355; 357; 359; 360; 362; 363; 364; 365; 367; 370; 371; 372; 373; 382; 383; 388; 402; 403; 408; 425; 461; 462; 490; 540; 549; 570			
Nawożenie NPK NPK fertilization	zmienna ilościowa ciągłą continuous quantita- tive variable;	w kg czystego składnika na 1 ha in kg of pure substance per 1 ha	481		10,040	73,047	40,075

c.d. Tabela 1

1	2	3	4	5	6	7	8
Odmiana Cultivar	zmienna skategory- zowana porządko- wa ordinal categorical variable	nazwa odmiany cultivar's name	20	-1 inna zagraniczna / other foreign; 0 inna krajowa / other domestic; 1 Grana; 4 Begra; 7 Salwa; 9 Gama; 13 Emika; 14 Jawa; 18 Alba; 21 Parada; 24 Almari; 25 Kamila; 31 Juma; 32 Kobra (Kobra Plus); 35 Roma; 37 Mikon; 41 Elena; 45 Sakwa; 48 Korwetta; 65 Zyta	34,203	47,368	40,155
Rodzaj materiału siewnego Seed's class	zmienna skategory- zowana porządko- wa ordinal categorical variable	klasa odsiewu od 1 do 6 class of seed from 1 to 6	6	1 przed bazowy / prebase; 2 bazowy / base; 3 kwalifikowany 1-ego rozmnożenia / qualified 1 st generation; 4 kwalifikowany 2-ego rozmnożenia / qualified 2 nd generation; 5 niekwalifikowany z zakupu lub wymiany / unqualified from purchase or exchange; 6 niekwalifikowany z własnego rozmnożenia / unqualified from own production	36,932	49,232	40,046
Ilość wysiewu Sowing rate	zmienna ilościowa ciągła continuous quantita- tive variable	materiał siewny w kg seeds in kg	168	140; 150; 160; 167; 170; 175; 176; 177; 180; 185; 189; 190; 200; 202; 204; 205; 207; 208; 209; 210; 211; 212; 213; 213.3; 214; 215; 216; 217; 218; 220; 222; 224; 225; 226; 227; 228; 229; 230; 231; 233; 234; 235; 236; 237; 238; 239; 240; 242; 243; 244; 245; 246; 247; 248; 249; 249.4; 250; 252; 254; 255; 257; 259; 260; 261; 262; 263; 264; 265; 266; 266.7; 267; 268; 269; 270; 271; 272; 272.2; 273; 274; 275; 276; 277; 278; 279; 280; 281; 282; 283; 283.8; 285; 286; 287; 288; 289; 290; 291; 292; 293; 294; 295; 296; 297; 297.3; 298; 299; 300; 301; 302; 303; 304; 305; 306; 307; 308; 309; 310; 312; 313; 314; 315; 317; 318; 319; 320; 321; 322; 323; 324; 324.3; 325; 326; 329; 330; 332; 333; 334; 335; 336; 337; 338; 340; 341; 343; 345; 348; 350; 353; 354; 356; 357; 360; 364; 365; 366; 370; 371; 373; 375; 380; 382; 383; 384; 389; 390; 400; 407; 410; 420	12,345	72,210	40,057
Termin siewu Sowing date	zmienna ilościowa skokowa discrete quantita- tive variable	liczba dni od 1 stycznia no. of days from January 1 st	76	225; 231; 240; 241; 242; 243; 244; 245; 246; 247; 248; 249; 250; 251; 252; 253; 254; 255; 256; 257; 258; 259; 260; 261; 262; 263; 264; 265; 266; 267; 268; 269; 270; 271; 272; 273; 274; 275; 276; 277; 278; 279; 280; 281; 282; 283; 284; 285; 286; 287; 288; 289; 290; 291; 292; 293; 294; 295; 296; 297; 298; 299; 300; 301; 302; 303; 304; 305; 306; 307; 308; 309; 310; 312; 315; 318	19,957	59,060	40,052
Liczba zabiegów ochrony chemicznej No. of applications of chemical protection	zmienna ilościowa skokowa discrete quantita- tive variable	krotność zabiegów ochrony chemicznej treatment multiplicity of chemical protection	7	0; 1; 2; 3; 4; 5; 6	29,557	55,338	40,140

¹ — nieobciążone, ważone estymatory efektów czynnika z modelu obserwacji postaci $\mu + \alpha_i$ z modelu liniowego dwuczynnikowej analizy wariancji; ¹ — unbiased, weighted estimators of the factor effects as the observation of $\mu + \alpha_i$ model, from linear model of two-way anova

Za ocenę wartości plonotwórczej kategorii (poziomu) rozpatrywanego czynnika przyjęto odpowiadającą wielkość średniego plonu pszenicy (tab. 1), uzyskanego dla poszczególnych poziomów czynnika na podstawie nieobciążonych, ważonych estymatorów efektów czynnika z modelu obserwacji postaci:

$$y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \varepsilon_{ijk},$$

gdzie drugi czynnik (β) stanowiły lata badań. W ten sposób oceny $\mu + \alpha_i$ stanowiły nieobciążone wartości analizowanych kategorii czynnika. Uzyskane w ten sposób oceny mogą posłużyć do badania wpływu poszczególnych czynników na obserwowaną zmienność plonów pszenicy ozimej.

Analizę tak transformowanych danych liczbowych przeprowadzono za pomocą analizy współczynników korelacji liniowej Pearsona, analizy regresji liniowej oraz eksploracyjnej analizy czynnikowej (Szczotka, 1977; Wójcik i Laudański, 1989; Morrison, 1990; Krzyśko, 2000; Rawlings i in., 2001; Timm, 2002; Armitage i Colton, 2005; Laudański i in., 2007; Mańkowski i in., 2009). Obliczenia wykonano w Systemie SAS® w wersji 9.2 z nakładką graficzną SAS® Enterprise Guide 4.3 (SAS Institute Inc., 2009).

OMÓWIENIE WYNIKÓW I DYSKUSJA

W pierwszym rzędzie wyznaczono macierz korelacji analizowanych dziesięciu cech plonotwórczych i plonu pszenicy ozimej (tab. 2).

Na podstawie analizy struktury tejże macierzy korelacji, przeprowadzonej za pomocą eksploracyjnej analizy czynnikowej metodą składowych głównych Hotellinga z normalizacją Kaisera i rotacją varimax, podjęto decyzję o wyodrębnieniu czterech czynników latentnych (hipotetycznych, definiowanych matematycznie) (tab. 3). Zastosowano w tym celu kryterium wartości własnej (Mańkowski i in., 2009; Laudański i in., 2012). Mówi ono o tym, że tylko te czynniki wspólne są istotne, dla których wartość własna, po rotacji jest większa od 1, gdyż tylko wtedy takie czynniki niosą ze sobą więcej informacji niż pojedyncze analizowane cechy (współczynnik korelacji cechy samej ze sobą wynosi 1). Uważa się, że pozostałe wyznaczone czynniki wspólne stanowią tak zwany szum informacyjny. Wyznaczone w ten sposób czynniki odpowiadały za grupy rozpatrywanych podstawowych czynników agrotechnicznych (cech), które były najbardziej z nimi skorelowane (tab. 4).

Pierwszy czynnik, odpowiadający za 19,5% obserwowanej w oryginalnym zbiorze danych zmienności, tworzyły: odmiana, rodzaj materiału siewnego, liczba zabiegów ochrony roślin pestycydami oraz nawożenie NPK. Wszystkie ładunki czynnikowe dla tych cech były dodatnie, co można interpretować jako wprost proporcjonalny wpływ tych cech na kształtowanie się wartości czynnika głównego. Z racji, że wszystkie wymienione cechy powiązane są z **nakładami finansowymi**, które bezpośrednio rolnik musi ponieść (np. dobór i zakup nasion konkretnej odmiany, wybór rodzaju materiału siewnego, zakup i użycie pestycydów, zakup i wysiew nawozów mineralnych) pierwszy czynnik główny możemy określić jako *‘czynnik nakładowy’*. ‘Czynnik nakładowy’ składał się z dwóch grup cech plonotwórczych (tab. 4) — *‘biologicznych środków produkcji’* (odmiana i rodzaj materiału siewnego) oraz *‘chemicznych środków produkcji’* (nawożenie NPK i liczba

zabiegów pestycydami). Można więc stwierdzić, że ‘biologiczne środki produkcji’ są odpowiedzialne za wprowadzanie i wykorzystanie postępu odmianowego w badanych gospodarstwach.

Tabela 2

Współczynniki korelacji liniowej Pearsona pomiędzy plonem i analizowanymi czynnikami plonotwórczymi

Pearson linear correlation coefficients between yield and the analyzed yielding factors

	Plon Yield	Liczba zabiegów pestycy- dami Number of pesticide treatments	Wartość przed- plonu Forecrop value	Materiał siewny Seed material	Odczyn gleby Soil pH	Odmiana Cultivar	Jakość gleby Soil quality	Liczba lat od użycia obornika Number of years after manuring	Ilość wysiewu Amount of seeding	Nawoże- nie NPK NPK fertiliza- tion	Termin siewu Date of sowing
Plon Yield	1										
Liczba zabiegów pestycydami Number of pesticide treatments	0,374	1									
Wartość przedplonu Forecrop value	0,287	0,286	1								
Materiał siewny Seed material	0,280	0,304	0,194	1							
Odczyn gleby Soil pH	0,184	0,072	0,058	0,087	1						
Odmiana Cultivar	0,291	0,327	0,188	0,337	0,098	1					
Jakość gleby Soil quality	0,192	0,033	0,084	0,049	0,015	0,071	1				
Liczba lat od użycia obornika Number of years after manuring	0,167	0,208	0,231	0,163	0,028	0,106	0,051	1			
Ilość wysiewu Amount of seeding	0,264	0,127	0,090	0,090	0,054	0,081	0,081	0,076	1		
Nawożenie NPK NPK fertilization	0,541	0,375	0,260	0,265	0,110	0,284	0,057	0,175	0,191	1	
Termin siewu Date of sowing	0,217	0,149	0,134	0,095	0,100	0,109	0,023	0,114	0,129	0,168	1

Obliczenia wykonano dla 3 980 obserwacji. Wartość krytyczna współczynnika korelacji Pearsona dla tej liczby obserwacji przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$ wynosi 0,03107.

Calculations were made for 3 980 observations. Critical value of Pearson's correlation coefficient for the number of observations at the significance level $\alpha=0.05$ is equal to 0.03107.

Drugi czynnik, odpowiadający za 12,7% zmienności, budowały: liczba lat do ostatniego użycia obornika oraz wartość przedplonu. Cechy te wpływały wprost proporcjonalnie na kształtowanie się drugiego czynnika głównego. Obydwie cechy związane były z wydarzeniami historycznymi związanymi z polem uprawnym, dlatego też czynnik ten można określić jako ‘historię pola’.

Tabela 3

Wartości własne czynników wspólnych i ich udział w objaśnianiu obserwowanej zmienności
Common factors eigenvalues and their participation in explanation of the observed variability

Nr czynnika Factor number	Początkowe wartości własne Initial eigenvalues			Wartości własne po rotacji Eigenvalues after rotation		
	ogółem total	% wariacji % of variation	% skumulowany cumulated %	ogółem total	% wariacji % of variation	% skumulowany cumulated %
1	2,446	24,461	24,461	1,945	19,449	19,449
2	1,052	10,523	34,984	1,272	12,717	32,166
3	1,022	10,217	45,200	1,255	12,552	44,718
4	0,982	9,820	55,021	1,030	10,303	55,021
5	0,923	9,233	64,254			
6	0,841	8,413	72,667			
7	0,780	7,801	80,468			
8	0,699	6,988	87,456			
9	0,648	6,481	93,937			
10	0,606	6,063	100,000			

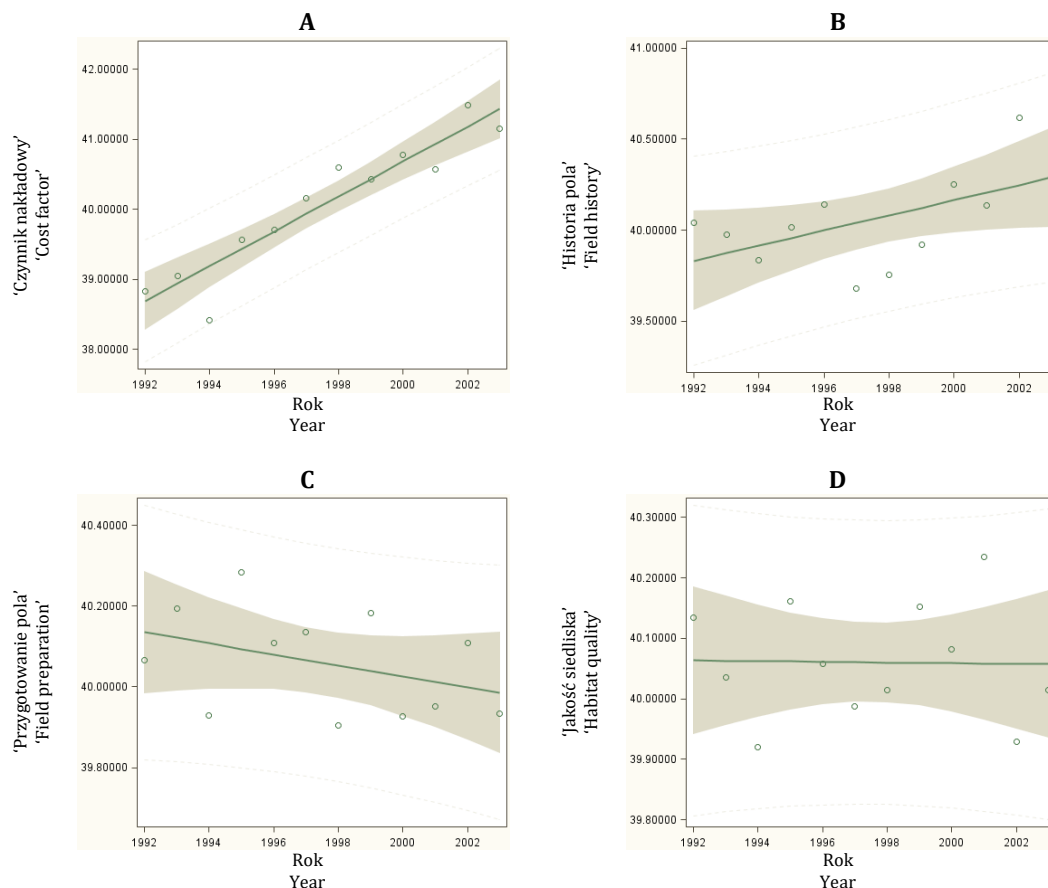
Tabela 4

Ładunki czynnikowe po rotacji dla analizowanych cech plonotwórczych
Common factor loadings, after rotation, for the analyzed yield influencing features

Cecha plonotwórcza Yield influencing features	Czynnik wspólny Common factor			
	1	2	3	4
Odmiana Cultivar	0,755	-0,036	-0,005	0,068
Materiał siewny Seed material	0,707	0,074	-0,026	0,020
Liczba zabiegów pestycydami Number of pesticide treatments	0,623	0,333	0,121	-0,043
Nawożenie NPK NPK fertilization	0,542	0,250	0,300	0,047
Liczba lat od użycia obornika Number of years after manuring	0,107	0,714	0,112	-0,024
Wartość przedplonu Forecrop value	0,321	0,554	0,128	0,072
Termin siewu Date of sowing	0,015	0,231	0,686	-0,115
Ilość wysiewu Amount of seeding	0,012	0,118	0,575	0,359
Odczyn gleby Soil pH	0,273	-0,456	0,565	-0,100
Jakość gleby Soil quality	0,066	0,009	-0,003	0,929

Trzeci czynnik, odpowiedzialny za 12,6% obserwowanej zmienności, budowany był przede wszystkim przez: termin siewu, ilość wysiewu oraz odczyn gleby. Wszystkie te cechy wykazywały wpływ wprost proporcjonalny na kształtowanie się trzeciego czynnika głównego. Cechy te charakteryzowały siew pszenicy ozimej oraz warunki pola związane z jego właściwym utrzymaniem (wapnowanie), dlatego też trzeci czynnik główny możemy określić jako *‘przygotowanie pola’*.

Ostatni, czwarty czynnik, opisujący 10,3% zmienności, budowany był przede wszystkim przez jedną cechę — jakość gleby. Czynnik ten przyjmował tym większe wartości im wyższa była jakość gleby, dlatego można go określić mianem ‘jakości siedliska’.



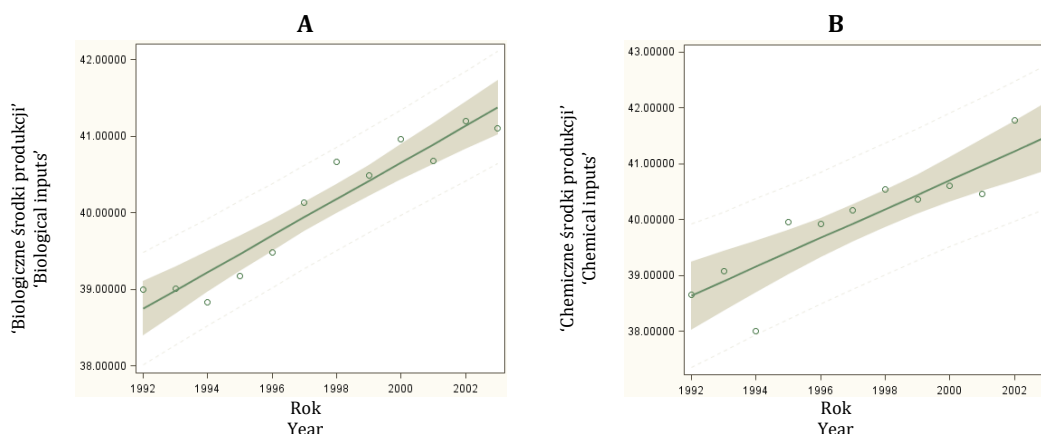
Rys. 1. Trendy zmian w czasie wyrażone funkcją regresji liniowej dla: A) zmian wielkości ‘czynnika nakładowego’ w latach [$R^2 = 0,883$; $\beta_1 = +0,249$]; B) ‘historii pola’ w latach [$R^2 = 0,326$; $\beta_1 = +0,042$]; C) ‘przygotowania pola’ [$R^2 = 0,144$; $\beta_1 = -0,014$]; D) ‘jakości siedliska’ [nie istotna]

Fig. 1. Trends of change over time expressed as a function of the linear regression for: A) change in size of ‘cost factor’ in the years [$R^2 = 0.883$; $\beta_1 = +0.249$]; B) ‘field history’ in the years [$R^2 = 0.326$; $\beta_1 = +0.042$]; C) ‘field preparation’ [$R^2 = 0.144$; $\beta_1 = -0.014$]; D) ‘habitat quality’ [not significant]

Następnie przeprowadzono szczegółową analizę wartości wyodrębnionych czynników głównych i ich zmian w latach. W tym celu wykonano analizę regresji liniowej dla wartości każdego czynnika względem lat badań 1992–2003 (rys. 1).

W wyniku tych analiz stwierdzono wyraźny, istotny trend wzrostowy ‘czynnika nakładowego’. Świadczy to o tym, że producenci pszenicy ozimej systematycznie ponosili większe wydatki na czynniki produkcji takie jak nawożenie, ochrona chemiczna czy też dobór odmian i materiału siewnego, co z kolei przekładało się na wyższą efektywność produkcji. Podobnie istotny trend wzrostowy stwierdzono w przypadku informacji o ‘historii pola’. Mogło to świadczyć o coraz lepszym doborze przedplonu dla pszenicy ozimej oraz o częstszym stosowaniu nawozów organicznych. Niestety wzrost ten nie był tak znaczący jak to miało miejsce w przypadku ‘czynnika nakładowego’. Trend spadkowy stwierdzono w przypadku ‘przygotowania pola’. Można więc stwierdzić, że z roku na rok przygotowanie pola (wapnowanie, termin siewu i ilość wysiewu) było relatywnie coraz gorsze, co mogło przyczyniać się do zmniejszania się efektywności produkcji pszenicy ozimej. Dla ‘jakości siedliska’ nie stwierdzono istotnych zmian w czasie, co może świadczyć o pozostawianiu upraw pszenicy ozimej na podobnych stanowiskach przez kolejne lata objęte badaniami ankietowymi.

Podobne analizy przeprowadzono dla składowych ‘czynnika nakładowego’ (rys. 2) — ‘biologicznych środków produkcji’ (średnia efektywność odmian i rodzaju materiału siewnego wyrażona średnimi plonami przypadającymi na analizowane poziomy tych czynników) oraz ‘chemicznych środków produkcji’ (średnia efektywność nawożenia NPK i zabiegów chemicznej ochrony roślin wyrażona średnimi plonami przypadającymi na analizowane poziomy tych czynników).



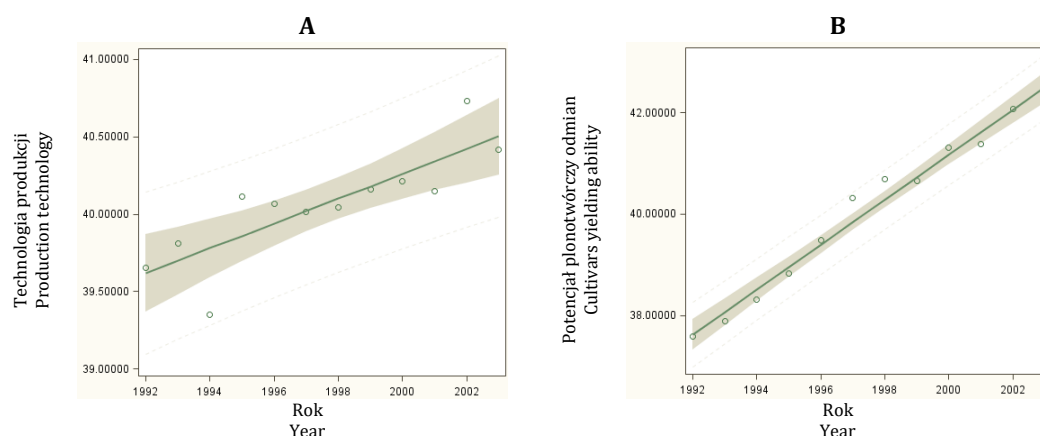
Rys. 2. Trendy zmian w czasie wyrażone funkcją regresji liniowej dla: A) zmian wielkości ‘biologicznych środków produkcji’ w latach [$R^2 = 0,906$; $\beta_1 = +0,239$]; B) zmian wielkości ‘chemicznych środków produkcji’ w latach [$R^2 = 0,790$; $\beta_1 = +0,260$]

Fig. 2. Trends of change over time expressed as a function of the linear regression for: A) change in size of ‘biological inputs’ in the years [$R^2 = 0.906$; $\beta_1 = +0.239$]; B) change in size of ‘chemical inputs’ in the years [$R^2 = 0.790$; $\beta_1 = +0.260$]

Na podstawie wyników analizy regresji w przypadku obydwu składowych ‘czynnika nakładowego’ stwierdzono istotne trendy wzrostowe. Przy czym obydwa trendy były

prawie równoległe, co można tłumaczyć jako identyczny wkład w obserwowany postęp w wykorzystaniu nakładowych środków produkcji w uprawie pszenicy ozimej w Polsce w latach 1992–2003.

Analizę regresji liniowej względem lat badań poddano również (rys. 3) *potencjał plonotwórczy odmian* (wyrażony ich średnią efektywnością w latach badań wyrażoną średnimi plonami przypadającymi na analizowane poziomy czynnika odmianowego) oraz *średnią efektywność technologii produkcji* (uśrednioną efektywność dla wykorzystania pestycydów, nawożenia NPK, przedplonu, wykorzystania obornika, odczynu gleby, ilości wysiewu i terminu siewu wyrażoną średnimi plonami przypadającymi na analizowane poziomy tych czynników).



Rys. 3. Trendy zmian w czasie wyrażone funkcją regresji liniowej dla: A) technologii produkcji w latach [$R^2 = 0,685$; $\beta_1 = +0,080$]; B) potencjału plonotwórczego uprawianych odmian w latach [$R^2 = 0,978$; $\beta_1 = +0,444$]

Fig. 3. Trends of change over time expressed as a function of the linear regression for: A) production technology in the years [$R^2 = 0.685$; $\beta_1 = +0.080$]; B) potential of cultivar yielding ability in the years [$R^2 = 0.978$; $\beta_1 = +0.444$]

W przypadku oceny efektywności technologii produkcji stwierdzono istotny trend wzrostowy charakteryzujący się średniorocznymi przyrostami rzędu $8 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ na rok. W przypadku efektywności doboru odmian również stwierdzono istotny trend wzrostowy, lecz cechujący się średniorocznymi przyrostami rzędu $44,4 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ na rok.

WNIOSKI

1. Na podstawie przeprowadzonych analiz zidentyfikowane cztery czynniki latentne odpowiedzialne w ponad 55% za kształtowanie się efektywności produkcji pszenicy ozimej w Polsce w latach 1992–2003. Były to: ‘czynnik nakładowy’, ‘historia pola uprawnego’, ‘przygotowanie pola uprawnego’ i ‘jakość siedliska’.

2. Stwierdzono istotne trendy wzrostowe dla ‘czynnika nakładowego’ i ‘historii pola’ oraz istotny trend spadkowy w przypadku czynnika charakteryzującego ‘przygotowanie pola upranego’.
3. Stwierdzono istotne, prawie równoległe trendy wzrostowe dla ‘biologicznych środków produkcji’ i ‘chemicznych środków produkcji’ co świadczyło o ich znaczącym i prawie równorzędnym wpływie na kształtowanie się postępu w wykorzystaniu ‘czynnika nakładowego’ w produkcji pszenicy ozimej.
4. W badanym okresie (1992–2003) stwierdzono, występowanie istotnych trendów wzrostowych dla efektywności stosowanej technologii produkcji i doboru odmian. Roczne średnie przyrosty wynosiły dla technologii produkcji pszenicy ozimej $8 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ na rok, a średnie przyrosty dla doboru odmian pszenicy do uprawy wynosiły $44,4 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ na rok.

LITERATURA

- Armitage P., Colton T. (eds.) 2005. Encyclopedia of Biostatistics. 2nd Edition. John Wiley & Sons Inc., Hoboken.
- Bilski E., Krzymuski J., Szymczyk R. 1979. Zastosowanie elektronicznej techniki obliczeniowej w niektórych pracach nad rejonizacją odmian roślin uprawnych. Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych: 323 — 336.
- Calderini D. F., Dreccer M. F., Slafer G. A. 1995. Genetic improvement in wheat yield and associated traits. A re-examination of previous results and the latests trends. Plant Breeding, 114: 108 — 112.
- Feyerherm A. M., Paulsen G. H. 1984. Contribution of genetic improvement to recent wheat yield increases in the USA. Agronomy Journal, 76: 985 — 990.
- Fisher R. A., Rees D., Sayre K. D., Lu Z.-M., Condon A. G., Larque Saavedra A. 1998. Wheat yield progress associated with higher stomatal conductance and photosynthetic rate, and cooler canopies. Crop Sci., 38: 1467 — 1475.
- Hesselbach J. 1985. Breeding progress with winter barley (*Hordeum vulgare* L.). Z. Pflanzenzüchtg. 94: 101 — 110.
- Kamasa J. 1983. Postęp odmianowy ziemniaka w Polsce. Praca doktorska, Słupia Wielka, COBORU.
- Krzymuski J. 1988. Ocena postępu odmianowego w plonach głównych ziemioplodów w skali kraju. Biuletyn Oceny Odmian, Tom XIII Z. 19: 13 — 23.
- Krzymuski J. 1993. O sytuacji w postępie biologicznym. Hodowla Roślin i Nasiennictwo, 2: 1 — 5.
- Krzymuski J., Kaczyński L. 1980. Efektywność postępu odmianowego w zbożach w latach 1996–1997. Biuletyn Oceny Odmian, Zeszyt 2 (12): 47 — 65.
- Krzymuski J., Wilkos S. 1985. Ilościowe wskaźniki postępu i wartości odmian. KUR-PAN I PTB: 47 — 85.
- Krzymuski J., Wilkos S. 1986. Postęp odmianowy w ziemniaku i jego wykorzystanie. Biuletyn Instytutu Ziemniaka, 34: 13 — 23.
- Krzyśko M. 2000. Wielowymiarowa analiza statystyczna. Wydawnictwo Naukowe UAM, Poznań.
- Laudański Z., Mańkowski D. R., Flaszka M. 2012. Eksploracyjna analiza czynnikowa w badaniach struktury zespołu zmiennych obserwowanych. Biul. IHAR 263: 75 — 89.
- 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, Nr 244: 33—43.
- Mańkowski D. R. 2008. Postęp biologiczny w hodowli, nasiennictwie i produkcji ziemniaka w Polsce. Rozprawa doktorska, IHAR–PIB, Radzików.
- Mańkowski D. R. 2009. Postęp biologiczny w hodowli, nasiennictwie i produkcji ziemniaka w Polsce. Część 1. Przegląd ilościowych metod oceny postępu hodowlanego i odmianowego. Biul. IHAR 251: 153—173.

- Mańkowski D. R., Laudański Z., Martyniak D., Flaszka M. 2009. Struktura wieloecchowej zmienności odmianowej wiechliny łąkowej (*Poa pratensis* L.). Biul. IHAR 254: 189 — 200.
- Morrison D. F., 1990. Wielowymiarowa analiza statystyczna. PWN, Warszawa.
- Oleksiak T. 1997. Efekty postępu w hodowli rzepaku ozimego w Polsce. Biul. IHAR 201: 27 — 44.
- Oleksiak T., Mańkowski D. R., Laudański Z. 2004. Metoda oceny postępu hodowlanego w warunkach produkcyjnych. Colloquium Biometryczne, 34a: 109 — 121.
- Rawlings J. O., Pantula S. G., Dickey D. A. 2001. Applied regression analysis — a research tool. second edition. New York, USA: Springer-Verlag Inc.
- Runowski H. 1997. Postęp biologiczny w rolnictwie. Wydawnictwo SGGW, Warszawa.
- SAS Institute Inc. 2009. SAS/STAT 9.2 User's Guide, Second Edition. SAS Publishing, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Sayre K. D., Singh R. P., Huerta-Espino J., Rajaram S. 1998. Genetic progress in reducing losses to leaf rust in CIMMYT-Derived Mexican spring wheat cultivars. Crop Sci. 38: 654 — 659.
- Schuster W., Schreiner W., Leonhäuser H., Zschoche K.-H. 1982. Über die Ertragssteigerung bei einigen Kulturpflanzen in den letzten 30 Jahren in der Bundesrepublik Deutschland. Z. Acker- und Pflanzenbau (J. Agronomy & Crop Science) 151: 368 — 387.
- Schuster W., Schreiner W., Müller G. R. 1977. Über die Ertragssteigerung bei einigen Kulturpflanzen in den letzten 24 Jahren in der Bundesrepublik Deutschland. Z. Acker- und Pflanzenbau (J. Agronomy & Crop Science) 145: 119 — 141.
- Silvey V. 1978 a. The contribution of new varieties to increasing cereal yield in England and Wales. J. Natn. Inst. Agric. Bot., 14: 367 — 384.
- Silvey V. 1978 b. Methods of analyzing NIAB variety trial data over many sites and several seasons. J. Natn. Inst. Agric. Bot., 14: 385 — 400.
- Silvey V. 1981. The contribution of new wheat, barley and oat varieties to increasing cereal yield in England and Wales 1947–78. J. Natn. Inst. Agric. Bot., 15: 399 — 412.
- Silvey V. 1986. The contribution of new varieties to cereal yields in England and Wales between 1947 and 1983. J. Natn. Inst. Agric. Bot., 17: 155 — 168.
- Slafer G. A., Peltonen-Sainio P. 2001. Yield trends of temperate cereals in high latitude countries from 1940 to 1998. Agricultural and Food Science in Finland, 10: 121 — 131.
- Szczotka F. A. 1977. Podstawy analizy czynnikowej. Listy Biometryczne, Nr 55-59: 1 — 69.
- Teklu Y., Tefera H. 2005. Genetic improvement in grain yield potential and associated agronomic traits of tef (*Eragrostis tef*). Euphytica, 141: 247 — 254.
- Timm N. H. 2002. Applied multivariate analysis. Springer-Verlag Inc., New York, USA.
- Trethowan R. M., van Ginkel M., Rajaram S. 2002. Progress in breeding wheat for yield and adaptation in global drought affected environments. Crop Sci., 42: 1441 — 1446.
- Ustun A., Allen F. L., English B. C. 2001. Genetic progress in soybean of the U.S. Midsouth. Crop Sci., 41: 993 — 998.
- Witek T. (red.) 1981. Waloryzacja rolniczej przestrzeni produkcyjnej Polski według gmin. Puławy: IUNG.
- Wójcik A. R., Laudański Z. 1989. Planowanie i wnioskowanie statystyczne w doświadczałnictwie. PWN, Warszawa.

MARCIN STUDNICKI¹**WIESŁAW MĄDRY**¹**JAN SCHMIDT**²¹ Katedra Doświadczalnictwa i Bioinformatyki SGGW w Warszawie² Ogród Botaniczny Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Bydgoszczy

Wielowymiarowa analiza zmienności genotypowej cech rolniczych w kolekcji zasobów genowych kupkówki pospolitej (*Dactylis glomerata* L.)*

Multivariate analysis of genotypic diversity of agronomic traits in orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) germplasm collection

W pracy przedstawiono analizę jedno- i wielocechowej zmienności 1971 obiektów, pochodzących z polskiej kolekcji zasobów genowych kupkówki pospolitej, pod względem 8 cech ilościowych. W pierwszym kroku analizy wykonano wstępną ocenę zmienności obiektów, oddzielnie dla każdej cechy, z wykorzystaniem metod statystyki opisowej. Dalsze kroki polegały na przeprowadzeniu analizy składowych głównych oraz analizy skupień za pomocą metody UPGMA na standaryzowanych danych dla badanych cech. Zastosowano także analizę zmiennych kanonicznych dla wydzielonych grup (skupień). Stwierdzono, że wysokość roślin i plon zielonej masy są cechami o największej zmienności genotypowej spośród wszystkich badanych cech w kolekcji. Pierwsze trzy składowe główne wyjaśniały ponad 69% ogólnej zmienności 8 cech ilościowych w badanej kolekcji. Wyniki analizy zmiennych kanonicznych wskazują, że wysokość roślin oraz liczba dni do kłoszenia i kwitnienia odznaczały się relatywnie najsilniejszą zdolnością dyskryminacyjną pomiędzy dziesięcioma grupami, wydzielonymi za pomocą analizy skupień.

Słowa kluczowe: kupkówka pospolita, wielowymiarowe metody statystyczne, zasoby genowe

In this paper an analysis of genotypic diversity for 8 quantitative agronomic traits in 1971 accessions belonging to the Polish orchardgrass germplasm collection was presented. Evaluation of diversity in the accessions was performed in four steps. In the first step a preliminary analysis of variation was done separately for each trait using descriptive statistics. Then, principal component analysis (PCA) and cluster UPGMA analysis (CA) were used on standardized data for the studied traits. Also, canonical discriminate analysis (CDA) was done to assess discriminating value of the traits to distinguish clusters delivered by CA. Plant height and total seasonal yield were most variable traits among all the traits. The first three principal components explained above 69% of the total variation

* Pracę wykonano w ramach projektu promotorskiego numer N N310 066339, przyznanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

within the accessions in the collection for the 8 traits. The results of the CDA suggested that plant height and days to inflorescence emergence and flowering were the major discriminatory characteristics for the ten distinguished clusters.

Key words: germplasm collection, multivariate analyses, orchardgrass

WSTĘP

Kupkówka pospolita (*Dactylis glomerata* L.) jest jedną z najważniejszych wieloletnich traw pastewnych klimatu umiarkowanego, pochodzącą z północnej Afryki, zachodniej i centralnej Europy oraz obszarów Azji o klimacie umiarkowanym (Pecetti in., 2009; Xie i in., 2010 a,b). Jest to gatunek powszechnie uprawiany na świecie, dzięki szerokiemu przystosowaniu do różnych warunków środowiskowych i klimatycznych, które przejawia się wysokim i stabilnym plonem biomasy o dobrej jakości paszowej oraz odpornością na choroby i szkodniki (Casler i in., 2000; Peng i Zhang, 2003; Pecetti in., 2009; Xie i in., 2010 a,b). Kupkówka pospolita jest gatunkiem luźnokępkowym, o doskonale rozwiniętym systemie korzeniowym. Wiosną wcześniej rozpoczyna wegetację, ale spóźnione przymrozki wiosenne znacznie zmniejszają jej żywotność. Wytrzymuje mroźne zimy, niekiedy jednak podczas bardzo niskich temperatur dochodzi do uszkodzenia szyjek korzeniowych i wymarza. Jest gatunkiem wysoce azotolubnym, preferowanym do intensywnych systemów uprawy i użytkowania. Przy dużej dostępności azotu w glebie staje się bardzo ekspansywna i potrafi całkowicie opanować ruń. Wykazuje duże tempo wzrostu, zwłaszcza po kolejnych pokosach. Kupkówka pospolita od ponad 100 lat jest wykorzystywana przede wszystkim jako pasza dla zwierząt gospodarskich w postaci siana i kiszzonek, szczególnie w Północnej Ameryce i Europie (Casler i in., 2000). Znajduje ona zastosowanie głównie w mieszankach traw lub traw z roślinami motylkowatymi, przeznaczonych na trwałe użytki zielone, zarówno łąki, jak i pastwiska oraz do uprawy na gruntach ornych.

Hodowlę kupkówki pospolitej równocześnie rozpoczęto w Wielkiej Brytanii i Kanadzie w latach 30. XX wieku, a nieco później w USA (van Santen i Sleper 1996). W drugiej połowie XX wieku, była ona prowadzona także z dobrym skutkiem w Polsce, szczególnie w latach 70. Mimo dużego znaczenia gospodarczego tego gatunku traw pastewnych, jego zasoby genowe na świecie są znacznie skromniejsze, niż innych roślin rolniczych. Także wiedza na temat różnorodności genetycznej obiektów zgromadzonych w kolekcjach zasobów genowych *Dactylis glomerata* L. jest ograniczona i nie wystarczająca do efektywnej hodowli w XXI wieku (Gautier i Lumaret, 1999; Peng i Zhang, 2003; Peng i in., 2008; Xie i in., 2010 a). Dotyczy to szczególnie różnorodności genetycznej cech morfologicznych i agronomicznych. Przeglądowa praca Penga i Zhanga (2003) o badaniach nad różnorodnością genetyczną w obrębie *Dactylis glomerata* L. wskazuje, że genetyczny polimorfizm tego gatunku istnieje na każdym z trzech poziomów, tj. na poziomie morfologicznym, cytologicznym i molekularnym.

Do nielicznych publikacji, zawierających wyniki badań nad różnorodnością genetyczną cech fenotypowych kupkówki, należą prace Caslera (1991), Köllikera i in. (1999) oraz Amirouche i Misset (2007). Casler (1991) wykonał badania nad zmiennością i

współmiennością plonu biomasy paszowej, wczesności, podatności na choroby oraz zadarnienia w obrębie zbiorowości tetraploidalnych obiektów rodzaju *Dactylis* L. w kolekcji zasobów genowych, pochodzących z różnych krajów świata. Większość genetycznej zmienności tych cech między rodzinami w kolekcji (73%–93%), znajdowała się w obrębie krajów pochodzenia obiektów. Stwierdzono liczne korelacje między badanymi cechami. Wiele obiektów w rozpatrywanej kolekcji wykazywało większe walory rolnicze pod względem analizowanych cech, niż prawie wszystkie odmiany uprawne, uczestniczące w tych badaniach. Kölliker i in. (1999) badali zróżnicowanie trzech szeroko uprawianych odmian każdego z trzech gatunków traw pastewnych, tj. kupkówki pospolitej (*Dactylis glomerata* L.), kostrzewy łąkowej (*Festuca pratensis* Huds.) i życicy trwałej (*Lolium perenne* L.), za pomocą markerów RAPD oraz cech rozwoju wegetatywnego. Określili oni zmienność genetyczną wewnątrz odmian oraz porównali poziom zróżnicowania między odmianami. Genetyczna zmienność wewnątrz odmian kupkówki pospolitej, oparta na markerach RAPD, była większa, niż wewnątrz odmian kostrzewy łąkowej i życicy trwałej. Te badania wskazują na odmienne relacje zmienności wewnątrz- i międzyodmianowej rozpatrywanych gatunków traw pastewnych, co może mieć konsekwencje dla adaptacyjności i trwałości poszczególnych odmian. Amirouche i Misset (2007) analizowali zróżnicowanie cech morfologicznych i cytologicznych między 30. populacjami rodzaju *Dactylis* L. z Algierii aby rozpoznać jego różnorodność i podjąć próbę dokonania systematyki. Wykryto kilka podgatunków zarówno di- jak i tetraploidalnych.

Nieco więcej badań wykonano nad różnorodnością genetyczną obiektów kupkówki pospolitej w niektórych kolekcjach zasobów genowych, pochodzących z różnych regionów świata, stosując metodykę opartą na markerach molekularnych (Peng i in., 2008; Zeng i in., 2008; Xie i in., 2010 a,b). Peng i in., (2008) określili genetyczną różnorodność i pokrewieństwo za pomocą markerów AFLP, między 32 dzikimi obiektami kupkówki pospolitej, pozyskanymi w Chinach oraz 2 obiektami z USA. Xie i in. (2010 a) określili filogenetyczne związki między i wewnątrz 16 obiektami pozyskanymi z Chin, Rosji, Kazachstanu, Indii i Japonii, posługując się markerami SSR. Stwierdzono wysoki stopień genetycznej różnorodności badanego materiału. Analiza wariancji (AMOVA) wykryła większą genetyczną zmienność wewnątrz obiektów (65,75%) i regionów geograficznych (75,58%), niż między nimi. Wykryto także wyższy stopień genetycznej zmienności w obrębie grupy obiektów tetraploidalnych, niż grupy obiektów diploidalnych. Badane obiekty zostały podzielone na dwa główne skupienia. Wszystkie obiekty tetraploidalne, pochodzące z różnych regionów były włączone do tego samego skupienia, natomiast obiekty diploidalne zostały zaliczone do dwóch innych skupień. Te wyniki klasyfikacji według poziomu ploidalności i pochodzenia geograficznego są w pełni zgodne z rezultatami badań Penga i in. (2008). Uzyskany dendrogram był zgodny z tym uzyskanym dla zmienności cech morfologicznych i agronomicznych, podobnie jak w badaniach Zenga i in. (2008). Xie i in. (2010b) oceniali zróżnicowanie genetyczne między 74 obiektami kupkówki pospolitej, za pomocą zbożowych markerów EST-SSR i markerów SSR z kupkówki. Znacząca odmienność genetyczna została wykryta między obiektami z Ameryki i Oceanii. Stwierdzono, że warunki ekogeograficzne mogły być kluczowymi czynnikami

różnorodności genetycznej kupkówki. Badania wykazały także, że północna Afryka, Europa i Azja o klimacie umiarkowanym mogą być centrami różnicowania kupkówki.

Kupkówka pospolita, obok wiechliny łąkowej, kostrzewy czerwonej, tymotki łąkowej oraz śmiałka darniowego, należy do najczęściej występujących traw na terenach łąkowych Polski. Aby chronić i charakteryzować różnorodność genetyczną kupkówki pospolitej, w Ogrodzie Botanicznym Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Bydgoszczy założono w 1972 roku kolekcję zasobów genowych (bank genów) tego gatunku (Majtkowski i in., 2003). Ze zgromadzonych obiektów, po ich uprzednim zwaloryzowaniu, zbierano nasiona, które były przekazywane do polskiego banku nasion w Krajowym Centrum Roślinnych Zasobów Genowych IHAR w Radzikowie. W tym banku zgromadzono 6172 obiektów (co stanowi 68,2% europejskich zasobów genowych tego gatunku) (Żurek i in., 2003). Kolekcja zawiera odmiany uprawne, odmiany lokalne, klony hodowlane oraz ekotypy. Dla dużej części zgromadzonych obiektów w wymienionej kolekcji, zebrano dane z polowych obserwacji dla ilościowych cech morfologicznych, fenologicznych i agronomicznych, określone w skali ciągłej, odpowiedniej dla każdej z nich. Wymienione obserwacje cech były dokonane w czasie uprawy obiektów w celu ich regeneracji w jednym środowisku na polu Ogrodu Botanicznego IHAR w Bydgoszczy (Schmidt 1985, 1987, 2002). Jednakże, zmienność obiektów na podstawie zebranych danych została przeanalizowana tylko fragmentarycznie, w odniesieniu do wybranych grup obiektów i cech, za pomocą jednocechowych metod statystycznych (Schmidt 1985, 1987, 2002). Nie wykonano dotychczas wielocechowej analizy różnorodności zgromadzonych obiektów. Celem tej pracy jest jedno- i wielowymiarowa analiza zmienności genotypowej ośmiu ilościowych cech rolniczych w obrębie 1971 obiektów kupkówki pospolitej (*Dactylis glomerata* L.), przeważnie polskich, należących do wymienionej wyżej kolekcji zasobów genowych. W pracy położono nacisk głównie na aspekty metodyczno-statystyczne, obejmujące ilustrację zastosowania i przydatności metod wielowymiarowych do wielostronnej analizy zmienności genotypowej cech ilościowych w kolekcji zasobów genowych traw.

MATERIAŁ I METODY

Material roślinny

W tej pracy rozpatrywano ocenę zmienności 1971 obiektów, pochodzących z wymienionej polskiej kolekcji zasobów genowych kupkówki pospolitej. W tabeli 1 przedstawiono listę 19 krajów, w tym 17 krajów europejskich oraz Iranu i Nowej Zelandii, z których pochodzą badane obiekty (w sensie miejsca hodowli odmian uprawnych, pozyskania obiektów dzikich w ekspedycji albo odmian lokalnych w gospodarstwie rolnym). Najwięcej obiektów pochodziło z Polski (88%), znacznie mniejszy udział miały obiekty z Niemiec (3,7%), Francji (1,6%) i byłej Czechosłowacji (1,5%). Nieliczne obiekty (1–3) pochodziły z 8 krajów europejskich oraz Iranu i Nowej Zelandii.

Tabela 1

Rozkład liczby obiektów w kolekcji zasobów genowych kupkówki pospolitej według kraju pochodzenia
Numbers of accessions in the studied orchardgrass germplasm collection originated from various countries

Kraj Pochodzenia Country of origin	Liczba obiektów Number of accessions	Udział obiektów Percentage of accessions (%)	Kraj Pochodzenia Country of origin	Liczba obiektów Number of accessions	Udział obiektów Percentage of accessions (%)
Polska Poland	1743	88,43	Szwajcaria Switzerland	4	0,2
Niemcy Germany	74	3,75	Dania Denmark	4	0,2
Francja France	32	1,62	Bułgaria Bulgaria	3	0,15
Była Czechosłowacja Former Czechoslovakia	29	1,47	Holandia The Netherlands	3	0,15
Węgry Hungary	17	0,86	Rumunia Romania	3	0,15
Szwecja Sweden	14	0,71	Iran Iran	2	0,1
Włochy Italy	11	0,56	Nowa Zelandia New Zealand	2	0,1
Finlandia Finland	10	0,51	Portugalia Portugal	2	0,1
Belgia Belgium	9	0,46	Ukraina Ukraine	1	0,05
Norwegia Norway	8	0,4			

Jak wspomniano we wstępie, badania obserwacyjne rozważanych w tej pracy ilościowych cech fenotypowych u 1971 obiektów w kolekcji zasobów genowych kupkówki pospolitej, wykonywano w trakcie reprodukcji tych obiektów w warunkach polowych na terenie Ogrodu Botanicznego Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Bydgoszczy (53.174 N, 18.046 E) w trzech dwuletnich seriach w latach od 1978 do 1983. Liczba obiektów badanych w seriach dwuletnich była zróżnicowana i wynosiła: 570 obiektów w latach 1978/79, 656 obiektów w latach 1980/81 i 745 obiektów w latach 1982/83. W każdej serii badań oceniano inny zbiór obiektów. Jednakże, we wszystkich latach obserwacji uczestniczyły te same obiekty wzorcowe, którymi były trzy odmiany uprawne, tj. Nakielska, Motycka oraz Taurus. Także nieliczne inne obiekty były badane przez więcej, niż jeden rok. Testowane obiekty w warunkach polowych w poszczególnych latach były wysadzane na pojedynczych poletkach o powierzchni 1m². Odmiany wzorcowe oceniano na takich samych pojedynczych poletkach w każdym roku, które były rozlosowane na polu doświadczalnym pomiędzy obiektami z kolekcji. We wspomnianych badaniach obserwowano osiem cech ilościowych w drugim roku od wysiewu nasion każdego z obiektów, czyli w roku rozwoju generatywnego roślin. Były to następujące cechy: wysokość roślin w fazie początku kłoszenia (cm), długość kwiatostanu (cm), długość liścia podflagowego (cm), szerokość liścia podflagowego (mm), plon zielonej masy (kg/poletko), masę 1000 ziarniaków (g), liczbę dni od 1 kwietnia do początku kłoszenia, liczbę dni od 1 kwietnia do początku kwitnienia.

Cztery cechy osobnicze badanych obiektów, tj. wysokość roślin w fazie początku kłoszenia, długość kwiatostanu, długość i szerokość liścia podflagowego określano za pomocą średniej z pomiarów dokonanych na próbie reprezentatywnej 10 roślin z poletka. Plon zielonej masy jest sumą pierwszego i drugiego pokosu. Masę 1000 ziarniaków dla obiektów oceniano na próbie reprezentatywnej, pobranej z plonu ziarniaków na całym poletku. Pomiar obu cech fenologicznych wykonano na podstawie roślin w mikrolanie (poletkach), przyjmując za datę pojawienia się danej fazy rozwojowej ten dzień, w którym 50% roślin osiągnęło fazę.

W wykonanych badaniach obserwacyjnych dla cech fenotypowych obiektów z badanej kolekcji, lata obserwacji można potraktować tak, jak niekompletne bloki z odmianami wzorcowymi. Następnie, całą strukturę empirycznych danych fenotypowych, pochodzących z obserwacyjnych badań wieloletnich, można potraktować jako podobną do tej, która odnosi się do zagnieżdżonego układu o blokach niekompletnych (ang. augmented randomized incomplete block design) — (Scott i Milliken, 1993; Hartung, 2006). W klasycznym (polowym) zagnieżdżonym układzie blokowym, w każdym bloku niekompletnym badany jest inny zbiór testowanych obiektów (Federer 1956, 1961, Petersen 1985; Padilla i in., 2005, 2007). Natomiast, w każdym bloku takich doświadczeń badane są te same, przynajmniej dwa, obiekty kontrolne (wzorcowe). Liczba obiektów kontrolnych może być różna w każdym bloku, jednak przynajmniej te same dwa obiekty muszą być wprowadzone do każdego bloku (Petersen 1985, Wolfinger i in., 1997; Sebolai i in., 2005; Hartung, 2006; Hooks i in., 2006). Wobec tego, obiekty testowane w doświadczeniu są oceniane w jednym powtórzeniu, zaś obiekty kontrolne, oceniane są w tylu powtórzeniach, co liczba niekompletnych bloków w doświadczeniu. W polowym doświadczeniu genetyczno-hodowlanym testowanymi obiektami mogą być linie podwojonych haploidów, wsobne linie hodowlane, mieszańce uzyskane z określonego układu krzyżowania lub obiekty w kolekcji zasobów genowych, zaś obiektami kontrolnymi, odmiany wzorcowe (Kempton i Gleeson, 1997; Sebolai i in., 2005; Hooks i in., 2006; Padilla i in., 2007). Biorąc pod uwagę podobieństwo konstrukcji zagnieżdżonego układu o blokach niekompletnych do statystycznego planu wieloletnich obserwacji z obiektami kolekcji zasobów genowych kupkówki pospolitej, nazwiemy plan tych badań obserwacyjnych, niekompletnym układem zagnieżdżonym o postaci obiekty $\times$ lata.

Analiza statystyczna

Metodyka badania zmienności i różnorodności genetycznej dla cech ilościowych w kolekcji roślinnych zasobów genowych składa się z następujących składników: ocena wartości genotypowych (średnich z powtórzeń lub środowisk) obiektów, ocena zmienności genotypowej obiektów pod względem każdej cechy oddzielnie (ocena zmienności jednocechowej, analiza składowych głównych na cechach standaryzowanych (syntetyczna ocena zmienności wielocechowej), analiza skupień dla obiektów na standaryzowanych wartościach genotypowych cech lub kilku pierwszych ważnych składowych głównych (ocena wielocechowej różnorodności obiektów), analiza zmiennych kanonicznych na standaryzowanych wartościach genotypowych cech dla wydzielonych grup w analizie skupień (Mohammadi i Prasanna, 2003; Islam i in., 2007; Xu, 2010).

Aby wyznaczyć wartości genotypowe obiektów dla poszczególnych cech fenotypowych u wszystkich obiektów z rozpatrywanej kolekcji, przeprowadzono analizę danych pochodzących z wieloletnich obserwacji w niekompletnym układzie zagnieżdżonym o postaci obiekty $\times$ lata na podstawie następującego modelu mieszanego analizy wariancji dla podwójnej klasyfikacji niekompletnej z jedną obserwacją w niepustej podklasie (Jahufer i in., 1997; Hartung i Piepho, 2005; Piepho i Mohring, 2005; Hartung, 2006; Pswarayi i in., 2008):

$$y_{ij} = m + g_i + r_j + e_{ij}$$

gdzie: y_{ij} jest obserwacją rozpatrywanej cechy u i -tego obiektu ($i = 1, \dots, a$) w j -tym roku ($j = 1, \dots, b$), m jest średnią ogólną, g_i jest losowym efektem głównym i -tego obiektu, r_j jest stałym efektem głównym j -tego roku, e_{ij} jest składnikiem losowym, obejmującym efekt interakcji i -tego obiektu ($i = 1, \dots, a$) z j -tym rokiem oraz błąd doświadczalny.

Losowe efekty główne dla obiektów, g_i , dotyczące każdej cechy, ze względu na niekompletność danych w klasyfikacji dwukierunkowej obiekty $\times$ lata, zostaną oszacowane za pomocą najlepszego nieobciążonego liniowego predyktora BLUP (ang. *The Best Linear Unbiased Predictor*) — (Robinson 1991, Scott i Milliken, 1993; Wolfinger i in., 1997; Hartung, 2006; Hartung i in., 2006; Littell i in., 2006).

Do wyznaczenia wartości BLUP dla obiektowych efektów głównych, g_i , zastosowano metodę największej wiarygodności z restrykcją REML (ang. *Restricted Maximum Likelihood*) — (Robinson, 1991; Wolfinger i in., 1997; Federer i in., 2001; Littell i in., 2006). Uzyskane wartości BLUP dla obiektowych efektów głównych oznaczamy za pomocą symbolu $\hat{g}_i^{BLUP}$.

W drugim kroku wyznaczono oceny wartości (średnich) genotypowych badanych obiektów, $m_i = m + g_i$, (Hu i in., 2000; Li i in., 2004; Hartung i Piepho, 2005; Piepho i Mohring, 2005; Wang i in., 2007), stosując następujący estymator:

$$\hat{m}_i = \hat{m} + \hat{g}_i^{BLUP}$$

gdzie: $\hat{m}_i$ jest nieobciążoną oceną wartości (średniej) genotypowej dla danej cechy u i -tego obiektu (oceną średniej cechy i -tego obiektu w zbiorze badanych lat), $\hat{m}$ jest oceną średniej ogólnej, $\hat{g}_i^{BLUP}$ jest oceną BLUP losowego efektu głównego dla i -tego obiektu.

Tak wyznaczone średnie genotypowe badanych obiektów, $\hat{m}_i$, oparte na wartościach BLUP dla genotypowych efektów głównych każdej cechy, zostały wykorzystane do jedno- i wielocechowej oceny różnorodności genetycznej w kolekcji zasobów genowych kupkówki pospolitej, a także do dalszych prac nad badaniem efektywności proponowanych metod pobierania próby w tworzeniu kolekcji podstawowej (Jahufer i in., 1997; Hooks i in., 2006; Xu in., 2006; Pswarayi i in., 2008; Upadhyaya i in., 2009).

Wielocechowa ocenę zmienności i różnorodności genetycznej obiektów pod względem badanych cech ilościowych w kolekcji zasobów genowych kupkówki pospolitej przeprowadzono w czterech krokach. W pierwszym kroku wykonano wstępną ocenę zmienności zbioru obiektów, oddzielnie dla każdej cechy, z wykorzystaniem metod statystyki opisowej. Wyznaczono podstawowe parametry statystyczne, takie jak średnia, odchylenie standardowe i współczynnik zmienności dla wszystkich 8 cech fenotypowych.

W drugim kroku przeprowadzono wielocechową ocenę zmienności obiektów za pomocą analizy składowych głównych (ang. principal component analysis, PCA). Analiza składowych głównych (zwana metodą PCA), służy do zredukowania danej liczby zmiennych pierwotnych (oryginalnych, wyjściowych, tj. obserwowanych w badaniach), opisujących badane obiekty, które są wzajemnie skorelowane w różnym stopniu, do mniejszej liczby nowych zmiennych syntetycznych (składowych głównych) wzajemnie nieskorelowanych, które są kombinacjami liniowymi zmiennych oryginalnych o możliwie największej zmienności wśród liniowych funkcji tych zmiennych oryginalnych (Krzyszowski, 1988; Johnson i Wichern, 2002; Rencher, 2002).

W praktycznych zastosowaniach metody PCA, co najmniej niektóre składowe główne są znacząco skorelowane z pewnymi podzbiorami zmiennych oryginalnych. Każda ze składowych głównych wyjaśnia (absorbuje, opisuje) określoną część międzyobiektywnej (całkowitej) zmienności wielocechowej. Jeśli stopień wyjaśnianej zmienności całkowitej badanych obiektów przez pierwsze dwie lub trzy składowe główne jest duży (przyjmuje się w praktyce, że powinien on przekraczać znacznie 50%), to możemy wystarczająco rzetelnie ocenić wielocechową zmienność badanych obiektów w dwu- lub trójwymiarowym układzie współrzędnych prostokątnych dla dwóch lub trzech pierwszych składowych głównych. Najbardziej pożądane jest rozwiązanie z dwiema składowymi głównymi, choć jest ono możliwe w przypadku występowania dość silnych korelacji między przynajmniej niektórymi zmiennymi oryginalnymi (Mohammadi i Prasanna, 2003). Zatem, główną zaletą metodyczną analizy składowych głównych jest umożliwienie uproszczonej, choć tylko akceptowalnie przybliżonej, oceny wizualnej wielocechowego zróżnicowania i podobieństwa badanych obiektów w układzie współrzędnych kartezjańskich o dwóch lub trzech wymiarach, którymi są odpowiednio dwie lub trzy składowe główne.

W analizie zmienności obiektów w kolekcjach zasobów genowych różnych gatunków roślin uprawnych analiza składowych głównych jest powszechnie stosowana do 1) syntetycznego opisu związków między cechami ilościowymi w obrębie zbioru obiektów, czyli wykrywania struktury korelacji lub czynników wspólnych, warunkujących zmienność wzajemne silnie lub dość silnie skorelowanych podzbiorów cech, 2) wykrywania cech posiadających relatywnie największe znaczenie (udział) w wielocechowej zmienności badanych obiektów w kolekcji, czyli największą moc dyskryminacyjną, wśród wszystkich rozpatrywanych cech, 3) oceny przybliżonego zróżnicowania i podobieństwa wielocechowego badanych obiektów w układzie współrzędnych kartezjańskich o dwóch lub trzech wymiarach, którymi są odpowiednio dwie lub trzy składowe główne (Mohammadi i Prasanna, 2003; Di Giorgio i in., 2009; Upadhyaya i in., 2011 a,b,c).

W trzecim kroku przeprowadzono badanie wielocechowej różnorodności obiektów w kolekcji w postaci grupowania (klasyfikacji) obiektów za pomocą dwóch metod analizy skupień, tj. metody UPGMA (ang. unweighted pair group method with arithmetic mean) na podstawie danych dotyczących „istotnych” składowych głównych uzyskanych w analizie PCA na standaryzowanych średnich genotypowych badanych obiektów dla ośmiu cech, obliczonych przy użyciu wartości BLUP (Di Giorgio i in., 2009; Upadhyaya i in., 2011 a,b). Jako miarę wielocechowego niepodobieństwa obiektów zastosowano kwadrat

odległości Euklidesowej (Casler i van Santen, 2000; Crossa i Franco, 2004; Mohammadi i Prasanna, 2003; Di Giorgio i in., 2009). Analiza skupień została przeprowadzona w dwóch fazach (Jaynes i in., 2003). W pierwszej fazie podzielono wszystkie badane obiekty w kolekcji na grupy (skupienia). Skupienia były otrzymane przez przecięcie dendrogramu w miejscu, które odpowiadało liczbie warstw (grup, skupień), wyjaśniających dominującą część (około 70%) całkowitej sumy kwadratów odchyleń pomiędzy rozpatrywanymi obiektami (Casler i van Santen, 2000; Mahalakshmi i in., 2007; Upadhyaya i in., 2009, 2011 a,b). To kryterium jest zaimplementowane w pakiecie statystycznym SAS i jest określane jako współczynnik determinacji R^2 (Ward, 1963; SAS Institute, 2004). W drugiej fazie, próbowano scharakteryzować naturę i wielocechową odrębność obiektów w każdej grupie, za pomocą podstawowych parametrów statystycznych, jak średnia, odchylenie standardowe i współczynnik zmienności, obliczonych dla obiektów w każdej grupie. Taką interpretację wydzielonych jednorodnych grup obiektów można znacząco wesprzeć i wzbogacić o nowe kategorie poznawcze za pomocą kolejnej metody wielowymiarowej, którą jest analiza zmiennych kanonicznych, zwana też kanoniczną analizą dyskryminacyjną (Krzanowski, 1988; Vaylay i van Santen, 2002; Jaynes i in., 2003; Hooks i in., 2006).

Zatem, w czwartym kroku wielocechowej oceny różnorodności obiektów w kolekcji zastosowano analizę zmiennych kanonicznych (ang. canonical variate analysis, CVA), zwaną też kanoniczną analizą dyskryminacyjną (ang. canonical discriminant analysis, CDA) lub kanoniczną wielokrotną analizą dyskryminacyjną (ang. canonical multiple discriminant analysis) — (Hair i in., 1987; Krzanowski, 1988; Khattree i Naik, 2000; Johnson i Wichern, 2002; Vaylay i van Santen, 2002; Yeater i in., 2004). Głównym celem zastosowania tej wielocechowej metody jest rozpoznanie cech badanych obiektów, posiadających relatywnie (wśród badanych cech) największą moc dyskryminującą pojedyncze obiekty lub grupy obiektów oraz umożliwienie graficznej prezentacji, zwykle w dwóch wymiarach, dobrze przybliżonego wielocechowego podobieństwa obiektów lub ich grup, ze szczególnym uwzględnieniem cech o największej mocy dyskryminującej (Hair i in., 1987; Krzanowski, 1988; Rencher, 1992; Vaylay i van Santen, 2002; Yeater i in., 2004; Hooks i in., 2006).

Podobnie jak w trakcie analizy składowych głównych, w trakcie interpretacji otrzymanych wyników analizy zmiennych kanonicznych, praktycznie większą przydatność posiadają współczynniki korelacji pomiędzy zmiennymi oryginalnymi, a zmiennymi kanonicznymi, nie zaś standaryzowane współczynniki zmiennych kanonicznych (Rencher, 1992; Vaylay i van Santen, 2002; Prasanna i Mohammadi, 2003). Cechy oryginalne silnie skorelowane z pierwszą zmienną kanoniczną posiadają relatywnie największy udział w tych zmiennych kanonicznych i, przez to, relatywnie największą moc dyskryminującą grupy obiektów (Hair i in., 1987; Rencher, 1992, 2002; Krzanowski, 1988; Vaylay i van Santen, 2002). Cechy silnie skorelowane z drugą i kolejnymi zmiennymi kanonicznymi posiadają odpowiednio mniejszą moc dyskryminującą grupy obiektów.

W prezentowanych badaniach, analizę składowych głównych wykonano na podstawie macierzy kowariancji w próbie standaryzowanych średnich genotypowych badanych obiektów dla ośmiu cech, obliczonych przy użyciu wartości BLUP, tj. na podstawie

macierzy korelacji, $\mathbf{R}$, średnich genotypowych badanych obiektów, $\hat{m}_i$, w skalach pierwotnych (Johnson i Wichern, 2002; Hooks i in., 2006), posługując się procedurą SAS PROC PRINCOMP (SAS Int., 2004).

Analiza zmiennych kanonicznych w prezentowanych badaniach była wykonana za pomocą procedury SAS PROC CANDISC (SAS Int., 2004) dla otrzymanych grup przy użyciu obu metod analizy skupień. W tej analizie były wzięte także standaryzowane średnie genotypowe $N = a$ obiektów, podzielonych na skupienia, dla ośmiu rozpatrywanych cech fenotypowych, podobnie jak w analizie składowych głównych.

WYNIKI I DYSKUSJA

Zmienność jednocieczowa

W tabeli 2 przedstawiono wartości podstawowych parametrów statystycznych (średniej, odchylenia standardowego, współczynnika zmienności (CV%), wartości maksymalnej i minimalnej) dla badanych cech w kolekcji 1971 obiektów kupkówki pospolitej.

Tabela 2

Charakterystyka zmienności genetycznej pod względem 8 fenotypowych cech ilościowych w kolekcji zasobów genowych kupkówki pospolitej pod względem 8 cech
Summary statistics for the 8 quantitative traits recorded in the studied orchardgrass germplasm collection

Cechy Traits	Średnia Mean	Odchylenie standardowe SD	Współczynnik zmienności CV%
Wysokość roślin (cm) Plant height (cm)	60,44	14,81	24,5
Długość kwiatostanu (cm) Inflorescence length (cm)	15,1	2,52	16,7
Długość liścia podflagowego (cm) Leaf length (cm)	22,93	0,83	3,61
Szerokość liścia podflagowego (cm) Leaf width (cm)	0,8	0,02	2,27
Plon zielonej masy (kg /poletko) Total seasonal yield (kg per plot)	2,65	0,88	33,05
Masa 1000 ziarniaków (g) 1000 kernel weight (g)	1,16	0,16	14,23
Liczba dni od 1 kwietnia do początku kłoszenia Number of days to inflorescence emergence (since the 1 st April)	52,34	0,91	1,74
Liczba dni od 1 kwietnia do początku kwitnienia Number of days to flowering (since the 1 st April)	67,06	0,81	1,21

Największą zmiennością charakteryzował się plon zielonej masy (CV% równy 33,05%) oraz wysokość roślin (CV% równy 24,5%). Także znacząco dużą zmiennością charakteryzowały się długość kwiatostanu (CV% równy 16,70%) oraz masa 1000 ziarniaków (CV% równy 14,23). Wyniki te wskazują, że obiekty zgromadzone w krajowej kolekcji zasobów genowych kupkówki pospolitej odznaczają się znaczną różnorodnością genetyczną dla cech produktywności rolniczej, tj. plonu zielonej masy oraz ważnych cech

plonotwórczych względem biomasy pastewnej i plonu nasion na roślinie, czyli wysokości roślin, długości kwiatostanu (skorelowanej z liczbą ziarniaków w kwiatostanie) i masy 1000 ziarniaków. Małą zmienność obiektów stwierdzono dla długości i szerokości liścia podflagowego (CV% równy odpowiednio 3,61 oraz 2,27), a szczególnie dla liczby dni od 1 kwietnia do początku kłoszenia i do początku kwitnienia (CV% równy odpowiednio 1,75% oraz 1,21%). Stwierdzone w prezentowanych badaniach duże wyrównanie obiektów kupkówki pospolitej pod względem dwóch cech fenologicznych, mogą wynikać z faktu, że większość z nich pochodzi z tej samej strefy klimatycznej, do której zostały przystosowane na drodze ewolucji w warunkach naturalnych. Annese i in. (2006) również stwierdzili małą różnorodność pod względem liczby dni do początku kwitnienia (wartość współczynnika zmienności kształtowała się na poziomie 2,8%) w kolekcji obiektów kupkówki pospolitej, zebranych w południowych Włoszech.

Analiza składowych głównych

W celu wykrycia cech posiadających relatywnie największe znaczenie w ogólnej (wielocechowej) zmienności badanych obiektów, czyli największą moc dyskryminacyjną wśród wszystkich rozpatrywanych cech w kolekcji kupkówki pospolitej, przeprowadzono analizę składowych głównych. Dla pierwszych trzech składowych głównych wartości własne macierzy korelacji 8 cech były wyższe od jedności (tab. 3).

Trzy pierwsze składowe główne wyjaśniały 69,58% zmienności ogólnej między obiektami. Pierwsza składowa główna wyjaśniała 34,48% ogólnej zmienności obiektów, druga składowa wyjaśniała 20,02%, a trzecia 15,08% tej zmienności w kolekcji kupkówki pospolitej. Z pierwszą składową główną relatywnie (wśród badanych cech) najsilniej ujemnie skorelowane były cztery cechy, tj. wysokość roślin ($r = -0,49$), długość kwiatostanu ($r = -0,48$) i liścia podflagowego ($r = -0,45$) oraz plon zielonej masy ($r = -0,41$).

Z jednakowego znaku współczynnika korelacji między każdą z wymienionych cech i pierwszą składową główną wynika, że te cechy były dość silnie wzajemnie skorelowane dodatnio. Zatem, pierwsza składowa główna wskazuje na istnienie tzw. wspólnego czynnika genetycznego, który warunkował jednocześnie zmienność plonu zielonej masy w drugim roku wegetacji (pierwszego roku rozwoju generatywnego roślin) i skorelowanych z nim oraz wzajemnie skorelowanych trzech wymienionych składowych plonu w badanej kolekcji. Ten wspólny czynnik genetyczny (rozumiany jako zespół poligenów) poprzez plejotropowe i (lub) sprzężone dziedziczenie był odpowiedzialny w największym stopniu za ogólną zmienność pod względem 8 cech między obiektami w kolekcji.

Z konstrukcji pierwszej składowej głównej wynika także, że wymienione 4 cechy, skorelowane relatywnie znacząco z tą składową główną, miały największe znaczenie w ogólnej (wielocechowej) zmienności obiektów zgromadzonych w badanej kolekcji, czyli najbardziej dyskryminowały te obiekty. Większość tych cech odznaczała się relatywnie dużym współczynnikiem zmienności, czyli dużą zmiennością międzyobektową (tab. 2).

Tabela 3

Współczynniki korelacji między badanymi cechami, a każdą z trzech pierwszych składowych głównych oraz wartości własne macierzy korelacji i procent ogólnej zmienności międzyobiektywnej wyjaśnionej przez te składowe główne

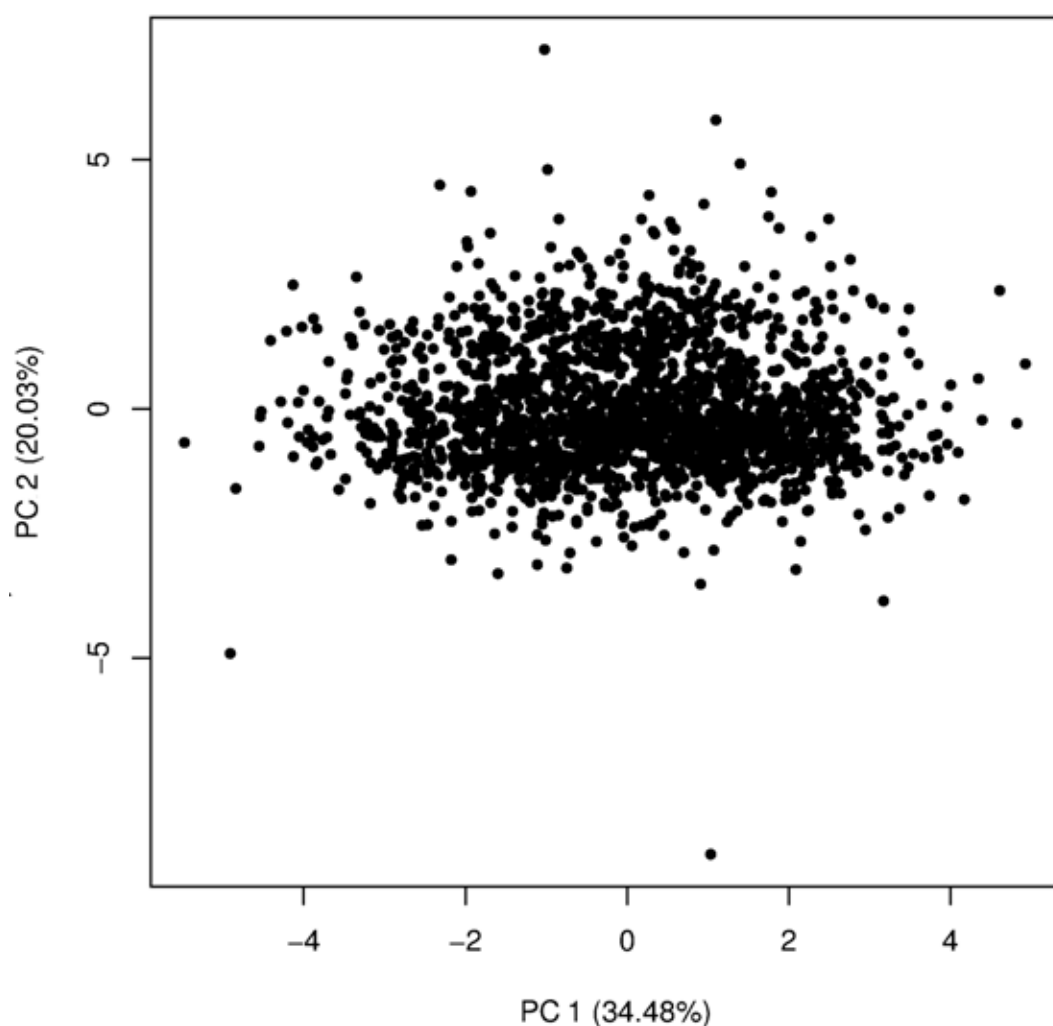
Correlation coefficients between the first three principal components and the observed traits, including also the percent of the explained total variation among the accessions

Cecha Traits	Składowa główna Principal components		
	PC1	PC2	PC3
Wysokość roślin Plant height (cm)	-0,49	-0,16	0,29
Długość kwiatostanu Inflorescence length (cm)	-0,48	-0,05	-0,26
Długość liścia podflagowego Leaf length (cm)	-0,45	0,14	-0,24
Szerokość liścia podflagowego Leaf width (cm)	-0,27	0,06	-0,68
Plon zielonej masy (kg /poletko) Total seasonal yield (kg per plot)	-0,41	-0,17	0,43
Masa 1000 ziarniaków (g) 1000 kernel weight (g)	-0,22	-0,38	0,21
Liczba dni od 1 kwietnia do początku kłoszenia Number of days to inflorescence emergence (since the 1 st April)	-0,17	0,63	0,14
Liczba dni od 1 kwietnia do początku kwitnienia Number of days to flowering e (since the 1 st April)	-0,12	0,61	0,28
Wartość własna macierzy korelacji 8 cech Eigenvalues of the correlation matrix for the 8 traits	1,66	1,27	1,10
Procent wyjaśnionej zmienności ogólnej The percent of the explained total variation	34,48	20,02	15,08
Skumulowany procent wyjaśnionej zmienności The cumulative percent of the explained total variation	34,48	54,50	69,58

Druga składowa główna była relatywnie najsilniej dodatnio skorelowana z dwiema cechami fenologicznymi, tj. z liczbą dni od 1 kwietnia do początku kłoszenia i kwitnienia (odpowiednio $r = 0,63$ i $r = 0,61$). Druga składowa główna warunkowała cechy fenologiczne, więc można ją nazwać czynnikiem genetycznym odpowiedzialnym za długość okresu wegetacji obiektów, pochodzących z kolekcji zasobów genowych kupkówki pospolitej. Natomiast, trzecia składowa główna była najsilniej ujemnie skorelowana ($r = -0,68$) z szerokością liścia podflagowego. Te wyniki wskazują, że cechy określające długość okresu wegetacji obiektów oraz szerokość liścia podflagowego miały znacznie mniejsze w ogólnej zmienności obiektów zgromadzonych w badanej kolekcji, czyli mniej dyskryminowały te obiekty, niż 4 cechy określające produktywność zielonej masy w pierwszym roku rozwoju generatywnego roślin.

Rozmieszczenie obiektów w badanej kolekcji kupkówki pospolitej w układzie dwóch pierwszych składowych głównych przedstawiono na rysunku 1. Każdy punkt na wykresie odpowiada konkretnemu obiektowi, pochodzącemu z tej kolekcji. Odległość między punktami określa w przybliżeniu wielocechowe podobieństwo pomiędzy obiektami pod względem 8 badanych cech. To przybliżenie podobieństwa obiektów jest umiarkowane, z racji tego, że dwie pierwsze składowe główne wyjaśniają około 54% ogólnej zmienności między obiektami. Zatem, im dwa obiekty są bliżej siebie na rysunku 3, tym ich wartości

dla rozpatrywanych cech są bardziej zbliżone do siebie, takie obiekty charakteryzują się dużym podobieństwem (małym zróżnicowaniem).



Rys. 1. Rozmieszczenie 1971 obiektów w kolekcji zasobów genowych kupkówki pospolitej w układzie dwóch pierwszych składowych głównych, PC1 i PC2

Fig. 1. Scatter plot of 1971 accessions of orchardgrass germplasm on the plane of the first two principal components, PC1 and PC2

Obiekty znacznie oddalone od siebie na wykresie dwóch pierwszych składowych głównych, są mało podobne do siebie, charakteryzują się one dużym zróżnicowaniem. Większość obiektów zgromadzonych w badanej kolekcji charakteryzowała się wartościami dla pierwszej i drugiej składowej głównej w okolicach zera. To znaczy, że charaktery-

zowały się one wartościami bliskimi średnich dla cech znacząco skorelowanych z tymi składowymi głównymi. Ponadto, na rysunku 1 jest zobrazowany rozkład częstości obiektów pod względem każdej z dwóch pierwszych składowych głównych, który jest zbliżony do rozkładu normalnego. Ten fakt podkreśla wyraźnie dobrą reprezentatywność analizowanej kolekcji kupkówki pospolitej w stosunku do zasobów genowych tego gatunku roślin.

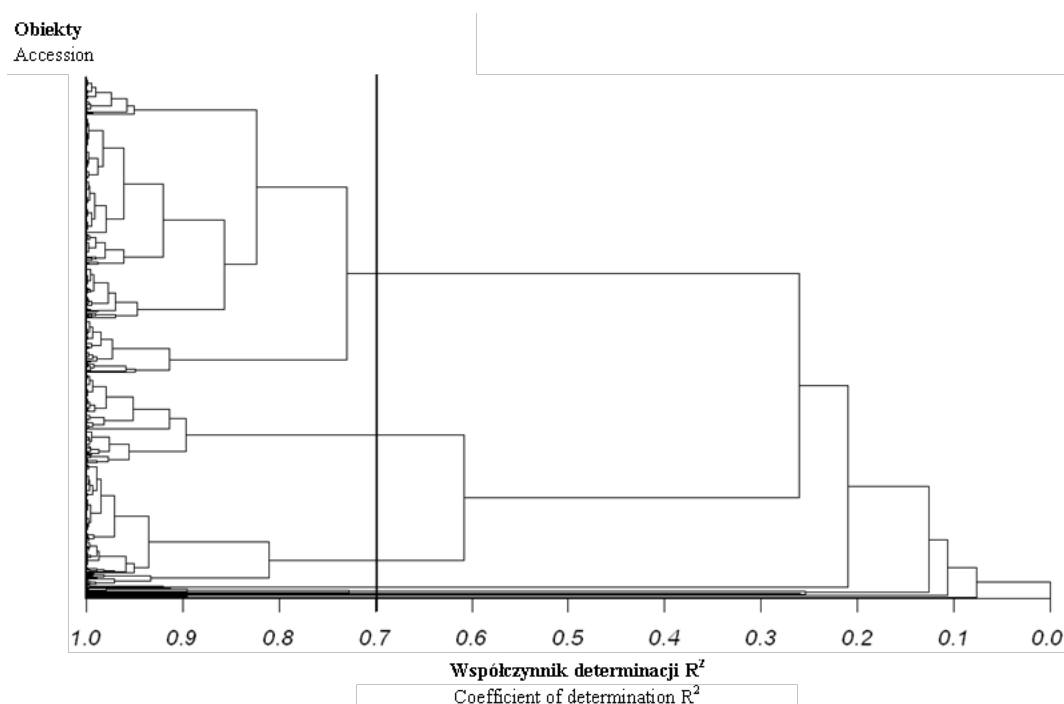
Obiekty posiadające ujemne wartości pierwszej składowej głównej charakteryzowały się wartościami powyżej średniej, czyli relatywnie dużymi, dla cech znacząco skorelowanych ujemnie z tą składową główną, tj. wysokości roślin, długości kwiatostanu i liścia podflagowego oraz plonu zielonej masy, które odznaczały się relatywnie dużą zdolnością dyskryminacyjną. Natomiast, obiekty posiadające dodatnie wartości pierwszej składowej głównej charakteryzowały się wartościami poniżej średniej dla wymienionych wyżej cech. Druga składowa główna rozróżnia obiekty szczególnie pod względem liczby dni od 1 kwietnia do początku kłoszenia i kwitnienia, które są z nią najsilniej skorelowane dodatnio. Zatem, Obiekty, dla których stwierdzono ujemne wartości pierwszej składowej, a dodatnie dla drugiej składowej (lewa górna ćwiartka w układzie współrzędnych na rysunku 1), charakteryzowały się relatywnie dużymi wartościami dla wysokości roślin, długości kwiatostanu i liścia podflagowego, plonu zielonej masy oraz dwóch cech fenologicznych. Obiekty, dla których punkty leżą w prawej dolnej ćwiartce w układzie współrzędnych na rysunku 1 odznaczały się relatywnie małymi wartościami wszystkich sześciu wymienionych cech o najwyższej zdolności dyskryminacyjnej. Natomiast obiekty, dla których punkty leżą w prawej górnej i lewej dolnej ćwiartce w układzie współrzędnych na rysunku 1 odznaczały się wartościami o relatywnie przeciwnych kierunkach dla cech skorelowanych znacząco z pierwszą i drugą składową główną. Warto zauważyć także, że frekwencja obiektów każdej ćwiartce rysunku 1 jest podobna.

Analiza składowych głównych pozwoliła wskazać te obiekty, które posiadają zróżnicowane (odmienne, różnorodne) i przeciwstawne wartości badanych cech. Takie obiekty mogą być wartościowymi, komplementarnymi, formami rodzicielskimi w programach hodowlanych kupkówki pospolitej.

Grupowanie obiektów w kolekcji

W wyniku analizy skupień, przeprowadzonej metodą UPGMA, dla 1971 obiektów w kolekcji kupkówki pospolitej, uzyskano dendrogram (rys. 2), określający kolejne aglomeracje (fuzje) tych obiektów w skupienia. Badane obiekty zostały podzielone na 10 skupień, czyli grup (warstw). Między-grupowa suma kwadratów odchyleń dla tego podziału obiektów na grupy wyjaśniała 70% całkowitej sumy kwadratów odchyleń między obiektami (Casler i van Santen, 2000; Mahalakshmi i in., 2007; Upadhyaya i in., 2009, 2011 a,b). Liczba obiektów w poszczególnych grupach wahała się w zakresie od 1118 obiektów w grupie I do jednego obiektu w grupach VIII, IX, X (tab. 4). Natomiast, zbiór badanych obiektów podzielono na 5 grup, stosując metodę Warda analizy skupień. Wyniki tworzenia skupień różnych krokach aglomeracji obiektów i grup przedstawiono w formie dendrogramu na rysunku 2. Zmienność pomiędzy pięcioma grupami wyjaśniała 70% całkowitej sumy kwadratów odchyleń między obiektami, podobnie jak w przypadku podziału obiektów na dziesięć grup za pomocą metody UPGMA. Liczebność utworzonych

grup kształtowała się w zakresie od 552 obiektów w warstwie I, do 171 obiektów w warstwie V (tab. 4).



Rys. 2. Dendrogram prezentujący 171 obiektów kupkówki pospolitej, podzielonych za pomocą metody UPGMA analizy skupień

Fig. 2. Fig. 2. UPGMA clustering tree relating the 171 orchardgrass accessions

Tabela 4

Liczba obiektów w poszczególnych grupach wydzielonych za pomocą metody UPGMA analizy skupień
Number of accessions in groups as revealed using the UPGMA clustering method

Grupa Groups	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
Liczba obiektów Number of accessions	1118	14	800	20	5	6	5	1	1	1

Różne metody analizy skupień oprócz odmiennych podstaw matematycznych, posiadają różne właściwości aplikacyjne (Crossa i Franco, 2004; Padilla i in., 2007). Metoda UPGMA posiada zdolność dzielenia obiektów na większą liczbę grup, których liczebność jest bardzo zróżnicowana. Przy użyciu tej metody zazwyczaj wydziela się od 1 do 3 grup, zawierających ponad połowę grupowanych obiektów, pozostałe grupy są znacznie mniej liczne.

Analiza zmiennych kanonicznych

Analizę zmiennych kanonicznych przeprowadzono w celu wyznaczenia cech najsilniej różnicujących (dyskryminujących) grupy obiektów, uzyskane za pomocą metody UPGMA analizy skupień, a także w celu przedstawienia dobrze przybliżonego, wielocechowego podobieństwa między grupami i wewnątrz grup oraz ich charakterystyki pod względem cech najsilniej różnicujących grupy (Hair i in., 1987; Krzanowski, 1988; Yeater i in., 2004; Hooks i in., 2006).

Pierwsze dwie zmienne kanoniczne dla 10 grup obiektów, otrzymanych metodą UPGMA, wyjaśniają 91,21% zmienności wielocechowej (w kategoriach odległości Mahalanobisa) między utworzonymi grupami, zaś tylko jedna, pierwsza, zmienna kanoniczna wyjaśnia aż 73,55% tej zmienności (tab. 5). Pierwsza zmienna kanoniczna była najsilniej dodatnio skorelowana z wysokością roślin ($r = 0,47$) oraz z liczbą dni od 1 kwietnia do początku kwitnienia ($r = 0,50$). Te dwie cechy były w największym stopniu odpowiedzialne za zróżnicowanie między 10. grupami, na które podzielono 1971 obiektów w kolekcji kupkówki pospolitej, stosując metodą UPGMA. Druga zmienna kanoniczna była znacząco skorelowana tylko z liczbą dni od 1 kwietnia do początku kłoszenia ($r = 0,42$). Zatem, ta cecha w znacznie mniejszym stopniu decydowała o wydzieleniu (zróżnicowaniu) grup obiektów, ponieważ druga zmienna kanoniczna wyjaśniała tylko 17,87% zmienności wielocechowej między 10. utworzonymi grupami.

Zatem, dwie spośród sześciu cech o relatywnie największej mocy dyskryminacyjnej pomiędzy obiektami w kolekcji kupkówki pospolitej, miały także relatywnie największą moc dyskryminacyjną pomiędzy 10. grupami obiektów. Tymi cechami są liczba dni od 1 kwietnia do początku kwitnienia oraz wysokość roślin. Zwykle nie te same cechy wykazują relatywnie największą moc dyskryminacyjną pomiędzy obiektami i grupami obiektów otrzymanymi z analizy skupień (Islam i in., 2007). Rozmieszczenie obiektów w kolekcji kupkówki pospolitej podzielonych na 10 grup metodą UPGMA przedstawiono na rysunku 6 w układzie dwóch pierwszych zmiennych kanonicznych.

Rysunek 3 obrazuje wielocechowe podobieństwo między grupami obiektów wydzielonymi za pomocą analizy skupień oraz wewnątrz grup. Krzanowski (1988) zaobserwował, że metoda UPGMA tworzyła grupy charakteryzujące się dużą wewnątrz-grupową jednorodnością obiektów. Grupy wydzielone tą metodą składały się z obiektów wielocechowo bardziej podobnych do siebie, niż te wydzielone za pomocą innych stosowanych metod analizy skupień. Na podstawie wykonanych badań nad empirycznym porównaniem efektywności dwóch metod analizy skupień, najczęściej stosowanych do oceny różnorodności genetycznej w kolekcjach roślinnych zasobów genowych, można uznać metodę UPGMA za bardziej skuteczną w takiej ocenie, niż metoda na przykład metoda Warda. Dotychczas przeprowadzone badania porównawcze metod analizy skupień, wykorzystywanych do klasyfikacji obiektów genetycznych roślin uprawnych na podstawie obserwacji cech fenotypowych, potwierdzają wyniki badań Krzanowskiego (1988). Wskazują one na lepsze odzwierciedlenie struktury różnorodności obiektów przez ich podział za pomocą metody UPGMA (Crossa i Franco, 2004; Padilla i in., 2007), niż przy użyciu innych metod analizy skupień. Dla pełnej i wiarygodnej klasyfikacji obiektów na grupy jednorodne genetycznie zaleca się wykorzystanie zarówno cech ilościowych, jak i

jakościowych pochodzących z oceny fenotypowej, czy też łączenie informacji pochodzących z oceny cech fenotypowych i własności genetycznych, dokonanej za pomocą metod inżynierii genetycznej (Franco i in., 1998; Crossa i Franco, 2004).

Charakterystyka wielocechowa grup obiektów

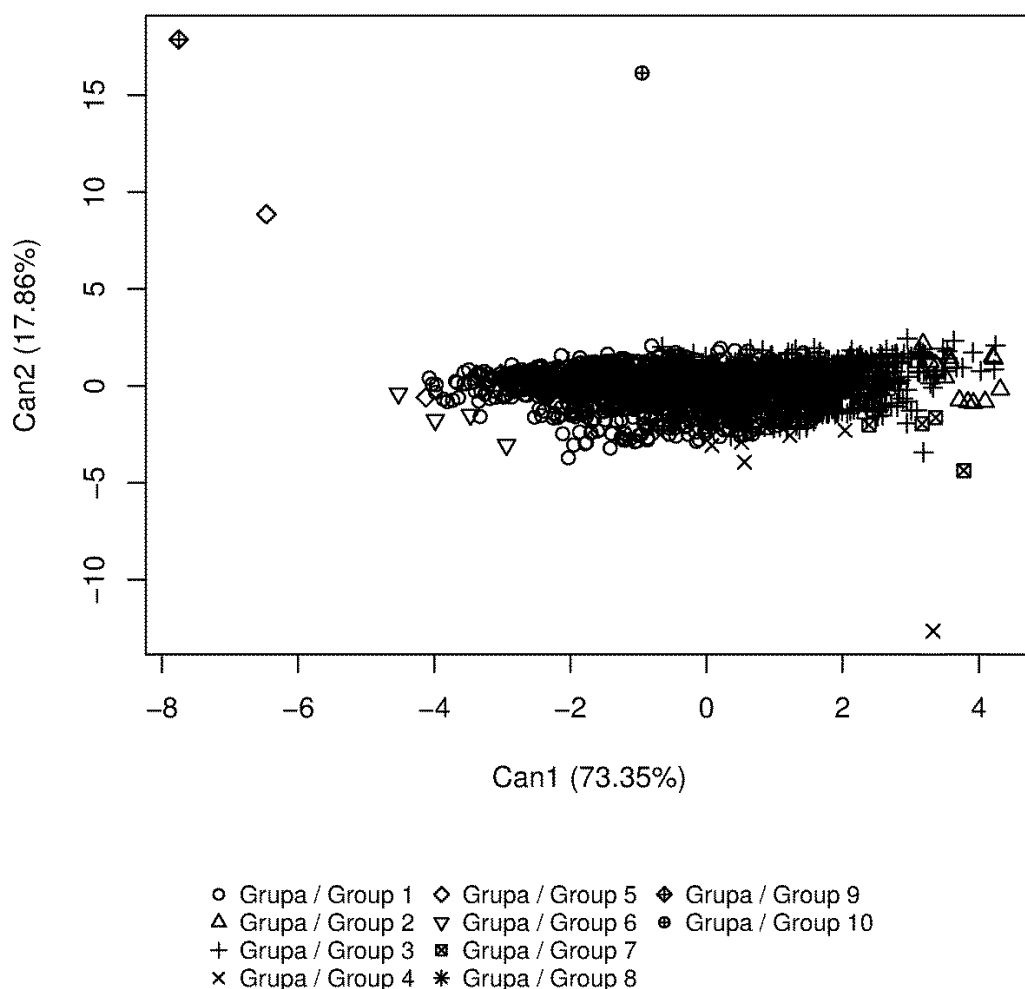
W tabeli 6 przedstawiono średnie rozpatrywanych cech dla obiektów zaliczonych do każdej grupy. Grupa 1 zawiera obiekty będące zarówno ekotypami jak i odmianami uprawnymi zebrane w Europie ale także poza nią, posiadające przeważnie ujemne, ale także dodatnie wartości dla pierwszej zmiennej kanonicznej (rys. 3). Biorąc pod uwagę dodatnie skorelowanie tej zmiennej kanonicznej z wysokością roślin i liczbą dni do kwitnienia (tab. 5), wnioskujemy, że obiekty z tej grupy charakteryzowały się relatywnie średnimi wartościami dla tych najbardziej dyskryminujących cech fenotypowych (widać to także w tabeli 6).

Tabela 5

Współczynniki korelacji między cechami, a każdą z dwóch pierwszych zmiennych kanonicznych oraz wartości własne i procent wyjaśnionej zmienności między utworzonymi grupami za pomocą metody UPGMA analizy skupień

Correlation coefficients between the first two canonical variables and the observed traits, including also the percent of the explained total variation between the 10 groups distinguished using UPGMA clustering method

Cecha Traits	Zmienne kanoniczne — Canonical variables	
	Can1	Can2
Wysokość roślin Plant height (cm)	0,47	0,15
Długość kwiatostanu Inflorescence length (cm)	0,34	0,13
Długość liścia podflagowego Leaf length (cm)	0,22	0,10
Szerokość liścia podflagowego Leaf width (cm)	0,29	0,01
Plon zielonej masy (kg /poletko) Total seasonal yield (kg per plot)	0,16	0,11
Masa 1000 ziarniaków (g) 1000 kernel weight (g)	0,12	-0,01
Liczba dni od 1 kwietnia do początku kłoszenia Number of days to inflorescence emergence (since the 1 st April)	0,17	0,42
Liczba dni od 1 kwietnia do początku kwitnienia Number of days to flowering (since the 1 st April)	0,50	-0,02
Wartość własna Eigenvalues	1,61	1,42
Procent wyjaśnionej różnorodności między skupieniami The percent of the explained diversity among clusters	73,35	17,87
Skumulowany procent wyjaśnionej różnorodności między skupieniami Cumulative percent of the explained diversity among clusters	73,35	91,22



Rys. 3. Rozmieszczenie 1971 obiektów w kolekcji kupkówki pospolitej w układzie dwóch pierwszych zmiennych kanonicznych (Can1 i Can2), otrzymanych dla 10 grup wydzielonych za pomocą metody UPGMA analizy skupień

Fig. 3. Scatter plot for 1971 accessions of orchardgrass germplasm on a plane of the first two canonical variables (Can1 and Can2) obtained for 10 groups distinguished using UPGMA cluster analysis

Grupa 2 zawiera ekotypy pochodzące z europy środkowo-wschodniej, posiadające duże dodatnie wartości dla pierwszej zmiennej kanonicznej i przeciętne wartości (bliskie zera) dla drugiej zmiennej kanonicznej. Obiekty pochodzące z tej grupy odznaczały się największą wysokością roślin (średnio 72,57 cm) spośród wydzielonych grup obiektów w kolekcji oraz dość późno zakwitły (średnia grupowa liczba dni od 1 kwietnia do kwitnienia wynosiła 67,7), są to cechy znacząco skorelowane dodatnio z pierwszą zmienną kanoniczną. Obiekty z grupy 3 w większości posiadają dodatnie wartości dla pierwszej

zmiennej kanonicznej oraz bliskie zero wartości dla drugiej zmiennej kanonicznej. Obiekty z tej grupy odznaczały się relatywnie dużą wysokością roślin (średnia grupowa wynosiła 71,35 cm) oraz jednym z najdłuższych okresów wegetacji (średnia grupowa liczba dni od 1 kwietnia do kwitnienia wynosiła 67,34), podobnie jak obiekty w grupie 2. W skład tej grupy wchodziły zarówno ekotypy, jak i odmiany pochodzące z obszaru Polski oraz różnych regionów Europy. W tej grupie znalazły się także odmiany wzorcowe: Nakielska i Motycka.

Obiekty z grupy 4 pochodziły z obszaru Polski, głównie zaś ekotypy z terenów dzisiejszych trzech województw, tj. kujawsko-pomorskiego, pomorskiego oraz warmińsko-mazurskiego. Do tej grupy została włączona także trzecia odmiana wzorcowa, Taurus. Obiekty z grupy 4 charakteryzowały się dodatnimi wartościami pierwszej zmiennej kanonicznej oraz ujemnymi dla drugiej zmiennej kanonicznej. Obiekty z tej grupy wyróżniały się najpóźniejszym kwitnieniem (średnia grupowa liczba dni od 1 kwietnia do kwitnienia wynosiła 69,9) spośród wszystkich grup obiektów w rozpatrywanej kolekcji kupkówki pospolitej, przy jednym z najniższych średnich wartości dla liczby dni od 1 kwietnia do kłoszenia (52,63).

Tabela 6

Charakterystyka fenotypowa 10. grup obiektów w kolekcji kupkówki pospolitej
Phenotypic characterization of the 10 groups in orchardgrass germplasm collection

Cechy Traits	Średnie obiektów w grupach — Mean of accession in group									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Wysokość roślin Plant height (cm)	52,87	78,74	71,35	46,07	41,58	41,17	49,59	39,70	74,94	96,04
Długość kwiatostanu Inflorescence length (cm)	13,92	19,91	16,73	13,69	13,15	9,15	16,79	17,32	15,85	26,95
Długość liścia podługowego Leaf length (cm)	22,58	24,86	23,41	22,74	22,30	20,92	23,92	22,94	21,95	25,97
Szerokość liścia podługowego Leaf width (cm)	0,79	0,83	0,80	0,79	0,79	0,74	0,82	0,85	0,80	0,83
Plon zielonej masy (kg /poletko) Total seasonal yield (kg per plot)	2,32	3,37	3,14	1,69	0,91	2,10	2,08	1,45	3,57	3,87
Masa 1000 ziarniaków (g) 1000 kernel weight (g)	1,13	1,14	1,21	0,93	1,16	1,05	0,76	0,76	1,14	0,89
Liczba dni od 1 kwietnia do początku kłoszenia Days to inflorescence emergence (since the 1 st April)	52,07	53,60	52,63	54,29	50,26	52,58	55,30	53,00	52,40	54,06
Liczba dni od 1 kwietnia do początku kwitnienia Days to flowering (since the 1 st April)	66,83	67,70	67,34	69,90	64,67	67,34	69,59	67,94	55,82	58,51

W grupie 5 zgromadzono ekotypy pochodzące z terenów Wielkopolski oraz jeden obiekt z Węgier. Grupa 5 zawierała obiekty o stosunkowo małej wysokości roślin (średnio 41,58 cm). Ekotypy zgromadzone w grupie 6 pochodziły głównie z Polski oraz po jednym obiekcie z Niemiec i Francji. Uzyskano dla nich ujemne wartości pierwszej zmiennej kanonicznej oraz bliskie zera wartości dla drugiej zmiennej kanonicznej.

Obiekty z tej grupy charakteryzowały się średnio niską wartością dla wysokości roślin (41,17 cm), oraz najkrótszym kwiatostanem (średnio 9,15 cm) spośród wszystkich wydzielonych grup obiektów w rozpatrywanej kolekcji. Obiekty z grupy 7 były ekotypami pochodzącymi z Finlandii, Norwegii, Polski oraz Rosji. Odznaczały się one stosunkowo

dużymi dodatnimi wartościami dla pierwszej zmiennej kanonicznej, przyjmowały zaś przeciętne wartości (bliskie zera) dla drugiej zmiennej kanonicznej.

Obiekty włączone do grupy 7 cechowały się późnym kwitnieniem (średnia liczba dni od 1 kwietnia do kwitnienia wynosiła 69,59). Grupy 8, 9 i 10 zawierały po jednym obiekcie. Obiekt w grupie 8 będący ekotypem pochodzącym z okolic Szczecina, charakteryzował się najniższymi roślinami (39,7 cm) oraz późnym kwitnieniem (liczba dni od 1 kwietnia do kwitnienia wynosił 67,94). Obiekt będący ekotypem w grupie 9 pochodził z terenów dzisiejszego województwa kujawsko-pomorskiego. Odznaczał się on najwcześniejszym terminem kwitnienia (liczba dni od 1 kwietnia do kwitnienia była równa 55,82). Natomiast, obiekt pochodzący z Polski, zaliczony do grupy 10, cechował się najwyższymi roślinami (96,04 cm) oraz był jednym z najpóźniej kwitnących genotypów (liczba dni od 1 kwietnia do kwitnienia wynosiła 58,51).

PODSUMOWANIE

Na podstawie przedstawionych wyników, które dotyczą zmienności genotypowej ośmiu ilościowych cech rolniczych w rozpatrywanej kolekcji zasobów genowych kupkówki pospolitej, można wyprowadzić następujące wnioski. Wysokość roślin i plon zielonej masy, są cechami o największej zmienności genotypowej spośród ośmiu badanych cech. Długość i szerokość liścia podflagowego mają, wśród badanych cech, relatywnie największe znaczenie w ogólnej (wielocechowej) zmienności obiektów, zgromadzonych w kolekcji zasobów genowych kupkówki pospolitej. Grupowanie obiektów w tej kolekcji za pomocą metody UPGMA pozwoliło utworzyć grupy o dużej wewnętrznej jednorodności i wyraźnym zróżnicowaniu międzygrupowym. Wysokość roślin, liczba dni do początku kłoszenia oraz liczba dni do początku kwitnienia miały relatywnie największe znaczenie, czyli udział w wielocechowej dyskryminacji (wydzieleniu) 10 grup obiektów w badanej kolekcji, za pomocą analizy skupień metodą UPGMA.

LITERATURA

- Amirouche N., Misser M.T. 2007. Morphological variation and distribution of cytotypes in the diploid-tetraploid complex of the genus *Dactylis* L. (*Poaceae*) from Algeria. *Plant Systematics and Evolution* 264: 157 — 174.
- Annese V., Cazzato E., Corleto A. 2006. Quantitative and qualitative traits of natural ecotypes of perennial grasses (*Dactylis glomerata* L., *Festuca arundinacea* Schreb., *Phalaris tuberosa* L., *Brachypodium rupestre* (Host) R. et S.) collected in Southern Italy. *Genetic Res. Crop Evol.* 53: 431 — 441.
- Casler M.D. 1991. Genetic variation and covariation in a population of tetraploid *Dactylis* L. accessions. *Theor. Appl. Genet.* 81: 253 — 264.
- Casler M.D., Fales S.L., McElroy A.R. 2000. Genetic progress from 40 years of orchardgrass breeding in North America measured under hay management. *Crop Sci.* 40: 1019 — 1025.
- Casler M. D., van Santen E. 2000. Patterns of variation in a collection of meadow fescue accessions. *Crop Sci.* 40: 248 — 255.
- Crossa J., Franco J. 2004. Statistical methods for classifying genotypes. *Euphytica* 153: 19 — 37.
- Di Giorgio G., Graziano D., Ruisi P., Amato G., Giambalvo D. 2009. Pheno-morphological and agronomic diversity among *Scorpiurus muricatus* (*Fabaceae*) natural populations collected in Sicily. *J. Agric. Sci.* 147: 411 — 422.

- Federer W.T. 1956. Augmented (or hoonuiaku) designs. *Hawaiian Planters Record* 2:191 — 208.
- Federer W.T. 1961. Augmented designs with one-way elimination of heterogeneity. *Biometrics* 17:447 — 473.
- Federer W.T., Reynolds M., Crossa J. 2001. Combining results from augmented designs over sites. *Agron. J.* 93: 389 — 395.
- Franco J., Crossa J., Villasenor J., Taba S., Eberhart S.A. 1998. Classifying genetic resources by categorical and continuous variables. *Crop Sci.* 38: 1688 — 1696.
- Gauthier M.F., Lumaret R. 1999. Genetic introgression on between tetraploid *Dactylis glomerata* sp. *reichenbachii* and *glomerata* in the French Alps. Insight from morphological and isoenzyme variation, plant systematic and evolution. *Plant Systematics and Evolution* 241: 219 — 234.
- Gutierrez L., Franco J., Crossa J., Abadie T. 2003. Comparing a preliminary racial classification with a numerical classification of the maize landraces of Uruguay. *Crop Sci.* 43: 718 — 727.
- Hair J. F., Anderson R.E., Tatham R. L. 1987. *Multivariate data analysis with readings*. 2nd ed. Macmillan Publ. Co., New York, USA.
- Hartung K. 2006. Biometrical approaches for analysing gene bank evaluation data on barley (*Hordeum spec.*). Ph.D Dissertation, Hohenheim University, Stuttgart, Germany.
- Hartung K., Piepho H.P. 2005. A threshold model for multiyear genebank data based on different rating scales. *Crop Sci.* 45:1045 — 1051.
- Hartung K., Piepho H.P., Knupffer H. 2006. Analysis of genebank evaluation data by using geostatistical methods. *Genetic Res. Crop Evol.* 53: 737 — 751
- Hooks T., Pedersen J.F., Marx D. B., Vogel K. P. 2006. Variation in the U.S. photoperiod insensitive sorghum collection for chemical and nutritional traits. *Crop Sci.* 46:751 — 757.
- Hu J., Zhu J., Xu H. 2000. Methods of constructing core collections by stepwise clustering with three sampling strategies based on the genotypic values of crops. *Theor. Appl. Genet.* 101:264 — 268
- Humphreys M.O. 1991. A genetic approach to the multivariate differentiation of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) cultivars. *Heredity* 66:437 — 443.
- Islam M. R., Hamid A., Khaliq O. A., Ahmed J. U., Haque M. M., Karim M. A. 2007. Genetic variability in flooding tolerance of mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek) genotypes. *Euphytica* 156: 247 — 255.
- Jahufer M. Z. Z., Cooper M., Harch B. D. 1997. Pattern analysis of the diversity of morphological plant attributes and herbage yield in a world collection of white clover (*Trifolium repens* L.) germplasm characterised in a summer moisture stress environment of Australia. *Genet. Res. Crop Evol.* 44: 289 — 300.
- Jaynes D. B., Kaspar T.C., Colvin T.S., James D.E. 2003. Cluster analysis of spatiotemporal corn yield patterns in an Iowa field. *Agron. J.* 95: 574 — 586.
- Johnson R.A., Wichern D. W. 2002. *Applied multivariate statistical analysis*. Prentice-Hall, Inc. Upper Saddle River, New York, USA.
- Kempton R.A., Gleeson A.C. 1997. Unreplicated trials. In: Kempton R.A., Fox P.N. *Statistical methods for plant variety evaluation*. Chapman & Hall, London, UK: 86 — 100.
- Khattree R., Naik D. N. 2000. *Multivariate data reduction and discrimination with SAS software*. SAS Institute Inc., Cary, USA.
- Kölliker R., Stadelmann F. J., Reidy B., Nösberger J. 1999. Genetic variability of forage grass cultivars: A comparison of *Festuca pratensis* Huds., *Lolium perenne* L. and *Dactylis glomerata* L. *Euphytica* 106: 261 — 270.
- Krzanowski W.J. 1988. *Principles of multivariate analysis: a users's perspective*. Oxford University Press, Oxford, UK.
- Li C.T., Shi, C.H., Wu, J. G., Xu, H.M., Zhang, H. Z., Ren, Y.L. 2004. Methods of developing core collections based on the predicted genotypic value of rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 108: 1172 — 1176.
- Liakat A. M., McClung A. M., Jia M. H., Kimball J. A., McCouch S. R., Eizenga G. C. 2011. A rice diversity panel evaluated for genetic and agro-morphological diversity between subpopulations and its geographic distribution. *Crop Sci.* 51: 2021 — 2035.
- Littell R. C., Milligan G. A., Stroup W. W., Wolfinger R. D., Schabenberger O. 2006. *SAS for mixed models*. SAS Institute Inc. Cary, USA.

- López I. F., Balocchi O.A., Kemp P.D., Valdés C. 2009. Phenotypic variability in *Holcus lanatus* L. in southern Chile: a strategy that enhances plant survival and pasture stability. *Crop & Pasture Sci.* 60: 768 — 777.
- Mahalakshmi V., Ng Q., Atalobhor J., Ogunisola D., Lawson M., Ortiz R. 2007. Development of a West African yam *Dioscorea spp.* core collection. *Genetic Res. Crop Evol.* 54: 1817 — 1825.
- Mohammadi S. A., Prasanna M. 2003. Analysis of genetic diversity in crop plants -salient statistical tools and considerations. *Crop Sci.* 43: 1235 — 1248.
- Majtkowski W., Żurek G., Schmidt J., Majtkowska G. 2003. Collections of grass genetic resources in Poland – source of information for distribution of species. In: Problem of grass biology Frey L. (ed.). W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences, Kraków: 219 — 227.
- Padilla G., Cartea M. E., Ordas A. 2007. Comparison of several clustering methods in grouping kale landraces. *Journal of American Society for Horticultural Science* 132: 387 — 395.
- Padilla G., Cartea M. E., Rodriguez V. M., Ord A. 2005. Genetic diversity in a germplasm collection of *Brassica rapa subsp. rapa* L. from northwestern Spain. *Euphytica* 145: 171 — 180.
- Pecetti L., Annicchiarico P., Porqueddu C., Khedim A., Abdelguerfi A. 2009. Fitting germplasm types of tall fescue and orchardgrass to different cropping environments of the Mediterranean region. *Crop Sci.* 49: 2393 — 2399.
- Peng Y., Zhang X. 2003. Progress in studies on genetic diversity of *Dactylis glomerata* L. *Journal of Plant Genetic Resources* 02: 19 — 41.
- Peng Y., Zhang X.Q., Deng Y.L., Ma X. 2008. Evaluation of genetic diversity in wild orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) based on AFLP markers. *Hereditas* 145: 174 — 181.
- Petersen R. G. 1985. Augmented designs for preliminary yield trials. *ICARDA Barley Wheat and Triticale Newsletter* 4: 27 — 32.
- Piepho H. P., Mohring J. 2005. Best Linear Unbiased Prediction of cultivar effects for subdivided target regions. *Crop Sci.* 45: 1151 — 1159.
- Pswarayi A., Eeuwijk van F.A., Ceccarelli S., Grando S., Comadran J., Russell J.R., Stanca A.M., Francia E., Pecchioni N., Akar T., Al-Yassin A., Benbelkacem A., Choumane W., Karrou M., Ouabbou H., Bort J., Araus J. L., Molina-Cano J. L., Thomas W. T. B., Romagosa I. 2008. Barley adaptation and improvement in the Mediterranean basin. *Plant Breeding* 127: 554 — 560.
- Rencher A.C. 1992. Interpretation of canonical discriminant functions, canonical varieties, and principal components. *Journal of the American Statistical Association* 46: 217 — 225.
- Rencher A.C. 2002. *Methods of multivariate analysis.* J. Wiley & Sons, New York.
- Robinson G.K. 1991. That BLUP is a good thing: the estimation of random effects. *Statistical Science* 6:15 — 51.
- Rojas W., Barriga P., Figueroa H. 2000. Multivariate analysis of the genetic diversity of Bolivian quinoa germplasm. *Plant Genetic Resources Newsletter* 122: 16 — 23.
- SAS Institute Inc. 2004. SAS on-line Doc 9.1.3 Cary, USA.
- Schmidt J. 1985. Analiza zmienności ekotypów kupkówki pospolitej (*Dactylis glomerata* L.) na podstawie materiałów z kolekcji traw. *Biul. IHAR* 158: 117 — 121.
- Schmidt J. 1987. Zmienność kupkówki pospolitej (*Dactylis glomerata* L.). *Biul. IHAR* 162: 83 — 88.
- Schmidt J. 2002. The evaluation of orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) from Bieszczady Mountains. In: Świącicki W., Naganowska B., Wolko B. (Eds.). *Broad Variation and Precise Characterization — Limitation for the Future.* Eucarpia Section Genetic Resources, Institute of Plant Genetics, Polish Academy of Sciences, Poznań: 268.
- Scott R.A., Milliken G. A. 1993. A SAS program for analysing augmented randomized complete block design. *Crop Sci.* 33: 865 — 867.
- Searle S. R. 1987. *Linear models for unbalanced data.* Wiley, New York, USA.
- Sebolai B., Pedersen J. F., Marx D.B., Boykin D.L. 2005. Effect of grid size, control plot density, control plot arrangement, and assumption of random or fixed effects on non-replicated experiments for germplasm screening. *Crop Sci.* 45: 1978 — 1984.
- Upadhyaya H. D., Dwivedi S. L., Nadaf H.L., Singh S. 2011 a. Phenotypic diversity and identification of wild *Arachis* accessions with useful agronomic and nutritional traits. *Euphytica* 118: 103 — 115.

- Upadhyaya H.D., Gowda C.L.L., Reddy K.N., Singh S. 2009. Augmenting the pearl millet core collection for enhancing germplasm utilization in crop improvement. *Crop Sci.* 49: 573 — 580.
- Upadhyaya H. D., Ravishankar C.R., Narasimhudu Y., Sarma N.D.R.K., Singh S. K., Varshney S.K., Reddy V.G., Singh S., Parzies H.K., Dwivedi S.L., Nadaf H.L., Sahrawat S., Gowda C.L.L. 2011 b. Identification of trait-specific germplasm and developing a mini core collection for efficient use of foxtail millet genetic resources in crop improvement. *Field Crops Res.* 124: 459 — 467.
- Upadhyaya H.D., Reddy K.N., Gowda C. L. L., Singh S. 2011c. Development of pearl millet minicore collection for enhanced utilization of germplasm. *Crop Sci.* 51:217 — 223.
- van Santen E., Sleper D.A. 1996. Orchardgrass. p. 503–534. In: L. E. Moser et al (ed.) Cool-season forage grasses. *Agron. Monogr.* 34. ASA, CSSA, and SSSA, Madison, WI.
- Vaylay R., van Santen E. 2002. Application of canonical discriminant analysis for the assessment of genetic variation in tall fescue. *Crop Sci.* 42: 534 — 539.
- Wang J. C., Hu J., Xu H. M., Zhang S. 2007. A strategy on constructing core collections by least distance stepwise sampling. *Theor. Appl. Genet.* 115: 1 — 8.
- Ward J. 1963. Hierarchical grouping to optimize an objective function. *Journal of the American Statistical Association* 38: 236 — 244.
- Wolfinger R.D., Federer W.T., Cordero-Brana O. 1997. Recovering information in augmented designs, using SAS PROC GLM and PROC MIXED. *Agron. J.* 89: 856 — 859.
- Xie W.G., Zhang XQ., Cai H.W., Liu W., Peng Y. 2010 a. Diversity comparison and phylogenetic relationships of cocksfoot (*Dactylis glomerata* L.) germplasm as revealed by SSR markers. *Canadian J. Plant Sci.* 90: 13 — 21.
- Xie W.G., Zhang XQ., Cai H.W., Liu W., Peng Y. 2010 b. Genetic diversity analysis and transferability of cereal EST-SSR markers to orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.). *Biochemical Systematics and Ecology* 38: 740 — 749.
- Xu Y. 2010. *Molecular plant breeding*. CAB International, Wallingford, UK.
- Yeater K. M., Bollero G.A., Bullock D.G., Rayburn A.L., Rodriguez-Zas S. 2004. Assessment of genetic variation in hairy vetch using canonical discriminant analysis. *Crop Sci.* 44: 185 — 189.
- Zeng B., Zhang X.Q., Lan Y. 2008. Evaluation of genetic diversity and relationships in orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) germplasm based on SRAP markers. *Canadian J. Plant Sci.* 88: 53 — 60.
- Žurek G., Majtkowski W. 2003. European *Dactylis* and *Festuca* database. In: Bollero B., Willner E., Maggioni L., Lipman E. Report of a Working Group on Forages. Eight meeting, 10–12 April 2003, Linz, Austria. International Plant Genetic Resources Institute, Rome: 26 — 28.

MARCIN STUDNICKI**WIESŁAW MĄDRY**

Katedra Doświadczalnictwa i Bioinformatyki, SGGW w Warszawie

Metodyka statystyczna pobierania próby do tworzenia kolekcji podstawowej roślinnych zasobów genowych: przegląd dorobku*

Sampling methodology to establish a core collection of plant genetic resources: an overview of research

Kolekcje podstawowe są podzbiorem obiektów wybranych z aktualnie zgromadzonej kolekcji (kolekcji wyjściowej) zasobów genowych, tak aby reprezentowały, z minimalną liczbą duplikatów, one różnorodność genetyczną w kolekcji wyjściowej. Tworzenie tego typu kolekcji ma na celu redukcję kolekcji wyjściowej do rozsądnej liczby obiektów co ułatwi systematyczną i pełną ocenę zmienności genetycznej w kolekcji dla wielu cech genotypowych oraz markerów molekularnych. Kolekcje podstawowe odgrywają ważną rolę w zarządzaniu i wykorzystaniu kolekcji zasobów genowych w badaniach i programach hodowli roślin. Opracowano wiele metod służących do tworzenia kolekcji podstawowych z już istniejących kolekcji roślinnych zasobów genowych. Ważnym aspektem w trakcie tworzenia kolekcji podstawowej jest dobór odpowiedniej metody pobierania próby. Metody pobierania próby są powszechnie stosowane do wyboru próby, która tworzą reprezentatywne kolekcje podstawowe z kolekcji wyjściowej.

Słowa kluczowe: kolekcje podstawowe, kolekcje zasobów genowych, metody pobierania próby

A core collection is a sample of an entire crop germplasm collection, selected to adequately represent, with a minimum of redundancies, the genetic diversity in the entire collection. The purpose of forming plant core collections is generally to reduce the entire collection to a manageable size that facilitates easier systematic and rigorous characterization and evaluation of the genetic diversity in that collection for numerous phenotypic descriptors and for molecular attributes. These activities have the key importance for effective maintaining, managing and sustainable utilization of plant genetic resources for research and crop breeding programs. Many methods have been developed to construct core collections from the entire collections. In the establishing of core collections, the specifying of an appropriate sampling strategy is critical. A sampling strategy is the methodology of selection such a sample that adequately represents the variation or diversity in a population from which has been drawn.

Key words: germplasm collection, core collections, sampling methods

* Mniejsza praca wykonana była w ramach projektu promotorskiego numer N N310 066339, przyznanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

WSTĘP

Głównymi celami działalności specjalistów pracujących dla kolekcji roślinnych zasobów genowych (zwanymi także bankami genów) są: zabezpieczenie, charakteryzowanie i ocena różnorodności genetycznej i fenotypowej oraz tworzenie łatwego dostępu do tych zasobów w celu ich wszechstronnego badania i efektywnego wykorzystania przez naukowców, hodowców i innych użytkowników obecnie i w przyszłości (van Hintum, 1999, 2000; Upadhyaya i in., 2006a, 2009, 2010; van de Wouw i in., 2010 a,b). Wiele kolekcji roślinnych zasobów genowych zawiera tak liczne obiekty, że utrudnia to realizację podstawowych celów, dla jakich je utworzono. Duża liczba obiektów w kolekcji zasobów genowych przyczynia się do trudności organizacyjnych, wzrostu kosztów utrzymania oraz słabego wykorzystania zgromadzonej różnorodności (van Hintum i in. 2000; Franco i in., 2006; Jansen i van Hintum, 2007; Yan i in., 2007; Upadhyaya i in., 2009). W celu rozwiązania tych problemów Frankel (1984), Frankel i Brown (1984) oraz Brown (1989 a,b) zaproponowali koncepcję tworzenia kolekcji podstawowych (ang. core collections). Kolekcja podstawowa dobrze reprezentuje różnorodność genetyczną dla fenotypowych cech ilościowych w zgromadzonej dotychczas (wyjściowej) kolekcji zasobów genowych, czyli jest ona reprezentatywna pod względem różnorodności genetycznej dla kolekcji wyjściowej.

W scenariuszu tworzenia kolekcji podstawowej bardzo ważna jest odpowiednia statystyczna metoda pobierania próby, czyli próbkowania (van Hintum i in., 1999, 2000; Xu i in., 2006; Li i in., 2007). Metoda pobierania próby jest sposobem wyboru podzbioru z populacji wyjściowej, który adekwatnie reprezentuje zmienność genetyczną w tej populacji. Dotychczas opracowano i zastosowano wiele metod pobierania próby z wyjściowej kolekcji roślinnych zasobów genowych, wykorzystywanych do tworzenia kolekcji podstawowych. Obejmują one pobieranie próby całkowicie losowej, metody pobierania warstwowej próby losowej i nielosowej (Brown, 1989a,b; Charmet i Balfourier, 1995; Grenier i in., 2000; Hu i in., 2000; Li i in., 2002; Upadhyaya i in., 2003, 2007, 2009; Xu i in., 2006) oraz wysublimowane inne metody pobierania próby wykorzystywane do tworzenia kolekcji podstawowych (Marita i in., 2000; Raamsdonk i Wijnker, 2000; Chandra i in., 2002; Jansen i van Hintum, 2007; Kim i in., 2007).

Dotychczas przeprowadzone badania efektywności metod pobierania próby do tworzenia kolekcji podstawowej, reprezentatywnej pod względem różnorodności genetycznej dla cech fenotypowych w kolekcji wyjściowej, nie wskazują jednoznacznie, które z metod można uznać za najefektywniejsze (optymalne) w realizacji postawionego celu (Brown i Spillane, 1999; van Hintum i in., 2000; Hu i in., 2000; Franco i in., 2005; Li i in., 2007). Dotyczy to także metod pobierania próby według innych kryteriów różnorodności genetycznej, zwłaszcza markerów DNA. Zatem, w niniejszej pracy podjęto próbę zebrania oraz opracowania literatury światowej i krajowej, przedstawiającej wyniki badań teoretycznych i empirycznych nad tworzeniem, charakterystyką i oceną porównawczą efektywności wielu metod statystycznych pobierania próby, stanowiącej kolekcję podstawową roślinnych zasobów genowych.

Podstawowe zagrożenia kolekcji zasobów genowych

Głównym celem tworzenia kolekcji roślinnych zasobów genowych jest zabezpieczenie różnorodności genetycznej, istniejącej aktualnie w obrębie gatunków roślin uprawnych i innych gatunków z nimi spokrewnionych, a także gatunków ważnych z przyrodniczego punktu widzenia, przed utratą w wyniku zastępowania lokalnych odmian przez nowoczesne odmiany uprawiane w wysoko nakładowych systemach produkcji (Hausmann i in., 2004; van de Wouw i in., 2010 a,b). Utrata różnorodności genetycznej następuje w wyniku występowania zjawiska erozji genetycznej (Ramanatha Rao i Hodgkin, 2002; van de Wouw i in., 2010 a,b). Erozja genetyczna definiowana jest jako postępujące zmniejszenie się liczby gatunków lub odmian roślin uprawnych z obszarów ich dotychczasowej uprawy. Kolekcje roślinnych zasobów genowych odgrywają coraz większą rolę w zapewnieniu żywności oraz przyczyniają się do rozwoju gospodarczego (FAO, 2010). Problemem w zapewnieniu żywności na odpowiednim poziomie ilościowym i jakościowym dla mieszkańców Ziemi, staje się przystosowanie roślin do obecnych oraz przyszłych zmian klimatycznych. Zatem, wykorzystanie roślinnych zasobów genowych w pracach hodowlanych może przyczynić się do efektywnej hodowli odmian przystosowanych do zmieniających się warunków środowiska poprzez znaczące zwiększenie ich tolerancji na stresy biotyczne i abiotyczne (Robertson i in., 1996; Ramanatha Rao i Hodgkin, 2002; van Hintum i in., 1999, 2000).

Konwencja o Różnorodności Biologicznej (Dz. U. nr 184 poz. 1532 r. 1992) ogłoszona i przyjęta podczas międzynarodowej konferencji Środowisko i Rozwój, znanej jako Szczyt Ziemi, która odbyła się w Rio de Janeiro w 1992 roku, została ratyfikowana przez Polskę w 1995 roku. Konwencja ta stanowi podstawę prawa międzynarodowego w zakresie zasobów genowych i różnorodności biologicznej, potwierdza duże znaczenie różnorodności biologicznej, stanowiącej podstawy rolnictwa i wyżywienia na świecie. Nakłada na państwa sygnatariuszy moralny obowiązek zrównoważonego gospodarowania różnorodnością genetyczną ziemi (Bulińska-Radomska, 2008; FAO, 2010). Od 2006 roku w ramach agendy FAO działa instytucja Bioversity International, zajmująca się koordynowaniem i wspieraniem międzynarodowej współpracy w zakresie zasobów genowych roślin uprawnych.

Kolekcje roślinnych zasobów genowych zawierają materiał biologiczny (materiał siewny, rośliny, albo też części roślin i kultury tkankowe *in vitro*) zebrany z dzikich populacji, odmian lokalnych, współczesnych odmian i materiałów hodowlanych, stanowiące obiekty genetyczne w tych kolekcjach (Ramanatha Rao i Hodgkin, 2002; Jansen i van Hintum, 2007). Obiekty zgromadzone w kolekcjach zasobów genowych mogą być chronione za pomocą dwóch metod — ochronę *ex situ* oraz ochronę *in situ* (Ramanatha Rao i Hodgkin, 2002). Ochrona *ex situ* umożliwia zachowanie różnorodności biologicznej roślin uprawnych poza miejscem ich naturalnego występowania. Polega ona na przeniesieniu pojedynczych roślin lub ich grup (obiektów genetycznych) z siedlisk naturalnych do innych, zwykle sztucznych warunków. Odbywa się to za pomocą następujących metod: przechowywanie diaspor generatywnych i wegetatywnych, przechowywania kultur *in vitro*, tworzenie kolekcji polowych i ogrodów botanicznych (Ramanatha Rao i Hodgkin, 2002). To postępowanie prowadzi to tworzenia kolekcji

zasobów genowych (van Hintum i in., 1999, 2000). Ochrona *in situ* oznacza zachowanie naturalnych ekosystemów występowania dziko rosnących roślin użytkowych, miejscowych populacji, odmian lokalnych i dzikich gatunków spokrewnionych z roślinami uprawnymi. Prowadzona jest on poprzez tworzenie rezerwatów przyrody i parków narodowych, zabezpieczenie różnorodności w gospodarstwie rolnym (ang. on-farm conservation) czy też w sadach i ogrodach przydomowych. W 2007 roku obszar objęty ochroną *ex situ* na świecie był równy 17,5 milionom km² (FAO, 2010).

Ochrona *ex situ* zasobów genowych jest najpowszechniejszym sposobem zabezpieczenia bioróżnorodności roślin uprawnych w kolekcjach zasobów genowych. Na całym świecie w takich kolekcjach zgromadzono około 7,4 miliona obiektów. Obecnie na świecie istnieje około 1750 banków genów, z czego 130 zawiera więcej niż 10000 obiektów. Natomiast, ogrodów botanicznych chroniących różnorodność roślin uprawnych jest ponad 2500, zgromadzono w nich około 80000 gatunków roślin (FAO, 2010). Ważnym osiągnięciem ostatnich lat jest wybudowanie Międzynarodowego Skarbcza Nasiennego w Svalbard, Norwegia (ang. The Svalbard Global Seed Vault) przez rząd Norwegii oraz prywatną fundację Global Crop Diversity Trust. Został on wybudowany w okolicach miejscowości Longyearbyen na wyspie Spitsbergen, należącej do Norwegii. Jest to skarbiec zabezpieczający nasiona oraz inny materiał biologiczny obiektów pochodzących z różnych kolekcji roślinnych zasobów genowych, przed gwałtownymi zmianami klimatu, katastrofami naturalnymi, czy konfliktami politycznymi, społecznymi lub zbrojnymi, w szczególności konfliktem atomowym.

Do największych na świecie narodowych kolekcji zasobów genowych roślin uprawnych można zaliczyć kolekcję Stanów Zjednoczonych Ameryki, która liczy ponad 500 000 obiektów. Kolejną kolekcją w rankingu według wielkości jest chińska kolekcja zasobów genowych, w której zgromadzono prawie 400 000 obiektów. Kolekcje zasobów genowych roślin uprawnych gromadzone w Indiach i Federacji Rosyjskiej liczą ponad 300 000 obiektów. Natomiast, do największych kolekcji prowadzonych przez międzynarodowe instytuty badawcze można zaliczyć kolekcję prowadzoną w Międzynarodowym Centrum Doskonalenia Kukurydzy i Pszenicy, CIMMYT (ang. International Wheat and Maize Improvement Center), w której zabezpieczonych jest 174 000 obiektów. Drugą, co do wielkości kolekcją tego typu, gromadzona w Międzynarodowym Instytucie Badawczym Rolnictwa na Terenach Suchych, ICARDA (ang. International Center for Agricultural Research in the Dry Areas) zawiera 133 000 obiektów (Robertson i in., 1996; FAO, 2010).

Polski Narodowy Program Ochrony Zasobów Genowych Roślin Użytkowych, który musieliśmy przygotować i wprowadzić w życie, jako państwo sygnatariusz Konwencji o Różnorodności Biologicznej, jest finansowany przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi. Program ten realizują 3 wyższe uczelnie, 7 branżowych instytutów, 4 stacji hodowli roślin oraz Ogród Botaniczny Centrum Zachowania Różnorodności Biologicznej Polskiej Akademii Nauk w Powsinie (Bulińska-Radomska i in., 2010). Program koordynowany jest przez Krajowe Centrum Roślinnych Zasobów Genowych IHAR oraz Radę do spraw Ochrony Zasobów Genowych, działającą przy tym Centrum. Polska jest członkiem Europejskiego Programu Ochrony Zasobów Genowych ECPGR (ang. European Cooperative Programme for Plant Genetic Resources), który został utworzony w 1980

roku. Należą do niego 43 kraje. Program ma na celu rozwój współpracy pomiędzy europejskimi kolekcjami, wyznacza standardy działania i zarządza ogólnoeuropejską bazą danych o zgromadzonych zasobach genowych roślin uprawnych AEGIS (ang. An European Genebank Integrated System). W programie uczestniczy 38 krajów europejskich. Działa on za pośrednictwem 9 rozbudowanych sieci, w tym 6 dotyczących grup roślin (zbóż, roślin pastewnych, roślin oleistych i wysokobiałkowych, warzyw i przypraw) oraz 3 sieci tematycznych. W ich kręgu zainteresowania znajduje się dokumentacja i sieć informatyczna, oraz współpraca międzynarodowa. Polska jako uczestnik Europejskiego Programu Ochrony Zasobów Genowych jest odpowiedzialna za koordynację międzynarodowych kolekcji i organizację Europejskiej Bazy Danych dla roślin z rodzaju *Secale*, *Lupinus*, *Dactylis*, *Festuca*. W polskich kolekcjach roślinnych zasobów genowych zgromadzonych jest około 75 000 obiektów. Struktura gatunkowa tych zasobów jest następująca: 35,6% obiektów zbóż, 22,3% obiektów traw, 12,2% obiektów warzyw, 9,5% obiektów motylkowych drobnonasiennych (Bulińska-Radomska i in., 2008). W Krajowym Centrum Roślinnych Zasobów Genowych IHAR znajduje się długoterminowa przechowalnia nasion, która może pomieścić 100 000 obiektów.

Jednym z głównych przyczyn występowania problemów i trudności w trakcie prowadzenia, zarządzania, oceny i wykorzystania kolekcji roślinnych zasobów genowych jest duża i ciągle rosnąca liczba obiektów. Duża liczba obiektów utrudnia realizację podstawowych celów, dla jakich powstają takie kolekcje. Duża liczba obiektów w roślinnych kolekcjach zasobów genowych wywołuje problemy w zachowaniu na odpowiednim poziomie żywotności zgromadzonego materiału biologicznego, co przyczynia się także do trudności w namnożeniu odpowiedniej ilości i odpowiedniej jakości materiału siewnego, która może zostać przekazana innym badaczom i hodowcom. Trudnością w gromadzeniu zasobów genowych są spowodowane dużą liczbą obiektów, co powoduje, że około 30% lub nawet więcej nowo gromadzonych obiektów jest duplikatami już istniejących w kolekcjach (FAO, 2010). Identyfikacja takich obiektów jest trudna, zwłaszcza w dużych kolekcjach, więc na wszelki wypadek wszystkie nowo pozyskane obiekty przyłączane są do kolekcji zasobów genowych, bez ich wcześniejszej identyfikacji i oceny. Duża liczba obiektów w kolekcjach zasobów genowych utrudnia wykonanie pełnej i właściwej oceny ich różnorodności genetycznej. Pełna i właściwa ocena różnorodności ogromnej liczby obiektów zarówno pod względem cech fenotypowych i genotypowych, jest często niewykonalna ze względów finansowych oraz organizacyjnych (odpowiedniej liczby ludzi czy wystarczająco wyposażonego zaplecza technicznego). Z ostatniego raportu dotyczącego stanu zasobów genowych na świecie (FAO, 2010) wynika, że średnio 64% obiektów scharakteryzowanych jest pod względem cech morfologicznych i agronomicznych, a tylko 14 procent obiektów jest ocenionych za pomocą markerów molekularnych i izoenzymów. Natomiast, 51% obiektów pochodzących z kolekcji zasobów genowych roślin oleistych zostało ocenionych za pomocą metod biochemicznych (markery DNA i izoenzymy), a wśród roślin ozdobnych czy roślin przyprawowych żaden z obiektów nie został oceniony pod względem różnorodności genetycznej za pomocą tych metod (FAO, 2010).

Stopień wykorzystania roślinnych zasobów genowych w Polsce jest na bardzo niskim poziomie, liczba średnio rocznie dystrybuowanych obiektów z polskich kolekcji roślin uprawnych wynosi około 5700 wysłanych (przekazanych) do odbiorców w kraju jak i zagranicą (Bulińska-Radomska i in., 2008; FAO, 2010). Około 70% tych obiektów przekazano do przeprowadzenia różnego typu prac badawczych, 20% obiektów wysłano hodowcom, a 10% obiektów przekazano innym kolekcjom na świecie w ramach wymiany. W ostatnich latach obserwuje się spadek zainteresowania hodowców z różnych części świata wykorzystaniem zgromadzonej w kolekcjach różnorodności genetycznej, w prowadzonych przez nich pracach hodowlanych (FAO, 2010). Wiele krajów oraz organizacji międzynarodowych tworzy specjalne programy wspierające hodowlę roślin uprawnych, mające na celu promowanie i informowanie o zasobach genowych oraz o możliwości ich wykorzystania.

Idea tworzenia kolekcji podstawowych

Aby sprostać wyzwaniom związanym z dużą i ciągle rosnącą liczbą obiektów w kolekcjach zasobów genowych roślin uprawnych, Frankel (1984), Frankel i Brown (1984) i Brown (1989 a,b) zaproponowali ograniczenie liczebności obiektów w istniejących kolekcjach poprzez tworzenie kolekcji podstawowej (ang. core collections) dla każdej z nich. Aktualnie istniejąca duża (liczna) kolekcja, z której powstaje kolekcja podstawowa nazywana jest kolekcją wyjściową lub całkowitą (ang. initial collection, entire collection, whole collection). Kolekcja wyjściowa może być traktowana jako populacja skończona lub nieskończona (Vencovsky i Crossa, 1999, 2003).

Kolekcja podstawowa jest podzbiorem obiektów o ograniczonej liczebności, wybranych tak z kolekcji wyjściowej, aby odzwierciedlały one (reprezentowały, przenosiły) dobrze jej różnorodność genetyczną, czyli powinna być ona pozbawiona jak największej liczby obiektów podobnych genetycznie, czyli duplikatów, które byłyby nadmierne (redundancyjne) dla zachowania różnorodności kolekcji wyjściowej (Frankel, 1984; Frankel i Brown, 1984; Brown, 1989 b, 1995; van Hintum i in., 2000; Chung i in., 2009). Pozostałe obiekty z kolekcji wyjściowej, nie włączone do kolekcji podstawowej mogą tworzyć kolekcję rezerwową (ang. reserve collection) — (Brown, 1995). Obiekty z takiej kolekcji są przekazywane do długoterminowego przechowywania, które nie wymaga częstego reprodukcji nasion oraz nie generuje dużych kosztów. Najlepiej w tym celu sprawdza się przechowywanie w warunkach kriogenicznych (van Hintum, 2000). Ocena różnorodności oraz charakterystyka obiektów zgromadzonych w kolekcji rezerwowej jest ograniczona do minimum (Skroch i in., 1998).

Kolekcje podstawowe odgrywają ważną rolę w zarządzaniu i wykorzystaniu kolekcji zasobów genowych. Stanowią jedno z podstawowych i powszechnie stosowanych narzędzi kuratora, wspomagających i usprawniających jego codzienną pracę (Brown, 1995; Skroch i in., 1998; van Hintum i in., 2000). Utworzenie kolekcji podstawowych może przyczynić się do identyfikacji braków (luk) w różnorodności biologicznej wśród obiektów zgromadzonych w aktualnie istniejącej kolekcji zasobów genowych roślin uprawnych (Upadhyaya i in., 2010; Gowda i in., 2011). Kolekcje podstawowe w trakcie dołączania nowych obiektów do kolekcji, mogą pomóc kuratorowi w podjęciu decyzji o włączeniu lub nie, takiego obiektu. Jeżeli nowy obiekt jest podobny do obiektów znajdujących się w

kolekcji podstawowej, kurator może nie włączać go do kolekcji zasobów genowych. Natomiast, jeśli nowy obiekt wyraźnie odbiega od tych, które już znajdują się w kolekcji podstawowej, to będzie on wzbogacał różnorodność w istniejącej kolekcji i dlatego warto go włączyć do kolekcji (Brown, 1995; van Hintum i in., 2000).

Materiał biologiczny (nasiona kultury *in vitro*) obiektów zgromadzonych w kolekcji podstawowej posiada wysoki priorytet w trakcie ich przechowywania. Taki materiał powinien być częściej poddawany rutynowej ocenie żywotności, niż obiekty zgromadzone w kolekcji wyjściowej. Kolekcje podstawowe są także odpowiednie do badania nowych rozwiązań przechowywania zgromadzonych zasobów roślin uprawnych, które później można bez obaw zastosować w przechowywaniu aktualnie istniejącej kolekcji (Brown, 1995, 1999). Ze względu na mniejszą liczebność obiektów w kolekcjach podstawowych, realna jest wszechstronna ocena zmienności genetycznej, która jest pośrednio także oceną kolekcji wyjściowej (Brown, 1995, 1999; van Hintum i in., 2000). Ocena zmienności genetycznej obiektów w kolekcjach zasobów genowych powinna być wykonywana na podstawie dwóch podstawowych kryteriów, tj. cech fenotypowych oraz genetycznych, przeważnie na poziomie markerów DNA lub markerów biochemicznych (Schoen i Brown, 1993; Chavarriaga-Aguirre i in., 1999; van Hintum, 1999; Grenier i in., 2000a,b; van Hintum i in., 2000; Balfourier in., 2007; Franco i in., 2005, 2006, 2010; Wang i in., 2006; van de Wouw i in., 2010b; Pagnotta i in., 2011).

Ocena zmienności genetycznej pod względem cech fenotypowych (nazywana czasami zmiennością fenotypową — Jahufer i in., 1997; Casler i van Santen, 2000; Upadhyaya i in., 2003, 2007 a; Ntundu i in., 2006; Badea i in., 2008) w kolekcjach roślinnych zasobów genowych powinna obejmować ważne ilościowe rolnicze oraz biologiczne cechy rozpatrywanego gatunku. Taka ocena obiektów zgromadzonych w kolekcji jest przeprowadzana zazwyczaj na podstawie danych z polowych obserwacji cech w czasie wegetacji (Hartung, 2006). Jednakże, aby ocena zmienności genotypowej dla ilościowych cech agronomicznych była wiarygodna na potrzeby rolnictwa, powinna być przeprowadzona w wielu środowiskach oraz powtórzona w latach (Franco i in., 1999, 2003; Upadhyaya i in., 2007 a,b; Gowda i in., 2011). Jest to możliwe tylko dla mniejszej liczby obiektów zwłaszcza tych należących do kolekcji podstawowej.

Zmienność genetyczna na poziomie markerów DNA jest oceniana za pomocą różnych, coraz to nowszych, technik inżynierii genetycznej (Chavarriaga-Aguirre i in., 1999; Kölliker i in. 1999; Ghamkhar i in., 2005; Hao i in., 2006; Franco i in., 2006; Balfourier i in., 2007; Badea i in., 2008; Peng i in., 2008; Zeng i in., 2008; van de Wouw i in., 2010 b; Xie i in., 2010; Olukolu i in., 2011). Stosowane są także zintegrowane podejścia metodyczne do oceny różnorodności zasobów genowych, które uwzględniają łącznie fenotypowe deskryptory jakościowych i ilościowych cech morfologicznych oraz agronomicznych, a także markery DNA dobrze reprezentujące genom danego gatunku roślin (Franco i in., 2001; Wang in., 2006; Badea i in., 2008; Olukolu i in., 2011). Są one najbardziej skuteczne przy wnioskowaniu o przydatności zasobów genowych do programów hodowlanych (Franco i in., 2010; van de Wouw i in., 2010b; Pagnotta i in., 2011). Taka wielostronna ocena różnorodności i charakterystyka jest w pełni wykonalna zarówno pod względem finansowym jak i organizacyjnym, tylko na ograniczonej liczbie

obiektów w kolekcji podstawowej. Obiekty zgromadzone w kolekcjach podstawowych powinny być najpierw oceniane za pomocą nowoczesnych technik inżynierii genetycznej, które są często bardzo kosztowne i czasochłonne, a więc trudne do wykonania dla dużej kolekcji zasobów genowych rozpatrywanego gatunku.

Ocenę różnorodności genetycznej pod względem markerów DNA lub biochemicznych wykonano między innymi w kolekcji podstawowej sorga cukrowego (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) — (Grenier i in., 2000b), koniczyny łąkowej (*Trifolium pratense* L.) — (Mosjidis i Klingler 2006), pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum* L.) — (Hao i in., 2006; Balfourier i in., 2007) oraz manioku jadalnego (*Manihot esculenta* Crantz) — (Chavarriaga-Aguirre i in., 1999). Natomiast ocenę różnorodności genetycznej pod względem cech fenotypowych wykonano w wielu kolekcjach podstawowych, między innymi w kolekcji podstawowej koniczyny białej (*Trifolium repens* L.) — (Jahuhu i in., 1997), sorga cukrowego (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) — (Grenier i in., 2000 a, Upadhyaya i in., 2010), orzecha ziemnego (*Arachis hypogaea* L.) — (Upadhyaya i in. 2003), kapusty warzywnej (*Brassica oleracea* L.) — (Santos i Dias, 2004), życicy trwałej (*Lolium perenne* L.) — (Schmidt 2005a,b), nikli indyjskiej (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) — (Upadhyaya i in., 2007 a), ciecierzycy pospolitej (*Cicer arietinum* L.) — (Upadhyaya i in. 2007 b) oraz melona (*Cucumis melo* L.) — (Luan i in., 2008).

Wyniki oceny różnorodności genotypowej na poziomie fenotypowym i markerów genowych w kolekcjach podstawowych powinny być łatwo dostępne dla hodowców i innych zainteresowanych badaczy. W tym celu tworzy się internetowe bazy danych, dostępne dla zainteresowanych specjalistów. Znakomitym przykładem są bazy danych ICRISAT (ang. The International Crops Research Institute for the Semi-Arid-Tropics) dla utworzonych w tym instytucie kolekcji podstawowych oraz mini kolekcji podstawowych. Są one ogólnodostępne pod adresem <http://www.icrisat.org/gene-bank-activities.htm> (weryfikacja 25.04.2012). W tych bazach danych, oprócz podstawowych informacji o obiektach w kolekcjach podstawowych (dane paszportowe, pochodzenie geograficzne, kwalifikacja systematyczna, itp.), prezentowane są także wyniki oceny różnorodności cech fenotypowych, wykonanej na podstawie polowych doświadczeń lub badań obserwacyjnych oraz wyniki oceny różnorodności genotypowej za pomocą markerów molekularnych DNA (Upadhyaya i Ortiz, 2001; Upadhyaya i in., 2002; Upadhyaya i in., 2007a; Upadhyaya i in., 2007b; Gowda i in., 2011). Podobne bazy danych utworzono dla wielkiej kolekcji zasobów genowych roślin strączkowych w ICARDA (Robertson i in. 1996).

Utworzenie kolekcji podstawowej może znacząco przyczynić się do zwiększenia stopnia wykorzystania zasobów genowych (Frankel i Brown, 1984; Robertson i in., 1996; van Hintum, 2000; Upadhyaya i Ortiz, 2001; Gowda i in., 2011). Ograniczona liczba obiektów, jaka znajduje się w kolekcji podstawowej, może być efektywnie przebadana pod względem ich adaptacji do docelowych warunków środowiskowych (Brown 1995; van Hintum, 2000; Upadhyaya i Ortiz, 2001; Upadhyaya i in., 2007 a,b; Gowda i in., 2011). Hodowca może włączyć do swojego programu większość obiektów z kolekcji podstawowej, co nie było by możliwe z obiektami znajdującymi się w kolekcji wyjściowej. Hodowcy oraz inni badacze mają znacznie większe ułatwienie w poszukiwaniu informacji

o obiektach w kolekcji podstawowej, niż w dużej kolekcji wyjściowej, a także łatwiej jest wybrać do swoich potrzeb hodowlanych obiekty wszechstronnie scharakteryzowane i ocenione (Robertson i in. 1996; van de Wouw i in. 2010 a; Upadhyaya i in., 2007 b, 2009, 2011 c).

Światowy plan działania na rzecz zachowania i zrównoważonego wykorzystania roślinnych zasobów genowych (FAO, 1996) zaleca tworzenie kolekcji podstawowych jako jednego z głównych działań, mających na celu bardziej efektywne wykorzystanie zgromadzonych i stale poszerzanych banków genów. Kolekcje podstawowe zostały zaakceptowane jako efektywne narzędzie zabezpieczenia oraz wykorzystania zgromadzonej różnorodności biologicznej. Plan postuluje, aby w pierwszej kolejności tworzyć kolekcje podstawowe dla gatunków roślin uprawnych o dużym znaczeniu gospodarczym i przyrodniczym dla regionu, kraju czy świata. Informacje o istniejących i nowo powstałych kolekcjach podstawowych powinny być intensywnie rozpowszechniane wśród kuratorów, hodowców oraz innych potencjalnych użytkowników. Dla realizacji planów ochrony zasobów genowych w poszczególnych krajach lub w obrębie gatunków roślin uprawnych, powinny zostać zapewnione z różnych źródeł międzynarodowych, państwowych i prywatnych, odpowiednie środki finansowe oraz wsparcie techniczne.

W celu upowszechnienia wiedzy i informacji o kolekcjach podstawowych wśród naukowców i kuratorów kolekcji zasobów genowych roślin uprawnych, Międzynarodowy Instytut Roślinnych Zasobów Genowych (ang. International Plant Genetic Resources Institute), a dzisiejszy Bioversity International (agenda FAO) opracował odpowiedni biuletyn techniczny (van Hintum i in., 2000). Opracowanie to przedstawia ówczesną wiedzę i doświadczenia z zakresu tworzenia, zarządzania oraz wykorzystania kolekcji podstawowych w obrębie roślinnych banków genów. Biuletyn prezentuje powszechnie stosowane procedury, metody i techniki stosowane do tworzenia kolekcji podstawowych, stanowiąc pewnego rodzaju wytyczne i instrukcje dla osób odpowiedzialnych za zarządzanie istniejącymi kolekcjami.

Kolekcje podstawowe będą zawsze znacznie mniej liczne niż kolekcje wyjściowe, z których zostały one wyłonione. Wielkość (liczebność) kolekcji podstawowej jest określana przez frakcję próby, czyli procent obiektów, które z kolekcji wyjściowej zostaną włączone do kolekcji podstawowej. Nie ma jednoznacznych norm dla wartości frakcji próby, która byłaby uznana za optymalną dla większości kolekcji roślinnych zasobów genowych. Brown (1989 b) zaproponował, aby kolekcje podstawowe nie przekraczały 10% kolekcji wyjściowej, a ich liczebność nie przekraczała 2000 obiektów. Było by odwrotnym do zamierzonego celu, gdyby kolekcja podstawowa przekraczała te wartości dla frakcji oraz liczebności obiektów — zbyt duża kolekcja podstawowa mogłaby być narażona na te same problemy i trudności, co kolekcja wyjściowa (Brown, 1995; Brown i Spillane, 1999). Frakcja większości utworzonych kolekcji podstawowych mieści się w zakresie od 5 do 20% obiektów z kolekcji wyjściowej (Brown, 1989 a; Brown i Spillane, 1999; van Hintum, 1999; van Hintum i in., 2000; Franco i in., 2005, 2006). Z kolekcji zasobów genowych liczących setki obiektów utworzono kolekcje podstawowe, nieprzekraczające 25% frakcji próby, natomiast z kolekcji wyjściowych, liczących tysiące

obiektów powstały kolekcje podstawowe nie przekraczające 5% frakcji próby (Brown, 1995; Brown i Spillane, 1999).

Upadhyaya i Ortiz (2001) zaproponowali tworzenie jeszcze bardziej zredukowanych kolekcji podstawowych z już utworzonych kolekcji podstawowych, zwanych mini kolekcjami podstawowych (ang. mini core collections). Kolekcje tego typu radykalnie ograniczają liczbę obiektów, ale jednocześnie zachowują większość różnorodności genetycznej kolekcji wyjściowej danego gatunku. Dotychczas powstałe mini kolekcje podstawowe zawierają najczęściej około 1% obiektów w kolekcji wyjściowej. Powstały one między innymi dla zasobów genowych ciecierzycy pospolitej (*Cicer arietinum* L.) — (Upadhyaya i Ortiz, 2001), sorga cukrowego (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) — (Upadhyaya i in. 2009), rospłenicy perłowej (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.) — (Upadhyaya i in. 2011c) oraz orzecha ziemnego (*Arachis hypogaea* L.) — (Upadhyaya i in. 2002; Holbrook i Dong, 2005).

Dotychczas kolekcje podstawowe utworzono w obrębie krajowych lub międzynarodowych kolekcji wyjściowych dla wielu ważnych gospodarczo roślin uprawnych o znaczeniu regionalnym lub światowym (van Hintum, 2000; FAO, 2010). W drugim raporcie FAO o zasobach genowych na świecie (FAO 2010) podkreślono znaczenie kolekcji podstawowych dla poprawy efektywności i skuteczności oceny różnorodności biologicznej oraz dla efektywniejszego wykorzystania zgromadzonych zasobów. Wiele krajów oraz instytucji międzynarodowych utworzyło kolekcje podstawowe w obrębie swoich zasobów genowych lub planują one utworzenie kolekcji podstawowych w najbliższym czasie. W wymienionym raporcie FAO zachęca się także do tworzenia kolekcji podstawowej z kolekcji wyjściowej, stanowiącej zbiór wszystkich zasobów genowych danego gatunku roślin uprawnych, zgromadzonych na świecie (FAO, 2010).

Jak dotychczas, w obrębie roślinnych kolekcji zasobów genowych prowadzonych w Polsce, powstała jedna kolekcja podstawowa dla życicy trwałej (*Lolium perenne* L.) z kolekcji zasobów genowych tego gatunku, zgromadzonej w Ogrodzie Botanicznym Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Bydgoszczy (Schmidt, 2005 a, 2005 b). Prowadzone są także prace nad utworzeniem kolekcji podstawowej dla pszenżyta jarego (*Triticosecale* Wittm.) w Instytucie Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie (Kociuba i in., 2010; Studnicki i in., 2010 a, 2010 b). Trwają także zaawansowane prace przygotowawcze do tworzenia kolekcji podstawowych innych gatunków roślin uprawnych, które są koordynowane przez Krajowe Centrum Roślinnych Zasobów Genowych IHAR (Bulińska-Radomska i in., 2008 oraz dane niepublikowane uzyskane od autorki).

Badacze przystępujący do tworzenia kolekcji podstawowej muszą podjąć trzy fundamentalne decyzje. Pierwszą z nich jest określenie wielkości kolekcji podstawowej, jako frakcji próby z kolekcji wyjściowej. Druga decyzja dotyczy wyboru kryterium (obserwowalnych zmiennych genetycznych lub fenotypowych) do oceny genetycznej różnorodności obiektów w kolekcji wyjściowej. Trzecia decyzja dotyczy wyboru (lub opracowania oryginalnej) statystycznej metody pobierania próby z kolekcji wyjściowej (van Hintum i in., 2000; Ghamkhar i in. 2008; van de Wouw i in., 2010 b).

Metody pobierania próby do tworzenia kolekcji podstawowych

Większość dotychczas opracowanych metod wyboru kolekcji podstawowych korzysta z teorii metody reprezentacyjnej (ang. sampling method) — (Neyman 1934; Cochran 1977; Thompson, 2002). Opracowano wiele metod (technik) pobierania próby, służących do tworzenia kolekcji podstawowych z już istniejących kolekcji roślinnych zasobów genowych. Metody pobierania próby, wykorzystywane do tworzenia kolekcji podstawowej, można podzielić na dwie podstawowe grupy, tj. (a) metoda całkowicie losowego wyboru próby (wybór próby losowej, czyli próby prostej) — (ang. simple random sampling) oraz (b) metody wyboru próby warstwowej (ang. stratified sampling methods) (Brown, 1989 b; Spagnoletti-Zeuli i Qualset 1993; Hu i in. 2000; van Hintum i in., 2000; Franco i in., 2005, 2006).

Metoda całkowicie losowego wyboru próby jest najprostszym sposobem tworzenia kolekcji podstawowej. Stosując tablice liczb losowych lub generatory liczb losowych (ang. random number generator) losujemy bez zwracania numery przypisane obiektom (ang. accession numbers) w kolekcji wyjściowej, które zostaną włączone do kolekcji podstawowej (van Hintum, 1999; van Hintum i in., 2000). Metoda opisana powyżej nie wymaga przeprowadzenia wcześniej oceny zmienności genetycznej obiektów, zgromadzonych w kolekcji wyjściowej. Obiekty w kolekcji wyjściowej mają równe szanse znalezienia się w kolekcji podstawowej, tzn. obiekty wybierane są do kolekcji podstawowej z takim samym prawdopodobieństwem, niezależnie od różnorodności obiektów. Metody te nie wymagają od kuratora specjalistycznej wiedzy merytorycznej o strukturze różnorodności genetycznej oraz geograficznej w kolekcji wyjściowej oraz użycia skomplikowanych narzędzi statystycznych i informatycznych (van Hintum, 2000).

Metody wyboru próby warstwowej, stosowane przy tworzeniu kolekcji podstawowej, polegają w pierwszej kolejności na podziale obiektów w kolekcji wyjściowej na grupy jednorodne (warstwy) pod względem określonych kryteriów. Jako kryteria podziału obiektów na warstwy stosowane są dane ekologiczno-geograficzne dla obiektów (Malosetti i Abadie, 2001; Chandra i in., 2002; Logozzo i in., 2007; Balfourier i in., 2007; Ghamkhar i in., 2008), odległości genetyczne między obiektami na podstawie ich wartości genotypowych dla fenotypowych cech ilościowych (van Raamsdonk i Wijnker, 2000; Crossa i Franco, 2004; Franco i in., 2005; Mahalakshmi i in., 2007; Khan i in., 2009) lub skategoryzowanych (Upadhyaya, 2003; Dwivedi i in., 2005; Upadhyaya i in., 2006 b), albo też odległości genetyczne między obiektami na podstawie ich izoenzymów lub markerów molekularnych DNA, wybranych dla genomu rozpatrywanego gatunku (McKhann i in., 2004; Ronfort i in., 2006; Franco i in., 2006; Balfourier i in., 2007). Następnie, z każdej warstwy wybierana jest losowo lub metodycznie (quasi-losowo) określona liczba obiektów do kolekcji podstawowej (van Hintum i in., 2000; Franco i in., 2005, 2006; Ghamkhar i in., 2008).

POBIERANIE PRÓBY WARSTWOWEJ DO TWORZENIA KOLEKCJI PODSTAWOWEJ

Większość ze stosowanych metod pobierania próby do tworzenia kolekcji podstawowych wykorzystuje koncepcję próby warstwowej oraz jej modyfikacje (Harch i in.,

1995; van Hintum i in., 2000; Franco i in., 2005, 2006; Ghamkhar i in., 2008). Podstawy teorii próby warstwowej stworzył profesor Jerzy Sława-Neyman w latach trzydziestych XX wieku (Neyman 1934; Franco i in. 2005, 2006). Metody pobierania próby warstwowej są kombinacjami określonych metod w obrębie każdej z trzech niżej zaprezentowanych rodzajów procedur (technik) statystycznych (van Hintum, 1999; van Hintum i in., 2000; Li i in., 2004; Liu i in., 2009):

- warstwowanie (grupowanie) obiektów w kolekcji wyjściowej,
- alokacja obiektów, czyli określenie liczb wybieranych obiektów z każdej warstwy,
- wybór obiektów z poszczególnych warstw.

Warstwowanie obiektów w kolekcji wyjściowej

W trakcie pobierania próby warstwowej do tworzenia kolekcji podstawowej w pierwszej kolejności przeprowadzane jest warstwowanie obiektów w kolekcji wyjściowej. Warstwowanie obiektów można przeprowadzić, zarówno za pomocą metod statystycznych, jak i bez ich udziału. Niektóre kolekcje podstawowe zostały utworzone metodami próby warstwowej, w których warstwowanie obiektów w kolekcji wyjściowej przeprowadzono na podstawie odpowiednich, merytorycznych kryteriów *a priori*, z wykluczeniem zastosowania metod statystycznych. W celu utworzenia kolekcji podstawowej fasoli zwyczajnej (*Phaseolus vulgaris* L.) z kolekcji tego gatunku, prowadzonej na Półwyspie Iberyjskim, obiekty pogrupowano pod względem typów nasion (Rodino i in., 2003). W trakcie tworzenia kolekcji podstawowej sorga cukrowego (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) w celu podziału kolekcji wyjściowej na warstwy wykonano klasyfikację obiektów według kryteriów taksonomicznych (Grenier i in., 2000 a). Często spotykanym sposobem warstwowania obiektów w kolekcji wyjściowej jest ich podział względem kraju pochodzenia, czy też według regionu pochodzenia obiektów (Spagnoletti Zeuli i Qualset, 1993; Malosetti i Abadie, 2001; Chandra i in., 2002; Upadhyaya i in., 2009; Logozzo i in., 2007). W pracy Li i in. (2002) zaproponowano kilka sposobów grupowania obiektów bez użycia metod statystycznych przy tworzeniu kolekcji podstawowej lokalnych odmian ryżu z prowincji Yunnan. Wykonano warstwowanie obiektów na podstawie ich barwy ziaren oraz pochodzenia geograficznego.

Do podziału obiektów z kolekcji wyjściowej za pomocą metod statystycznych, stosuje się analizę skupień (ang. *cluster analysis*), wykonywaną za pomocą różnych algorytmów aglomeracji (Crossa i in., 1995; van Hintum i in., 2000; Crossa i Franco, 2004). Przed przystąpieniem do analizy skupień należy określić odległości genetyczne (ang. *genetic distance*) pomiędzy obiektami, które stanowią miarę ich wzajemnego niepodobieństwa genetycznego (Krzanowski, 1988; Johnson i Wichern, 2002; Mohammadi i Prasanna, 2003; Reif i in., 2005). Analiza skupień pozwala na grupowanie obiektów podobnych genetycznie do siebie w grupy (warstwy) w taki sposób, aby odległości genetyczne między obiektami w różnych warstwach były możliwie jak największe, a odległości między obiektami należącymi do tej samej grupy były minimalne (Krzanowski, 1988; Johnson i Wichern, 2002; Mohammadi i Prasanna, 2003; Crossa i Franco, 2004; Franco i in., 2005, 2006). Analizę skupień obiektów w kolekcji wyjściowej można przeprowadzić na podstawie odległości genetycznych dla wartości cech fenotypowych (Jahufer i in., 1997; Franco i in., 1998; Casler i van Santen, 2000; Upadhyaya i in., 2003, 2007 a; Ntundu i in.,

2006), markerów DNA, izoenzymów (Ghamkhar i in., 2005; Franco i in. 2006; Balfourier in., 2007; Xie i in., 2010) lub łącznych danych z obu wymienionych odległości (Badea i in., 2008; Franco i in., 2010; van de Wouw i in., 2010 b; Olukolu i in., 2011; Pagnotta i in., 2011). W analizie skupień obiektów w kolekcjach zasobów genowych stosuje się różne rodzaje odległości (Reif i in., 2005). Dla danych z obserwacji markerów molekularnych DNA stosowane są przeważnie odległości Nei'a lub Jaccarda (Mohammadi i Prasanna, 2003; Reif i in., 2005). Franco i in. (2006) do klasyfikacji obiektów w kolekcji wyjściowej na podstawie markerów molekularnych DNA, zastosowali dwie inne odległości, tj. zmodyfikowaną odległość Rogera (Mosjidis i Klingler, 2006) oraz odległość Cavalli-Sforza. Natomiast, w analizie skupień obiektów w kolekcjach zasobów genowych, kiedy różnorodność genetyczną ocenia się za pomocą eksperymentalnych danych dla cech fenotypowych, stosowana jest przede wszystkim odległość Euklidesowa lub kwadrat tej odległości (Diwan i in., 1995; van Hintum i in., 2000; Crossa i Franco, 2004; Mahalakshmi i in., 2007; Khan i in., 2009), albo też odległość Mahalonobisa (Hu i in., 2000; Li i in. 2004; Xu i in., 2006). Natomiast, przy klasyfikacji kolekcji, scharakteryzowanych genetycznie za pomocą fenotypowych cech skategoryzowanych (jakościowych) i ilościowych, zaleca się zwykle stosowanie odległości Gowera (Gower, 1971; Crossa i Franco 2004; Franco i in. 2005, 2006, 2010).

Metody pobierania próby warstwowej przy tworzeniu kolekcji podstawowej uwzględniają najczęściej dwie metody analizy skupień, tj. metodę UPGMA (ang. Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) i metodę Warda (van Hintum i in., 2000; Mohammadi i Prasanna 2003; Franco i in., 2006).

Metoda UPGMA, zwana po polsku metodą średnich odległości między obiektami w skupieniach, jest hierarchiczną techniką analizy skupień. Jest ona jedną z najprostszych metod analizy skupień, powszechnie stosowaną w trakcie tworzenia drzewek filogenetycznych i jest częścią wielu narzędzi taksonomicznych, genetycznych i bioinformatycznych. Metoda ta określa odległość między dwiema grupami, jako średnią odległość pomiędzy wszystkimi parami obiektów należących do rozpatrywanych grup (Johnson i Wichern, 2002). Chavarriaga-Aguirre (1999), Mosjidis i in. (2006), Hao i in. (2006), Luan i in. (2008), Escribano i in. (2008); Ghamkhar i in. (2008) oraz Khan i in. (2009) zastosowali w trakcie tworzenia kolekcji podstawowych metodę UPGMA do warstwowania obiektów w kolekcjach wyjściowych.

W metodzie Warda (1963) w czasie aglomeracji wykorzystywane jest podejście analizy wariancji do oszacowania odległości między grupami (skupieniami). Jest ono oparte na minimalizacji wariancji wewnątrzgrupowej, liczonej przez sumę kwadratów odchyleń od średnich w grupach (ang. error sum of squares — ESS). W każdym kroku aglomeracji obiektów za pomocą metody Warda następuje połączenie (fuzja) takich dwóch grup, które tworzą nową grupę, posiadającą najniższą wartość sumy kwadratów odchyleń spośród wszystkich możliwych do utworzenia grup. To znaczy, że metoda Warda polega na takiej fuzji skupień na każdym kroku aglomeracji, która zapewnia najmniejszy przyrost wariancji wewnątrzgrupowej. Ta metoda odznacza się własnością podziału obiektów na dużą liczbę grup o małej liczebności, a powstałe grupy są jednorodne i mają zbliżoną liczebność (Crossa i Franco, 2004). Upadhyaya i Ortiz (2001), Upadhyaya i in. (2002), Dwivedi i in.

(2005), Holbrook i Dong (2005), Amalraj i in. (2006), Mahalakshmi i in. (2007), Upadhyaya i in. (2007a,b, 2009) zastosowali metodę Warda do grupowania obiektów w kolekcji wyjściowej zasobów genowych roślin uprawnych przy pobieraniu próby stanowiącej kolekcję podstawową. Franco i in. (1998, 1999, 2005, 2010) opracowali zmodyfikowaną metodę Warda (ang. Ward-Modified Location Method, Ward-MLM) i zastosowali ją do warstwowania kolekcji wyjściowej. Metoda ta umożliwia wykorzystanie obserwacji fenotypowych zarówno dla cech ilościowych, jak i jakościowych, albo wspólne obserwacje cech fenotypowych, markerów molekularnych i (lub) izoenzymów (Franco i in., 1998; Crossa i Franco, 2004). Do warstwowania obiektów w trakcie tworzenia kolekcji podstawowej, stosowano także metodę niehierarchicznej analizy skupień, zwaną metodą k-średnich (ang. k-means method) — (Grenier i in. 2001, Johnson i Wichern, 2002; Zewie i in., 2004; Amalraj i in., 2006). Charmet i Balfourier (1995) zastosowali geostatystyczną metodę (geographic contiguity constraint) podziału obiektów na warstwy w kolekcji wyjściowej życicy trwałej (*Lolium perenne* L.).

Alokacja obiektów

Po określeniu warstw (grup) wyznaczonych za pomocą analizy skupień w kolekcji wyjściowej, drugim etapem pobierania próby warstwowej jest określenie liczby obiektów z poszczególnych warstw, przekazywanych do kolekcji podstawowej. Liczby te określa się za pomocą wybranej metody alokacji obiektów (ang. allocation methods). Metody te stanowią drugi rodzaj technik (procedur) statystycznych, składających się na metody pobierania próby warstwowej. Opracowano wiele metod alokacji obiektów, które można podzielić na trzy następujące grupy (Cochran, 1977; Brown, 1989 a,b; van Hintum i in., 2000; Franco i in., 2005):

- metody alokacji oparte na liczebności obiektów w warstwach,
- metody alokacji oparte na ocenie różnorodności genetycznej obiektów w warstwach,
- metody alokacji oparte na subiektywnej ocenie i decyzji kuratora kolekcji.

Metody alokacji oparte na liczebności obiektów w warstwach

W tych metodach liczba obiektów, które przechodzą do kolekcji podstawowej z poszczególnych grup (warstw) kolekcji wyjściowej jest uzależniona od liczebności tych warstw. Brown (1989 a,b) zaproponował 3 metody alokacji obiektów, oparte na liczebności warstw, tj. alokacja stałej liczby obiektów z warstw, alokacja liczby obiektów z warstw proporcjonalnej do ich liczebności w warstwach (alokacja proporcjonalna), alokacja proporcjonalno-logarytmiczna. Są to jedne z najczęściej stosowanych metod alokacji obiektów do tworzenia kolekcji podstawowych z wykorzystaniem metod pobierania próby warstwowej (van Hintum, 2000; Franco i in., 2005; van de Wouw i in., 2010 b).

Alokacja stałej liczby obiektów z warstw w prosty sposób określa liczbę obiektów, otrzymywaną w postaci ilorazu liczby obiektów, które muszą znaleźć się w kolekcji podstawowej (wynikające z frakcji próby) oraz liczby wyróżnionych warstw. Stała liczba obiektów w warstw nie powinna przekraczać liczebności najmniej licznej grupy. Można ją wyznaczyć za pomocą następującego wzoru:

$$n^{\text{Const}} = \frac{n}{g}$$

gdzie: n określa liczebność obiektów, które zostaną przekazane do kolekcji podstawowej, g jest liczbą warstw wyznaczonych za pomocą analizy skupień lub innych kryteriów.

Liczba obiektów wybieranych z warstwy w metodzie alokacji proporcjonalnej jest wyznaczana za pomocą następującej formuły:

$$n_t^{\text{Pro}} = n \times \frac{N_t}{\sum_{t=1}^g N_t}$$

gdzie: N_t określa liczebność obiektów sklasyfikowanych w t -tej warstwie.

W alokacji proporcjonalno-logarytmicznej liczba obiektów przechodzących do kolekcji podstawowej z warstwy jest proporcjonalna do logarytmu z liczebności danej warstwy i wyraża się następująco:

$$n_t^{\text{Log}} = n \times \frac{\log(N_t)}{\sum_{t=1}^g \log(N_t)}$$

Chandra i in. (2002) zaproponowali metodę pierwiastkowej alokacji obiektów (ang. *square root allocation*). Liczba obiektów z t -tej warstwy, które zostają przekazane do kolekcji podstawowej jest proporcjonalna do pierwiastka z liczebności danej warstwy i jest wyrażona za pomocą następującej formuły:

$$n_t^{\text{SR}} = n \times \frac{\sqrt{N_t}}{\sum_{t=1}^g \sqrt{N_t}}$$

Każda z zaprezentowanych wyżej metod alokacji obiektów daje odmienne wyniki przy tworzeniu kolekcji podstawowych. Metoda alokacji proporcjonalno-logarytmicznej w porównaniu do alokacji proporcjonalnej preferuje warstwy o mniejszej liczebności. Stosując metodę proporcjonalno-logarytmiczną z warstw o mniejszej liczebności do kolekcji podstawowej przekazanych zostanie więcej obiektów, niż przy użyciu metody proporcjonalnej. Natomiast z warstw bardzo licznych w trakcie pobierania próby z zastosowaniem metody proporcjonalno-logarytmicznej przejdzie do kolekcji podstawowej stosunkowo mniej obiektów, w porównaniu do zastosowania alokacji proporcjonalnej (Brown, 1989 b; van Hintum, 2000).

Metody alokacji oparte na ocenie różnorodności genetycznej obiektów w warstwach

Metody te opierają się na ocenie różnorodności genetycznej na podstawie obserwacji zarówno markerów DNA, jak cech fenotypowych pomiędzy obiektami w poszczególnych warstwach. Z warstw charakteryzujących się relatywnie dużą różnorodnością obiektów, metody te pobierają do kolekcji podstawowej więcej obiektów, niż z warstw charakteryzujących się mniejszą różnorodnością. Dotychczas opracowano kilka metod

alokacji opartych na ocenie różnorodności genetycznej obiektów w poszczególnych warstwach.

Typowymi metodami alokacji obiektów z kolekcji wyjściowych, ocenianych za pomocą markerów DNA oraz izoenzymów jest strategia H (van Hintum, 2000). Strategia H alokacji obiektów wykorzystuje wskaźnik różnorodności genetycznej h , który można obliczyć dzięki dostarczeniu szacunkowych informacji o częstości alleli w poszczególnych loci. Liczba obiektów, które przechodzą do kolekcji podstawowej z t -tej warstwy jest proporcjonalna do wskaźnika różnorodności genetycznej obiektów w tej warstwie, h_t , czyli:

$$n_t^H = n \times \frac{h_t}{\sum_{t=1}^g h_t}.$$

Dla kolekcji wyjściowej ocenionej za pomocą markerów DNA lub izoenzymów wskaźnikiem różnorodności h jest najczęściej indeks Nei (ang. Nei's gene diversity index) — (Nei, 1973; Reif i in., 2005). Strategię H alokacji obiektów można również zastosować dla kolekcji wyjściowych ocenionych za pomocą fenotypowych cech ilościowych. Mahajan i in. (1999) wskaźnik różnorodności genetycznej h został wyznaczony za pomocą indeksu różnorodności H' Shannona-Weavera (Krebs, 1989).

Franco i in. (2005) zaproponowali 3 metody alokacji obiektów (D_1 , D_2 oraz D_3), w których liczba obiektów przechodzących do kolekcji podstawowej jest zależna od średniej odległości Gowera (Gower, 1971) pomiędzy obiektami w poszczególnych warstwach. Można stosować także inne odległości na podstawie danych pochodzących zarówno z obserwacji cech fenotypowych (ilościowych i jakościowych), jak i z obserwacji przeprowadzonych za pomocą narzędzi inżynierii genetycznej (różne typy markerów DNA, izoenzymów) (Reif i in., 2005). W metodzie D_1 (Franco i in., 2005; Franco i in., 2006) liczba obiektów przekazanych do kolekcji podstawowej z danej warstwy jest proporcjonalna do średniej odległości pomiędzy obiektami w warstwie, czyli:

$$n_t^{D_1} = n \times \frac{d_t}{\sum_{t=1}^g d_t}$$

gdzie: d_t jest średnią wartością odległości pomiędzy obiektami w t -tej warstwie.

W metodzie D_2 liczba obiektów przekazanych do kolekcji podstawowej z warstwy jest proporcjonalna do iloczynu liczebności grupy i średniej odległości pomiędzy obiektami w warstwie, czyli:

$$n_t^{D_2} = n \times \frac{N_t \times d_t}{\sum_{t=1}^g N_t \times d_t}$$

Natomiast, w metodzie D_3 liczba obiektów przekazanych do kolekcji podstawowej z warstwy jest proporcjonalna do iloczynu logarytmu liczebności warstwy i średniej odległości pomiędzy obiektami w warstwie, czyli:

$$n_t^{D_3} = n \times \frac{\log(N_t) \times d_t}{\sum_{t=1}^g \log(N_t) \times d_t}$$

W pracy Franco i in. (2005) zastosowano odległość Gowera dla cech fenotypowych ilościowych i jakościowych przy warstwowaniu wyjściowej kolekcji zasobów genowych kukurydzy zwyczajnej (*Zea mays* L.). Natomiast, w pracy Franco i in. (2006) zastosowano różne odległości genetyczne oszacowane na podstawie markerów molekularnych DNA do alokacji obiektów za pomocą metod D_1 , D_2 i D_3 przy tworzeniu kolekcji podstawowych w obrębie zasobów genowych kukurydzy zwyczajnej.

Metody alokacji obiektów oparte na subiektywnej ocenie i decyzji kuratora kolekcji

Subiektywne wyznaczenie liczby obiektów, które przechodzą do kolekcji podstawowej z każdej warstwy odbywa się na podstawie wiedzy zdobytej przez kuratora w trakcie prowadzenia i zarządzania kolekcją zasobów genowych danego gatunku rośliny uprawnej (van Hintum i in., 2000). Po przeprowadzeniu alokacji obiektów opartej na wielkości czy różnorodności poszczególnych warstw, kurator subiektywnie może zdecydować o zwiększeniu lub zmniejszeniu wyznaczonej liczby obiektów, które przechodzą do kolekcji podstawowej z warstw. Kurator może zdecydować o zmniejszeniu liczby obiektów przekazanych do kolekcji podstawowej z warstw posiadających obiekty o małym znaczeniu dla zachowania różnorodności genetycznej danego gatunku w banku genów lub/i o małym znaczeniu dla hodowli nowych odmian czy małej przydatności w badaniach naukowych. Dla warstw złożonych z obiektów o dużym znaczeniu dla zachowania różnorodności genetycznej gatunku w banku genów lub/i dużym znaczeniu w hodowli roślin, kurator może podjąć decyzję o zwiększeniu liczby alokowanych obiektów (Brown, 1995; van Hintum i in., 2000).

WYBÓR OBIEKTÓW Z POSZCZEGÓLNYCH WARSTW

Ostatnią procedurą statystyczną stosowaną w trakcie pobierania próby warstwowej jest wybór alokowanej liczby obiektów z każdej warstwy wyodrębnionej w kolekcji wyjściowej, które mają być włączone do kolekcji podstawowej. Najprostszym oraz najczęściej stosowaną metodą (sposobem) wyboru obiektów z wyróżnionych warstw kolekcji podstawowej jest wybór losowy (Cochran, 1977; Brown, 1989 a,b, 1995; van Hintum, 1999; van Hintum i in., 2000; Ghamkhar i in., 2008). Losowy wybór obiektów nie wymaga wiedzy o różnorodności genetycznej obiektów w poszczególnych warstwach.

Kolejną metodą wyboru obiektów z warstw jest subiektywny, preferowany wybór obiektów przez kuratora kolekcji (Thompson, 2002). Kurator decyduje, czy dany obiekt powinien znaleźć się w kolekcji podstawowej, a swoją decyzję podejmuje na podstawie różnych przesłanek (van Hintum, 2000; Ghamkhar i in. 2008; Chung i in., 2009). Na przykład, do kolekcji podstawowej kurator wybiera z warstw te obiekty, o których zgromadzono więcej informacji. Preferowane przez kuratora kolekcji zasobów genowych mogą być te obiekty, które już odegrały wcześniej ważną rolę w hodowli roślin, obiekty o

dużej reputacji i popularne wśród badaczy i hodowców. Kolejnym kryterium preferowanego wyboru obiektów z warstw, stosowanym przez kuratorów jest dostępność materiału biologicznego.

W trakcie wyboru próby warstwowej do tworzenia kolekcji podstawowej stosuje się także inne metody wyboru obiektów z poszczególnych warstw. Metody te wymagają zgromadzenia możliwie wszechstronnej informacji o różnorodności obiektów w kolekcji wyjściowej. Dla uzyskania takich informacji można przeprowadzić dla każdej warstwy wielocechową analizę danych, na przykład analizę składowych głównych, czy analizę skupień. Crossa i in. (1995) zaproponowali podział każdej warstwy za pomocą analizy skupień na taką liczbę podgrup (podwarstw), która jest równa liczbie obiektów alokowanych w warstwie, z przeznaczeniem ich do kolekcji podstawowej. Z każdej tak powstałej podwarstwy losowo wybierany jest jeden obiekt. Noirot i in. (1996) zaproponowali metodę wyboru obiektów z poszczególnych warstw opartą na wartościach składowych głównych (ang. principal component scoring, *PCS*). Jest to metoda iteracyjna, maksymalizująca wartość uogólnionej sumy kwadratów (ang. generalized sum of square, *GSS*), której celem jest wybranie alokowanej liczby obiektów z każdej warstwy w taki sposób, aby charakteryzowały się one największą różnorodnością pod względem wartości składowych głównych. Autorzy metody zastosowali ją do tworzenia kolekcji podstawowej na podstawie sztucznych danych dla cech ilościowych obiektów w kolekcji wyjściowej. Stwierdzili oni skuteczność metody *PCS* w tworzeniu kolekcji podstawowej o dużym stopniu reprezentatywności pod względem różnorodności genetycznej. Stosując metodę *PCS* utworzono kolekcję podstawową zasobów genowych trzciny cukrowej (*Saccharum officinarum* L.), opierając się na zmienności cech ilościowych w kolekcji wyjściowej (Balakrishnan i in., 2000) oraz sorga cukrowego (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), opierając się na zmienności markerów molekularnych w kolekcji wyjściowej (Grenier i in., 2000 b). Studnicki i in. (2009) zastosował wartości pierwszej zmiennej kanonicznej, wyznaczonej dla obiektów w kolekcji wyjściowej scharakteryzowanych za pomocą cech ilościowych, jako kryterium wyboru obiektów z poszczególnych warstw. Do kolekcji podstawowej włączono obiekty o skrajnych (maksymalnych i minimalnych) wartościach pierwszej zmiennej kanonicznej.

MODYFIKACJE METOD PRÓBY WARSTWOWEJ DO TWORZENIA KOLEKCJI PODSTAWOWEJ

Do tworzenia kolekcji podstawowych nie stosuje się wyłącznie metod wykorzystujących klasyczne podejście próby warstwowej. Opracowano wiele metod tworzenia kolekcji podstawowych, będących modyfikacjami metod pobierania próby warstwowej. Jedną z nich jest strategia M (ang. maximization strategy lub M-strategy), zaproponowana przez Schoen i Brown (1993). Metoda ta pozwala wybrać takie obiekty, aby kolekcja podstawowa cechowała się możliwie maksymalną liczbą alleli w obrębie rozpatrywanych *loci* dla markerów molekularnych. W iteracyjny sposób wyszukuje się takiej kombinacji obiektów, aby zmaksymalizować bogactwo alleli w nowo utworzonej kolekcji podstawowej. Strategia M określa liczbę obiektów z poszczególnych warstw wybieranych

do kolekcji podstawowej oraz wskazuje konkretnie te obiekty. Zatem, jest ona połączeniem zarówno metody alokacji obiektów, jak i metody wyboru obiektów z warstw do kolekcji podstawowej. Strategia M jest najczęściej stosowaną metodą do tworzenia kolekcji podstawowej na podstawie danych dla markerów molekularnych u obiektów (Gouesnard i in., 2001, 2005; Franco i in., 2006; Kim i in., 2007). Strategię M zastosowano z powodzeniem przy tworzeniu wielu kolekcji podstawowych, między innymi dla koniczyny (*Trifolium* sp.) — (Ghamkhar i in., 2005), kukurydzy zwyczajnej (*Zea mays* L.) — (Gouesnard i in., 2005; Franco i in., 2006), rzodkiewnika pospolitego (*Arabidopsis thaliana* L.) — (McKhann i in., 2004; Ronfort i in., 2006) winorośli właściwej (*Vitis vinifera* L.) — (Barnaud i in. 2006) oraz pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum* L.) — (Balfourier i in., 2007). Zastosowano tą strategię również w celu utworzenia mini kolekcji podstawowej dla kolekcji zasobów genowych ryżu siewnego (*Oryza sativa* L.) — (Agrama i in., 2009; Zhang i in., 2011). Opracowano także programy komputerowe, mające na celu aplikację strategii M do tworzenia kolekcji podstawowych. Pierwszym z nich jest program MSTRAT (Gouesnard i in. 2001), aktualną wersję można za darmo pobrać ze strony autora programu <http://www.ensam.inra.fr/gap/MSTRAT/> (weryfikacja 25.04.2012). Kolejną aplikacją do tworzenia kolekcji podstawowych, stosującą strategię M, jest program PowerCore (Kim i in., 2007). Wykorzystuje on algorytm heurystycznego wyszukiwania (ang. heuristic search algorithm) optymalnej kombinacji obiektów, które powinny znaleźć się w kolekcji podstawowej. Jest to ten sam algorytm, który stosuje się między innymi do rozwiązywania problemu komiwojażera (ang. traveling salesman problem). Algorytmy tego typu są powszechnie stosowane w różnych narzędziach bioinformatycznych, na przykład do przeszukiwania i odnajdywania sekwencji aminokwasowych.

Kolejną metodą tworzenia kolekcji podstawowej, stanowiącą modyfikację warstwowego pobierania próby, jest zaproponowana przez Jansena i van Hintuma (2007) metoda pobierania próby obiektów do kolekcji podstawowej oparta na odległościach genetycznych (ang. genetic distance sampling). Pierwszym krokiem w tej metodzie jest wyznaczenie macierzy odległości genetycznych dla obiektów w kolekcji wyjściowej. Pierwszy obiekt jest wybierany losowo ze zbioru wszystkich obiektów w kolekcji wyjściowej. W kolejnym etapie z kolekcji wyjściowej eliminowane są te obiekty, których odległości od obiektu wybranego do kolekcji podstawowej są mniejsze, niż pewna wartości r . Z takiej okrojonej listy obiektów wybierany jest losowo kolejny obiekt, operacja eliminacji obiektów znowu jest powtarzana. Obiekty z kolekcji wyjściowej wybierane są do kolekcji podstawowej dotąd, aż zredukowany zbiór obiektów w kolekcji wyjściowej zostaje pusty. Wielkość otrzymanej kolekcji podstawowej jest różna w zależności od wybranej wartości r . Im mniejsza jest wartość tego parametru, tym otrzymamy większą (liczniejszą) kolekcję podstawową. Zwiększenie wartości r przyczynia się do ograniczenia wielkości kolekcji podstawowej. Wielkość kolekcji podstawowej przy zastosowaniu tej metody nie jest powtarzalna; za każdym razem, gdy ją zastosujemy możemy otrzymać kolekcję podstawową o różnej liczebności, ale także o różnym składzie obiektów. W celu eliminacji tej niedogodności autorzy proponują zastosowanie swojej metody dla kolekcji wyjściowej, która wcześniej została poddana warstwowaniu. Zatem, dla każdej warstwy wykonywana jest osobno procedura opisana wyżej. Dzięki zastosowaniu proponowanej metody, z

warstw o dużej wartości przeciętnej wewnątrzgrupowej odległości genetycznej, wybieranych jest stosunkowo więcej obiektów do kolekcji podstawowej, niż z warstw charakteryzujących się małymi wartościami przeciętnej wewnątrzgrupowej odległości.

Metoda tworzenia kolekcji podstawowej zaproponowana przez Diwana i in. (1994) jest kolejną modyfikacją metod warstwowego wyboru próby. Modyfikacja ta polega na powtórным warstwowaniu obiektów w każdej warstwie wyróżnionej w pierwszym kroku. Każda warstwa jest dzielona na tyle grup (podwarstw), ile obiektów ma przejść do kolekcji podstawowej (ile wynosi liczba alokowanych obiektów w tej warstwie). Z każdej tak utworzonej podwarstwy wybiera się losowo jeden obiekt, który zostaje przekazany do kolekcji podstawowej. Autorzy proponują również alternatywny sposób wyboru obiektów z każdej utworzonej podwarstwy. Wybór jednego obiektu opiera się na różnorodności obiektów zgromadzonych w poszczególnych podwarstwach (ang. Relative Diversity Method). To podejście zastosowano do utworzenia kolekcji podstawowej w obrębie krajowych zasobów genowych lucerny (*Medicago sp.*) w USA (Diwan i in., 1995) oraz kukurydzy zwyczajnej (*Zea mays* L.), w obrębie urugwajskiej kolekcji wyjściowej zasobów genowych tego gatunku (Malosetti i Abadie, 2001).

Kolejną metodą wykorzystywaną do tworzenia kolekcji podstawowej jest metoda krokowego przeprowadzania analizy skupień (ang. stepwise clustering), zaproponowana przez Hu i in. (2000). Wykorzystując analizę skupień za pomocą metody UPGMA lub metody Warda tworzony jest dendrogram. Przecięcie dendrogramu następuje w miejscu, przy którym tworzone są grupy zawierające maksymalnie dwa obiekty. Do kolejnej analizy skupień przekazywane są obiekty wybrane z grup zawierających dwa obiekty. Z grup zawierających jeden obiekt, bezpośrednio jest on przekazywany do kolejnej analizy skupień. Kolejna analiza skupień wykonywana jest na podstawie nowo wyznaczonej macierzy odległości dla wybranych lub przekazanych z poprzedniej analizy skupień obiektów. Analizę skupień przeprowadza się do momentu, gdy wielkość utworzonej kolekcji podstawowej nie przekracza 20–30% kolekcji wyjściowej. Autorzy krokowej analizy skupień zaproponowali trzy metody wyboru obiektów z każdej warstwy zawierającej dwa obiekty, które przechodzą do kolejnej analizy skupień. Pierwszą z nich jest losowy wybór obiektów z podwarstw zawierających dwa obiekty, natomiast z grup zawierających jeden obiekt, przechodzi on do kolejnego etapu analizy skupień. Drugim zaproponowanym sposobem wyboru obiektów z grupy jest subiektywny wybór obiektów (ang. preferred sampling), składających się z dwóch obiektów przez kuratora kolekcji wyjściowej. Do dalszych etapów w trakcie tworzenia kolekcji podstawowych przez kuratora mogą być wybierane te obiekty, które charakteryzują się minimalnymi lub maksymalnymi wartościami dla rozpatrywanej cechy lub cech. Trzeci zaproponowany sposób wyboru obiektów z dwu obiektowej grupy jest oparty na porównaniu różnorodności; do kolejnego etapu analizy skupień wybierane są obiekty cechujące się większą różnorodnością. Jeszcze inną metodą wyboru obiektów do ponownego przeprowadzenia analizy skupień z grupy zawierającej dwa obiekty zaproponowali Wang i in. (2007). Według nich, do następnego etapu analizy skupień wybierane są te obiekty, które cechują się najniższymi wartościami odległości w grupach z dwoma obiektami (ang. least distance strategy). Metodę krokowej analizy skupień zastosowano między innymi to utworzenia

kolekcji podstawowej bawełny (*Gossypium* L.) — (Hu i in., 2000; Xu i in., 2006; Wang i in., 2007; Wang i in. 2008), ryżu siewnego (*Oryza sativa* L.) — (Li i in., 2004) oraz bakłażanu — psianki podłużnej (*Solanum melongena*) — (Weihai i in., 2008).

OCENA EFEKTYWNOŚCI METOD POBIERANIA PRÓBY W TWORZENIU KOLEKCJI PODSTAWOWYCH

Ze względu na dużą różnorodność metod pobierania próby, stosowanych do tworzenia kolekcji podstawowych, ważnym celem badawczym staje się empiryczna ocena efektywności proponowanych metod. Zadaniem takiej oceny jest wskazanie dla przykładowych kolekcji wyjściowych, która z proponowanych metod lub grupa metod pozwala na utworzenie kolekcji podstawowych w najwyższym stopniu reprezentatywnych pod względem różnorodności genetycznej, to znaczy przenoszących (zachowujących) możliwie największą część różnorodności genetycznej obiektów zgromadzonych w kolekcji wyjściowej, pozbywając się jednocześnie duplikatów (obiektów genetycznie podobnych do siebie).

W dotychczasowych pracach nad oceną efektywności metod pobierania próby w tworzeniu kolekcji podstawowej można spotkać dwa podejścia. Pierwsze z nich polega na ocenie reprezentatywności w klasycznym rozumieniu statystycznym (reprezentatywności pod względem zmienności genetycznej) prób, jako kolekcji podstawowych tworzonych przez badane metody. Drugie podejście opiera się na badaniu reprezentatywności w stosunku do różnorodności genetycznej obiektów (reprezentatywności pod względem różnorodności genetycznej) prób, jako kolekcji podstawowych tworzonych przez badane metody. Pierwsze z tych podejść uznaje daną metodę pobierania próby za efektywną w tworzeniu kolekcji podstawowej, jeśli generowane przez tą metodę kolekcje podstawowe reprezentują dobrze rozkład prawdopodobieństwa częstości alleli w rozpatrywanych *loci* i/lub cech fenotypowych dla obiektów w kolekcji wyjściowej. To znaczy, że postać tego rozkładu w próbie i populacji wyjściowej jest podobna, wtedy też średnia, rozstęp, wariancja i korelacje cech fenotypowych w obu rodzajach kolekcji są podobne. Oznacza to, że metoda pobierania próby przenosi rozkład prawdopodobieństwa atrybutów genetycznych lub fenotypowych kolekcji wyjściowej do kolekcji podstawowej (Hu i in., 2000; Li i in., 2004; Li i in. 2005; Xu i in., 2006; Wang i in., 2007; Upadhyaya i in., 2007; Wang i in., 2008; Weihai i in., 2008). To podejście do oceny efektywności metod pobierania próby nie jest w pełni zgodne z pierwotną definicją kolekcji podstawowej zasobów genowych (Frankel, 1984; Frankel i Brown, 1984; Brown, 1989 a,b) oraz rozpatrywanej ideologicznie i metodycznie przez znaczącą liczbę badaczy (Diwan i in., 1995; Marita i in., 2000; van Hintum i in., 2000; van Raamsdonk i Wijnker, 2000; Malosetti i Abadie, 2001; Franco i in., 2005, 2006; Logozzo i in., 2007; Yan i in., 2007; Thachuk i in., 2009; Oliveira i in., 2010). Metody pobierania próby uznane w tym podejściu za efektywne, czyli tworzące kolekcje podstawowe dobrze reprezentujące zmienność kolekcji wyjściowej, nie muszą tworzyć dobrej kolekcji podstawowej, czyli przenoszącej z kolekcji wyjściowej możliwie dużą część jej różnorodności genetycznej (Marita i in., 2000; van Hintum i in., 2000; Franco i in., 2005, 2006; Thachuk i in., 2009).

W drugim podejściu do oceny efektywności metod pobierania próby, zastosowana metoda jest tym bardziej efektywna, im utworzone przez nią kolekcje podstawowe lepiej odzwierciedlają (reprezentują) różnorodność genetyczną kolekcji wyjściowej, pomijając w dużym stopniu obiekty podobne genetycznie (Marita i in., 2000; van Hintum i in. 2000; van Raamsdonk i Wijnker, 2000; Malosetti i Abadie, 2001; Franco i in., 2005, 2006; Logozzo i in., 2007; Thachuk i in., 2009; Yan i in., 2007). Efektywność metod pobierania próby w tworzeniu kolekcji podstawowych jest oceniana przez stopień ich reprezentatywności pod względem różnorodności genetycznej w kolekcji wyjściowej. Aby uznać daną metodę pobierania próby za efektywną w tworzeniu kolekcji podstawowych, to tworzone kolekcje podstawowe powinny spełniać następujące warunki: 1) odzwierciedlać jak największą część różnorodności genetycznej fenotypowych cech ilościowych w kolekcji wyjściowej, czyli powinny być złożone z obiektów bardziej zróżnicowanych od siebie w porównaniu do obiektów w kolekcji wyjściowej, a jednocześnie nie powinny odznaczać się przesunięciem średnich rozpatrywanych cech względem wartości tego parametru w kolekcji wyjściowej, 2) zawierać ograniczoną liczbę obiektów wielocechowo podobnych do siebie (Frankel, 1984; Brown 1989a,b, 1995; Marita i in., 2000; van Hintum i in., 2000; Franco i in., 2005; Jansen i van Hintum, 2007; Oliveira i in., 2010).

Do ilościowej oceny efektywności metod pobierania próby, wyrażonej w kategoriach reprezentatywności tworzonej kolekcji podstawowej pod względem różnorodności genotypowej cech ilościowych, opracowano oraz zastosowano wiele parametrów statystycznych. Wiele z tych parametrów może służyć do oceny efektywności metod pobierania próby zarówno w kategoriach reprezentatywności kolekcji podstawowej (próby) w sensie statystycznym, jak i jej reprezentatywności pod względem różnorodności genetycznej. Tylko odpowiednia interpretacja wyników, otrzymanych dla poszczególnych parametrów decyduje o tym, czy oceniają one efektywność metod pobierania próby reprezentatywnej pod względem jednego z wymienionych podejść (Hu i in., 2000; Li i in. 2004, 2007; Xu i in., 2006; Wang i in., 2007; Oliveira i in., 2010).

Pierwszym parametrem, stosowanym do oceny efektywności metod próbkowania w tworzeniu kolekcji podstawowej, jest procent istotnie zróżnicowanych średnich (MSD%), określony za pomocą następującego wzoru (Hu i in., 2000; Li i in., 2004; Xu i in., 2006; Wang i in., 2007; Wang i in., 2008):

$$MSD\% = \frac{S_m}{p} \times 100\%$$

gdzie: S_m jest liczbą cech dla których stwierdzono istotną różnicę średnich pomiędzy kolekcją wyjściową, a kolekcją podstawową za pomocą testu t-Studenta przy poziomie istotności $\alpha=0,05$, p jest liczbą rozpatrywanych cech. W celu zbadania istotności różnicy średnich w obu rodzajach kolekcji stosuje się test t-Studenta (Hu i in., 2000; Li i in., 2004; Xu i in., 2006), w przypadku nie stwierdzenia istotnego zróżnicowania wariancji dla cech w kolekcji wyjściowej i kolekcji podstawowej (spełnienia jednego z warunków do stosowania testu t-Studenta). W przeciwnym przypadku, stosuje się test t-Studenta z aproksymacją Cochra i Coxa (SAS Institute Inc. 2004; Studnicki i in., 2009). Warto podkreślić, że taka metodyka nie jest poprawna statystycznie, ponieważ kolekcja

wyjściowa i wyprowadzona z niej kolekcja podstawowa (jako próba) nie są populacjami niezależnymi. Drugim parametrem, stosowanym do oceny efektywności metod próbkowania w tworzeniu kolekcji podstawowej, jest procent istotnie zróżnicowanych wariancji (VSD%), określony za pomocą następującego wzoru (Hu i in., 2000):

$$VSD\% = \frac{S_v}{p} \times 100\%$$

gdzie: S_v jest liczbą cech dla których stwierdzono istotną różnicę wariancji pomiędzy kolekcją wyjściową, a kolekcją podstawową za pomocą testu F przy poziomie istotności $\alpha=0,05$, p jest liczbą rozpatrywanych cech. Istotność różnicy wariancji pomiędzy kolekcją podstawową, a wyjściową badano za pomocą testu F (Hu i in., 2000; Li i in., 2004; SAS Institute Inc., 2004; Xu i in., 2006). Natomiast, w pracach Upadhyaya i Ortiz (2001) oraz Upadhyaya i in. (2006b, 2007a,b) do wykrywania istotnych różnic wariancji zastosowano test Levene (1960). Krytyczna uwaga o poprawności statystycznej odnosi się także do dwóch ostatnich parametrów (MSD% i VSD%), stosowanych do oceny efektywności metod próbkowania w tworzeniu kolekcji podstawowej, ponieważ są one oparte także na testowaniu istotności różnic średnich i wariancji w kolekcji wyjściowej i podstawowej.

W pracy Kim i in. (2007) zaproponowano parametry oceny efektywności metod pobierania próby, w których różnicę średniej i wariancji pomiędzy kolekcją wyjściową, a kolekcją podstawową określano w sposób ilościowy, a nie za pomocą testów statystycznych, informujących o frakcji istotnych różnic tych parametrów statystycznych. Pierwszym parametrem, zaproponowanym przez Kim i in. (2007), jest przeciętna bezwzględna różnica średnich pomiędzy kolekcją podstawową, a wyjściową, obliczona poprzez rozpatrywane cechy i relatywnie w stosunku do średniej w kolekcji wyjściowej (MD%). Parametr MD% jest określony za pomocą następującego wzoru:

$$MD\% = \frac{\sum_{\tau=1}^p \frac{|\bar{x}_{C\tau} - \bar{x}_{E\tau}|}{\bar{x}_{E\tau}}}{p} \times 100\%$$

gdzie: p jest liczbą rozpatrywanych cech, $\bar{x}_{C\tau}$ jest średnią wartością dla τ -tej cechy w kolekcji podstawowej ($\tau=1,2,\dots,p$), $\bar{x}_{E\tau}$ jest średnią wartością dla τ -tej cechy w kolekcji wyjściowej.

Drugim parametrem, zaproponowanym przez Kim i in. (2007), jest przeciętna bezwzględna różnica wariancji pomiędzy kolekcją podstawową, a wyjściową, obliczona poprzez rozpatrywane cechy i relatywnie w stosunku do wariancji w kolekcji wyjściowej, VD%. Parametr VD% jest określony za pomocą następującego wzoru:

$$VD\% = \frac{\sum_{\tau=1}^p \frac{|\hat{\sigma}_{C\tau}^2 - \hat{\sigma}_{E\tau}^2|}{\hat{\sigma}_{E\tau}^2}}{p} \times 100\%$$

gdzie: p jest liczbą rozpatrywanych cech, $\hat{\sigma}_{C\tau}^2$ jest wariancją dla τ -tej cechy w kolekcji podstawowej, $\hat{\sigma}_{E\tau}^2$ jest wariancją dla τ -tej cechy w kolekcji wyjściowej.

Jeżeli wartość obu parametrów MSD% i VSD%, albo MD% i VD%, jest bliższa zera, tym kolekcja podstawowa lepiej reprezentuje zmienność genetyczną dla rozpatrywanych cech ilościowych (jest bardziej reprezentatywna w sensie statystycznym) w wyjściowej kolekcji zasobów genowych roślin uprawnych (Hu i in., 2000; Li i in., 2004; Kim i in., 2007). Według Hu i in. (2000) wartości parametrów MSD% i VSD% nie powinny przekraczać 20% cech istotnie zróżnicowanych pod względem średnich i wariancji w obu rodzajach kolekcji, aby można uznać kolekcję podstawową za dobrze reprezentującą zmienność genetyczną w kolekcji wyjściowej i stwierdzić dobrą efektywność w kategoriach pierwszego podejścia (odzworowania rozkładu prawdopodobieństw zmienności genetycznej w kolekcji wyjściowej), odpowiadającej metody pobierania próby w tworzeniu kolekcji podstawowej. Natomiast, kolekcja podstawowa jest tym bardziej reprezentatywna pod względem różnorodności genetycznej, a odpowiadająca metoda pobierania próby ma większą efektywność w kategoriach drugiego podejścia, jeżeli wartość parametru VSD% lub VD% jest relatywnie (w stosunku do prób z innych metod) wyższa, a jednocześnie wartość parametru MSD% lub MD% jest bliska zero (van Hintum i in., 2000; Franco i in., 2005; Liu i in., 2009; Wang i in., 2007; Oliveira i in., 2010).

Do oceny efektywności metod pobierania próby stosowana jest także przeciętny dla badanych cech iloraz rozstępu w kolekcji podstawowej i wyjściowej, RR% (Hu i in., 2000; Franco i in. 2005; Kim i in., 2007), wyznaczony za pomocą następującej formuły:

$$RR\% = \frac{\sum_{\tau=1}^p \frac{R_{C\tau}}{R_{E\tau}}}{p} \times 100\%$$

gdzie: $R_{C\tau}$ jest wartością rozstępu dla τ -tej cechy w kolekcji podstawowej, $R_{E\tau}$ jest wartością rozstępu dla τ -tej cechy w kolekcji wyjściowej, p jest liczbą rozpatrywanych cech

Metoda pobierania próby jest tym bardziej efektywna pod względem reprezentatywności zmienności genetycznej tworzonych prób, jeżeli wartość tego parametru w wynikowej kolekcji podstawowej jest bliższa 100%. Parametr RR% określa tylko reprezentatywność próby w klasycznym sensie.

Kolejnym parametrem, stosowanym do oceny efektywności metod pobierania próby jest przeciętny, dla badanych cech, iloraz wartości współczynnika zmienności w kolekcji podstawowej i wyjściowej, VR% (Hu i in., 2000; Kim i in., 2007), wyznaczony za pomocą następującej formuły:

$$VR\% = \frac{\sum_{\tau=1}^p \frac{CV_{C\tau}}{CV_{E\tau}}}{p} \times 100\%$$

gdzie: $CV_{C\tau}$ jest wartością współczynnika zmienności dla τ -tej cechy w kolekcji podstawowej, $CV_{E\tau}$ jest współczynnikiem zmienności dla τ -tej cechy w kolekcji wyjściowej, p jest liczbą rozpatrywanych cech,

Metoda pobierania próby jest tym bardziej efektywna pod względem reprezentatywności zmienności, im wartość tego wskaźnika jest bliższa 100%. Natomiast, wartości tego parametru powyżej 100% wskazują na dobrą reprezentatywność próby pod względem różnorodności genetycznej i pozbycia się duplikatów w kolekcji podstawowej.

Kolejnym parametrem, stosowanym do oceny efektywności metod pobierania próby w kategoriach drugiego podejścia, jest średnia odległość wielocechowa dla obiektów w kolekcji podstawowej i wyjściowej (Franco i in., 2005, 2006). Im wartość średniej odległości w kolekcji podstawowej jest większa, od średniej odległości pomiędzy obiektami w kolekcji wyjściowej (w stosunku do innych metod pobierania próby), tym odpowiadająca jej metoda pobierania próby jest efektywniejsza w przenoszeniu możliwie największej części różnorodności genetycznej z kolekcji wyjściowej do kolekcji podstawowej oraz ograniczonego przenoszenia do niej duplikatów.

Powyżej zaprezentowane parametry statystyczne do oceny efektywności metod pobierania próby odnoszą się do fenotypowych cech ilościowych. Natomiast reprezentatywność kolekcji podstawowych w sensie statystycznym dla cech jakościowych przeprowadzana jest przez badanie zgodności rozkładu prawdopodobieństw tych cech w kolekcji podstawowej i wyjściowej. Takie badanie jest przeprowadzane za pomocą testu zgodności chi-kwadrat χ^2 (Upadhyaya, 2003; Dwivedi i in., 2005; Upadhyaya i in., 2006 b).

Dla cech ilościowych i jakościowych wykorzystywanych jako kryterium fenotypowe do oceny zmienności genetycznej w kolekcji wyjściowej i podstawowej, stosowany jest wskaźnik różnorodności Shannona-Weavera H' (Charmet i Balfourier, 1995; Balakrishnan i in., 2000; Grenier i in., 2001; Upadhyaya i Ortiz, 2001; Upadhyaya, 2003; Li i in. 2005; Mahalakshmi i in., 2007). Dla pojedynczej cechy wskaźnik różnorodności Shannona-Weavera H' jest określony za pomocą następującej formuły:

$$H' = \sum_{i=1}^S p_i \ln p_i$$

gdzie: S jest liczbą klas (przedziałów) w szeregu rozdzielczym zmienności badanej cechy, p_i jest stosunkiem liczebności obiektów w i -tej klasie (przedziale) do liczebności wszystkich obiektów kolekcji. Wartość wskaźnika H' w kolekcji podstawowej zbliżona do jego wartości w kolekcji wyjściowej dla wszystkich badanych cech, świadczy o dużej efektywności metody pobierania próby w kategoriach reprezentatywności rozkładu prawdopodobieństw obiektów w kolekcji wyjściowej. Natomiast, większa wartość wskaźnika różnorodności H' w kolekcji podstawowej w stosunku do wartości w kolekcji wyjściowej, świadczy o dobrej efektywności metody pobierania próby w kategoriach reprezentatywności różnorodności genetycznej obiektów w kolekcji wyjściowej.

LITERATURA

- Agrama H., Yan A., Wen Gui L., Fleet F., Robert C., Ming-Hsuan J., McClung M. 2009. Genetic Assessment of a Mini-Core Subset Developed from the USDA Rice Genebank. *Crop Science* 49: 1336 — 1346.
- Amalraj V.A., Balakrishnan R., Jebadhas A.W., Balasundaram N. 2006. Constituting a core collection of *Saccharum spontaneum* L. and comparison of three stratified random sampling procedures *Genetic Resources and Crop Evolution* 53: 1563 — 1572.
- Balakrishnan R., Nair N., Sreenivasan T. 2000. A method for establishing a core collection of *Saccharum officinarum* L. germplasm based on quantitative-morphological data *Genetic Resources and Crop Evolution* 47: 1 — 9.
- Balfourier F., Roussel V., Strelchenko P., Exbrayat-Vinson F., Sourdill P., Boutet G., Koenig J., Ravel C., Mitrofanova O., Beckert M., Charmet G. 2007. A worldwide bread wheat core collection arrayed in a 384-well plate. *Theoretical and Applied Genetics* 114: 1265 — 1275.
- Brown A.H.D. 1989 a. Core collections: a practical approach to genetic resources management. *Genome* 31: 818 — 824.
- Brown A. H. D. 1989 b. The case for core collections. In: *The Use of Plant Genetic Resources* (A.H.D. Brown, O. H. Frankel, D. R. Marshall and J. T. Williams, eds.). Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Brown A.H.D. 1995. The core collection at the crossroads. w: *Core Collections of Plant Genetic Resources* (T. Hodgkin, A.H.D. Brown, Th. J. L. van Hintum and E. A. V. Morales, eds.). John Wiley and Sons, UK.
- Brown A.H.D., Spillane C. 1999. Implementing core collections — principles, procedures, progress, problems and promise. w: Johnson, R.C. and T. Hodgkin. 1999. *Core collections for today and tomorrow*. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.
- Bulińska-Radomska Z., Łapiński B., Arseniuk E. 2008. Plant genetic resources for food and agriculture in Poland – Second National Report. Plant Breeding and Acclimatization Institute, Radzików, Polska
- Chandra S., Huaman Z., Krishna S.H., Ortiz R. 2002. Optimal sampling strategy and core collection size of Andean tetraploid potato based on isozyme data — a simulation study. *Theoretical and Applied Genetics* 104: 1325 — 1334.
- Charmet G., Balfourier F. 1995. The use of geostatistics for sampling a core collection of perennial ryegrass population. *Genetic Resources and Crop Evolution* 42: 303 — 309.
- Chavarriaga-Aguirre P., Maya M., Tohme J., Duque M. C., Iglesias C., Bonierbale M. W., Kresovich S., Kochert G. 1999. Using microsatellites, isozymes and AFLPs to evaluate genetic diversity and redundancy in the cassava core collection and to assess the usefulness of DNA-based markers to maintain germplasm collections. *Molecular Breeding* 5: 263 — 273.
- Chung H.K., Kim K.W., Chung J.W., Lee J.R., Lee S.Y., Dixit A., Kang H.K., Zhao W., McNally K.L., Hamilton R.S., Gwag J.G., Park Y.J. 2009. Development of a core set from a large rice collection using a modified heuristic algorithm to retain maximum diversity. *Journal of Integrative Plant Biology* 51: 1116 — 1125.
- Cochran W.G. 1977. *Sampling techniques*, 3rd ed., John Wiley and Sons, New York, USA
- Crossa J., DeLacy I.H., Taba S. 1995. The use of multivariate methods in developing a core collection. Pp. in *Core Collections of Plant Genetic Resources* (T. Hodgkin, A.H.D. Brown, Th.J.L. van Hintum and E.A.V. Morales, eds.). John Wiley and Sons, UK: 77 — 92.
- Crossa J., Franco J. 2004. Statistical methods for classifying genotypes. *Euphytica* 153: 19 — 37.
- Diwan N., Baughan G.R., McIntosh M.S. 1994. A core collection for the United States annual *Medicago* germplasm collection. *Crop Sci.* 34: 279 — 285.
- Diwan N., McIntosh M.S., Baughan G. R. 1995. Methods of developing a core collection of annual *Medicago* species. *Theoretical and Applied Genetics* 90: 755 — 761.
- Dwivedi S. L., Puppala N., Upadhyaya H.D., Manivannan N., Singh S. 2008. Developing a core collection of peanut specific to Valencia market type. *Crop Sci.* 48: 625 — 632.
- Dwivedi S. L., Upadhyaya H. D., Hegd D.M. 2005. Development of core collection using geographic information and morphological descriptors in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) germplasm. *Genetic Resources and Crop Evolution* 52: 821 — 830.

- Escribano P., Viruel M., Hormaza J. 2008. Comparison of different methods to construct a core germplasm collection in woody perennial species with simple sequence repeat markers. A case study in cherimoya (*Annona cherimola*, *Annonaceae*), an underutilised subtropical fruit tree species. *Annals of Applied Biology* 153: 25 — 32.
- FAO 1996. Global plan of action for the conservation and sustainable utilization of plant genetic resources for food and agriculture. FAO, Rome, Italy.
- FAO 2010. The second report on the state of the world's plant genetic resources for food and agriculture. FAO, Rome, Italy.
- Franco J., Crossa J., Desphande S. 2010. Hierarchical multiple-factor analysis for classifying genotypes based on phenotypic and genetic data. *Crop Sci.* 50: 105 — 117.
- Franco J., Crossa J., Ribout J.M., Betran J. 2001. A method for combining molecular markers and phenotypic attributes for classifying plant genotypes. *Theoretical and Applied Genetics* 103: 944 — 952.
- Franco J., Crossa J., Taba S., Shands H. 2003. A multivariate method for classifying cultivars and studying group x environment x trait interaction. *Crop Sci.* 43: 1249 — 1258.
- Franco J., Crossa J., Taba S., Shands H. 2005. A sampling strategy for conserving genetic diversity when forming core subsets. *Crop Sci.* 45: 1035 — 1044.
- Franco J., Crossa J., Villasenor J., Taba S., Eberhart S.A. 1998. Classifying genetic resources by categorical and continuous variables. *Crop Sci.* 38:1688 — 1696.
- Franco J., Crossa J., Villasenor J., Taba S., Eberhart S.A. 1999. A two-stage, three-way method for classifying genetic resources in multiple environments. *Crop Sci.* 39: 259 — 267.
- Franco J., Crossa J., Warburton M., Taba S. 2006. Sampling strategies for conserving maize diversity when forming core subsets using genetic markers. *Crop Sci.* 46: 854 — 864.
- Frankel O.H. 1984. Genetic perspectives of germplasm conservation. In: W. Arber, K. Llimensee, W.J. Peacock D. P. Starlinger, (eds.). *Genetic Manipulation: Impact on Man and Society*. Cambridge University Press, Cambridge: 161 — 170.
- Frankel O.H., Brown A.H.D. 1984. Plant genetic resources today: A critical appraisal. W: J.H.W. Holden and J.T. Williams, eds. *Crop Genetic Resources: Conservation and Evaluation*. Allen and Unwin, Winchester, Massachusetts, USA.
- Gauthier M.F., Lumaret R. 1999. Genetic introgression on between tetraploid *Dactylis glomerata* sp. *reichenbachii* and *glomerata* in the French Alps. Insight from morphological and isoenzyme variation, plant systematic and evolution. *Plant Syst. Evol.* 241: 219 — 234.
- Ghamkhar K., Snowball R., Bennett S.J. 2005. Improving the utilization of germplasm of *Trifolium spumosum* L. by the development of a core collection using ecogeographical and molecular techniques. p: 262. W: M.O. Humphreys (ed.) *Molecular breeding for the genetic improvement of forage crops and turf*. Wageningen Academic, Wageningen, Holandia.
- Ghamkhar K., Snowball R., Wintle B.J., Brown A. H. D. 2008. Strategies for developing a core collection of bladder clover (*Trifolium spumosum* L.) using ecological and agro-morphological data. *Australian Journal of Agricultural Research* 59:1103 — 1112.
- Gouesnard B., Bataillon T.M., Decoux G., Rozale C., Schoen D.J., David J.L. 2001. MSTRAT: An Algorithm for Building Germ Plasm Core Collections by Maximizing Allelic or Phenotypic Richness. *Journal of Heredity* 92: 93 — 94.
- Gouesnard B., Dallard J., Bertin P., Boyat A., and A. Charcosset. 2005. European maize landraces: Genetic diversity, core collection definition and methodology of use. *Maydica* 50: 225 — 234.
- Gowda C.L.L., Upadhyaya H.D., Dronavalli N., Singh S. 2011. Identification of large-seeded high-yielding stable kabuli chickpea germplasm lines for use in crop improvement. *Crop Sci.* 51: 198 — 209.
- Gower J.C. 1971. A general coefficient of similarity and some of its properties. *Biometrics* 27: 857 — 874.
- Grenier C., Bramel-Cox P. J., Noirot M., Prasada Rao K. E., Hamon, P. 2000b. Assessment of genetic diversity in three subsets constituted from the ICRISAT sorghum collection using random vs. non-random sampling procedures B. Using molecular markers. *Theoretical and Applied Genetics* 101: 197 — 202.
- Grenier C., Bramel Cox P. J., Noirot M., Prasada Rao K. E., Hamon, P. 2000 a. Assessment of genetic diversity in three subsets constituted from the ICRISAT sorghum collection using random vs. non-random sampling

- procedures A. Using morpho-agronomical and passport data. Theoretical and Applied Genetics 101: 190 — 196.
- Grenier C., Hamon P., Bramel.Cox P. J. 2001. Core Collection of Sorghum: II. Comparison of Three Random Sampling Strategies. Crop Sci. 41: 241 — 246.
- Hao C., Zhang X., Wang L., Dong Y., Shang X., Jia J. 2006. Genetic diversity and core collection evaluations in common wheat germplasm from the Northwestern Spring Wheat Region in China. Molecular Breeding 17: 69 — 77.
- Harch B.D., Brasford K.E., DeLacy I.H., Lawrence P.K., Cruickshank A. 1995. Patterns of diversity in fatty acid composition in the Australian groundnut germplasm collection. Genetic Resources and Crop Evolution 42: 243 — 256.
- Hartung K. 2006. Biometrical approaches for analysing gene bank evaluation data on barley (*Hordeum spec.*). Rozprawa doktorska, Uniwersytet w Hohenheim, Stuttgart, Niemcy.
- Hausmann B.I.G., Parzies H.K., Prestler T., Susic Z., Miedaner T. 2004. Plant genetic resources in crop improvement (Review). Plant Genetic Resources: Characterization and utilization 2: 3 — 21.
- Holbrook C.C., Dong W. 2005. Development and evaluation of a mini core collection for the U.S. peanut germplasm collection. Crop Sci. 45: 1540 — 1544.
- Hu J., Zhu J., Xu H. 2000. Methods of constructing core collections by stepwise clustering with three sampling strategies based on the genotypic values of crops. Theoretical and Applied Genetics 101: 264 — 268.
- Igartua E., Gracia M., Lasa J., Medina B., Molina-Cano J., Montoya J., Romagosa I. 1998. The Spanish barley core collection. Genetic Resources and Crop Evolution 45: 475 — 481.
- Islam M.R., Hamid A., Khaliq O.A., Ahmed J.U., Haque M.M., Karim M.A. 2007. Genetic variability in flooding tolerance of mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek) genotypes. Euphytica 156: 247 — 255.
- Jahufer M.Z.Z., Cooper M., Harch B.D. 1997. Pattern analysis of the diversity of morphological plant attributes and herbage yield in a world collection of white clover (*Trifolium repens* L.) germplasm characterised in a summer moisture stress environment of Australia. Genetic Resources and Crop Evolution 44: 289 — 300.
- Jansen J., van Hintum Th. 2007. Genetic distance sampling: a novel sampling method for obtaining core collections using genetic distances with an application to cultivated lettuce. Theoretical and Applied Genetics 114: 421 — 428.
- Johnson R.A., Wichern D.W. 2002. Applied multivariate statistical analysis. Prentice-Hall, Inc. Upper Saddle River, New York, USA.
- Johnson R.C. and Hodgkin T. 1999. Core collections for today and tomorrow. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.
- Khan M. A., von Witzke-Ehbrecht S., Maass B. L., Becker H. C. 2009. Relationships among different geographical groups, agro-morphology, fatty acid composition and RAPD marker diversity in safflower (*Carthamus tinctorius*). Genetic Resources and Crop Evolution 6: 19 — 30.
- Kim K.W., Chung H.K., Cho G.T., Ma K.H., Chandrabalan D., Gwag J.G., Kim T.S., Cho E.G., Park Y.J. 2007. PowerCore: a program applying the advanced M strategy with a heuristic search for establishing core sets. Bioinformatics 23: 2155 — 2162.
- Kociuba W., Mądry W., Kramek A., Ukalski K., Studnicki M. 2010. Multivariate diversity of Polish winter triticale cultivars for spike and other traits. Plant Breeding and Seed Science 62:31 — 42
- Kölliker R., Stadelmann F.J., Reidy B., Nösberger J. 1999. Genetic variability of forage grass cultivars: A comparison of *Festuca pratensis* Huds., *Lolium perenne* L., and *Dactylis glomerata* L.. Euphytica 106: 261 — 270.
- Krebs C. 1989. Ecological Methodology. HarperCollins, New York, USA.
- Krzanowski W.J. 1988. Principles of multivariate analysis: a user's perspective. Oxford University Press, Oxford, UK.
- Levene H. 1960. Robust tests for equality of variances. In: Olkin, I. (Ed.), Contributions to Probability and Statistics: Essays in Honor of Harold Hotelling. Stanford University Press, Stanford.
- Li C. T., Shi, C. H., Wu, J. G., Xu, H. M., Zhang, H. Z. & Ren, Y. L. 2004. Methods of developing core collections based on the predicted genotypic value of rice (*Oryza sativa* L.). Theoretical and Applied Genetics 108: 1172 — 1176.

- Li Y., Shi Y., Cao Y., Wang T. 2005. Establishment of a core collection for maize germplasm preserved in Chinese National Genebank using geographic distribution and characterization data. *Genetic Resources and Crop Evolution* 51: 845 — 852.
- Li Y.X., Li T.H., Zhang H.L., Qi Y.W. 2007. Sampling strategy for a primary core collection of peach (*Prunus persica* (L.) Batsch.) germplasm. *European Journal of Horticultural Science* 72: 268 — 274.
- Li Z., Zhang H., Zeng Y., Yang Z., Shen S., Sun C., Wang X. 2002. Studies on sampling schemes for the establishment of core collection of rice landraces in Yunnan, China. *Genetic Resources and Crop Evolution* 49: 67 — 74.
- Liu X.L., Cai Q., Ma L., Wu C.W., Lu X., Ying X.M., Fan Y.H. 2009. Strategy of sampling for pre-core collection of sugarcane hybrid. *Acta Agronomica Sinica* 35: 1209 — 1216.
- Logozzo G., Donnoli R., Macaluso L., Papa R., Knüpffer H., Zeuli P. 2007. Analysis of the contribution of Mesoamerican and Andean gene pools to European common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) germplasm and strategies to establish a core collection. *Genetic Resources and Crop Evolution* 54: 1763 — 1779.
- Luan F., Delannay I., Staub J. E. 2008. Chinese melon (*Cucumis melo* L.) diversity analyses provide strategies for germplasm curation, genetic improvement, and evidentiary support of domestication patterns. *Euphytica* 164: 445 — 461.
- Mahajan R.K., Bisht I.S., Gautam P.L. 1999. Sampling strategies for developing Indian sesame core collection. *Indian Journal of Plant Genetic Resources* 12: 1 — 9
- Mahalakshmi V., Ng Q., Atalobhor J., Ogunsola D., Lawson M., Ortiz R. 2007. Development of a West African yam *Dioscorea* spp. core collection. *Genetic Resources and Crop Evolution* 54: 1817 — 1825.
- Malosetti M., Abadie T. 2001. Sampling strategy to develop a core collection of Uruguayan maize landraces based on morphological traits. *Genetic Resources and Crop Evolution* 48: 381 — 390.
- Marita J. M., Rodriguez J. M., Nienhuis J. 2000. Development of an algorithm identifying maximally diverse core collections. *Genetic Resources and Crop Evolution* 47: 515 — 526.
- McKhann H.I., Camilleri C., Bera A., Bataillon T., David J.L., Reboud X., Le Corre V., Gut I.G., Brunel D. 2004. Nested core collections maximizing genetic diversity in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* 38: 193 — 202.
- Mohammadi S.A., Prasanna M. 2003. Analysis of genetic diversity in crop plants — salient statistical tools and considerations. *Crop Sci.* 43: 1235 — 248.
- Mosjidis J. A., Klingler K. A. 2006. Genetic Diversity in the Core Subset of the U.S. Red Clover Germplasm. *Crop Sci.* 46: 758 — 762.
- Nei M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 70: 3321 — 3323.
- Neyman J. 1934. On the two different aspects of the representative method: The method of stratified sampling and the method of purposive selection. *Journal of the Royal Statistical Society* 97: 558 — 625.
- Noirot M., Hamon S., Anthony F. 1996. The principal component scoring: a new method of constituting a core collection using quantitative data. *Genetic Resources and Crop Evolution* 43: 1 — 6.
- Ntundu W.H., Shillah S.A., Marandu W.Y.F., Christiansen J.L. 2006. Morphological diversity of bambara groundnut [*Vigna subterranea* (L.) Verdc.] landraces in Tanzania. *Genetic Resources and Crop Evolution* 53: 367 — 378
- Oliveira M. F., Nelson R. L., Geraldi I. O., Cruz C. D., de Toledo J. F. F. 2010. Establishing a soybean germplasm core collection. *Field Crops Research* 119: 277 — 289.
- Olukolu B.A., Mayes S., Stadler F., Ng N.Q., Fawole I., Dominique D., Azam-Ali S.N., Abbott A.G., Kole C. 2011. Genetic diversity in Bambara groundnut (*Vigna subterranea* (L.) Verdc.) as revealed by phenotypic descriptors and DArT marker analysis. *Genetic Resources and Crop Evolution* DOI: 10.1007/s10722-011-9686-5.
- Ramanatha Rao V., Hodgkin T. 2002. Genetic diversity and conservation and utilization of plant genetic resources. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 68: 1 — 19.
- Reddy L. J., Upadhyaya H.D., Gowda C.L.L., Singh S. 2005. Development of core collection in pigeonpea [*Cajanus cajan* (L.) Millspaugh] using geographic and qualitative morphological descriptors. *Genetic Resources and Crop Evolution* 52: 1049 — 1056.

- Reif J.C., Melchinger A.E., Frisch M. 2005. Genetical and mathematical properties of similarity and dissimilarity coefficients applied to plant breeding and seed bank management. *Crop Sci.* 45: 1 — 7.
- Robertson L.D., Singh K.B., Erskine W., Abd El Moneim A.M. 1996. Useful genetic diversity in germplasm collections of food and forage legumes from West Asia and North Africa. *Genetic Resources and Crop Evolution* 43: 447 — 460.
- Rodino A., Santalla M., Ro A.D., Singh S. 2003. A core collection of common bean from the Iberian peninsula. *Euphytica* 131: 165 — 175.
- Ronfort J., Bataillon T., Santoni S., Delalande M., David J.L., Prosperi J-M. 2006. Microsatellite diversity and broad scale geographic structure in a model legume: Building a set of nested core collection for studying naturally occurring variation in *Medicago truncatula* L. *BMC Plant Biology* 6: 28.
- Santos M., Dias J., 2004. Evaluation of a core collection of *Brassica oleracea* accessions for resistance to white rust of crucifers (*Albugo candida*) at the cotyledon stage. *Genetic Resources and Crop Evolution* 51: 713 — 722.
- Schmidt J. 2005 a. The European *Lolium perenne* core collection in the Botanical Garden of the Plant Breeding and Acclimatization Institute, Bydgoszcz, Poland. In: Boller B., Willner E., Maggioni L., Lipman E. Report of a Working Group on Forages. Eighth meeting, 10–12 April 2003, Linz, Austria. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.
- Schmidt J. 2005b. Variation of European ecotypes of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) in Poland. *Plant Breeding and Seed Science* 51: 75 — 89.
- Schoen D.J., Brown A.H.D. 1993. Conservation of allelic richness in wild crop relatives is aided by assessment of genetic markers. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 90: 10623 — 10627.
- Skinner D.Z., Bauchan G.R., Auricht G., Hughes S. 1999. Developing a core collection from a large annual *Medicago* germplasm collection. W: Johnson, R.C., Hodgkin T. 1999. Core collections for today and tomorrow. International Plant Genetic Resources Institute, Rzym, Włochy.
- Skroch P.W., Nienhuis J., Beebe S., Tohme J., Pedraza F. 1998. Comparison of Mexican common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) core and reserve germplasm collections. *Crop Sci.* 38: 488 — 496.
- Spagnoletti Zeuli P.L., Qualset C.O. 1993. Evaluation of five strategies for obtaining a core subset from a large genetic resource collection of durum wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 87: 295 — 304.
- Studnicki M., Mądry W., Kociuba W. 2010a. The efficiency and effectiveness of sampling strategies used to develop a core collection for the Polish spring triticale ($\times$ *Triticosecale* Wittm.) germplasm resources. *Communications in Biometry and Crop Sci.* 5: 127 — 135.
- Studnicki M., Mądry W., Kociuba W. 2010b. Efektywność metod pobierania próby w tworzeniu kolekcji podstawowej pszenżyta jarego przy użyciu danych fenotypowych. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych* 555: 409 — 418.
- Studnicki M., Mądry W., Śmiałowski T. 2009. Porównanie efektywności metod statystycznych tworzenia kolekcji podstawowej na przykładzie pszenicy jarej. *Biuletyn IHAR* 252: 105 — 117.
- Thachuk C., Crossa J., Franco J., Dreisigacker S., Warburton M., Davenport G.F. 2009. Core Hunter: an algorithm for sampling genetic resources based on multiple genetic measures. *BMC Bioinformatics* 10: 243.
- Thompson S.K. 2002. Sampling. 2nd ed. John Wiley & Sons, New York, USA.
- Upadhyaya H.D. 2003. Phenotypic diversity in groundnut (*Arachis hypogaea* L.) core collection assessed by morphological and agronomical evaluations. *Genetic Resources and Crop Evolution* 50: 539 — 550.
- Upadhyaya H.D., Dwivedi S.L., Gowda C., Singh S. 2007b. Identification of diverse germplasm lines for agronomic traits in a chickpea (*Cicer arietinum* L.) core collection for use in crop improvement *Field Crops Research* 100: 320 — 326.
- Upadhyaya H.D., Bramel P.J., Ortiz R., Singh S. 2002. Developing a mini core of peanut for utilization of genetic resources. *Crop Sci.* 42: 2150 — 2156.
- Upadhyaya H. D., Dwivedi S. L., Nadaf H. L., Singh S. 2011 a. Phenotypic diversity and identification of wild *Arachis* accessions with useful agronomic and nutritional traits. *Euphytica* (w druku).
- Upadhyaya H. D., Gowda C., Pundir R., Reddy V. G., Singh, S. 2006 b. Development of core subset of finger millet germplasm using geographical origin and data on 14 quantitative traits *Genetic Resources and Crop Evolution*. 53: 679 — 685.

- Upadhyaya H.D., Gowda C.L.L., Buhariwalla H.K., Crouch J.H. 2006 a. Efficient use of crop germplasm resources: identifying useful germplasm for crop improvement through core and mini-core collections and molecular marker approaches. *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization* 4: 25 — 35.
- Upadhyaya H.D., Ortiz R. 2001. A mini core subset for capturing diversity and promoting utilization of chickpea genetic resources in crop improvement *Theoretical and Applied Genetics* 102: 1292 — 1298.
- Upadhyaya H.D., Ortiz R., Bramel P.J., Singh S. 2003. Development of a groundnut core collection using taxonomical, geographical and morphological descriptors. *Genetic Resources and Crop Evolution* 50: 139 — 148.
- Upadhyaya H.D., Ravishankar C.R., Narasimhudu Y., Sarma N.D.R.K., Singh S.K., Varshney S.K., Reddy V.G., Singh S., Parzies H.K., Dwivedi S.L., Nadaf H.L., Sahrawat S., Gowda C.L.L. 2011b. Identification of trait-specific germplasm and developing a mini core collection for efficient use of foxtail millet genetic resources in crop improvement. *Field Crops Research* 124: 459 — 467.
- Upadhyaya H.D., Reddy K.N., Gowda C.L.L., Singh S. 2007a. Phenotypic diversity in the pigeonpea (*Cajanus cajan* L.) core collection. *Genetic Resources and Crop Evolution* 54: 1167 — 1184.
- Upadhyaya H.D., Reddy K.N., Gowda C.L.L., Singh S. 2011c. Development of pearl millet minicore collection for enhanced utilization of germplasm. *Crop Sci.* 51: 217 — 223.
- Upadhyaya H.D., Reddy L.J., Gowda C.L.L., Singh S. 2006. Identification of diverse groundnut germplasm: Sources of early maturity in a core collection. *Field Crops Research* 97: 261 — 271.
- Upadhyaya H.D., Sharma S., Ramulu B., Bhattacharjee R., Gowda C. L. L., Gopal R.V., Singh S. 2010. Variation for qualitative and quantitative traits and identification of trait-specific sources in new sorghum germplasm. *Crop and Pasture Science* 61: 609 — 618.
- van de Wouw M., Chris, K., van Hintum, T., van Treuren, R., Visser, B. 2010a. Genetic erosion in crops: concept, research results and challenges. *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization* 8: 1 — 15.
- van de Wouw M., van Hintum T., Kik C., van Treuren R., Visser B. 2010b. Genetic diversity trends in 20th century crop cultivars — a meta analysis. *Theoretical and Applied Genetics* 120: 1241 — 1252.
- van Hintum Th.J.L. 1999. The general methodology for creating a core collection. w: Johnson, R.C. and T. Hodgkin. 1999. Core collections for today and tomorrow. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.
- van Hintum Th.J.L., Brown A.H.D., C. Spillane and T. Hodgkin. 2000. Core collections of plant genetic resources. IPGRI Technical Bulletin No. 3. International Plant Genetic Resources Institute, Rzym, Włochy.
- van Raamsdonk L., Wijnker J. 2000 The development of a new approach for establishing a core collection using multivariate analyses with tulip as case. *Genetic Resources and Crop Evolution* 47: 403 — 416.
- Vencovsky R., Crossa J. 1999. Variance effective population size under mixed self and random mating with applications to genetic conservation of species. *Crop Sci.* 39: 1282 — 1294.
- Vencovsky R., Crossa J. 2003. Measurements of representativeness used in genetic resources conservation and plant breeding. *Crop Sci.* 43: 6: 1912 — 1921.
- Wang J.C., Hu J., Huang X.X., Xu S.C. 2008. Assessment of different genetic distances in constructing cotton core subset by genotypic values. *Journal of Zhejiang University — Science B* 9:356 — 362
- Wang J.C., Hu J., Xu H. M., Zhang S. 2007. A strategy on constructing core collections by least distance stepwise sampling. *Theoretical and Applied Genetics* 115: 1 — 8.
- Wang Y., Zhang J., Sun H., Ning N., Yang L. 2011. Construction and evaluation of a primary core collection of apricot germplasm in China. *Scientia Horticulturae* 128: 311 — 319.
- Ward J. 1963. Hierarchical grouping to optimize an objective function. *Journal of the American Statistical Association* 38: 236–244.
- Weihai M., Jinxin Y., Sihachakr D. 2008. Development of core subset for the collection of Chinese cultivated eggplants using morphological-based passport data. *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization* 6: 33 — 40.
- Xiurong Z., Yingzhong Z., Yong C., Xiangyun F., Qingyuan G., Mingde Z., Hodgkin T. 2000. Establishment of sesame germplasm core collection in China. *Genetic Resources and Crop Evolution* 47: 273 — 279.

- Xu H., Mei Y., Hu J., Zhu J., Gong P. 2006. Sampling a core collection of Island cotton (*Gossypium barbadense* L.) based on the genotypic values of fiber traits. *Genetic Resources and Crop Evolution* 53: 515 — 521.
- Xu Y. 2010. *Molecular plant breeding*. CAB International, Wallingford, UK.
- Yan W.G., Ruter J.N., Bryant R.J., Bockelman H.E., Fjellstrom R.G., Chen M.H., Tai T.H., McClung A.M. 2007. Development and evaluation of a core subset of the USDA rice germplasm collection. *Crop Sci.* 47: 869 — 876.
- Zewdie Y., Tong N., Bosland P. 2004. Establishing a core collection of *Capsicum* using a cluster analysis with enlightened selection of accessions. *Genetic Resources and Crop Evolution* 51: 147 — 151.
- Zhang H., Zhang D., Wang M., Sun J., Qi Y., Li J., Wei X., Han L., Qiu Z., Tang S., Li Z. 2011. A core collection and mini core collection of *Oryza sativa* L. in China. *Theoretical and Applied Genetics* 122: 49 — 61.

JAKUB PADEREWSKI**WIESŁAW MĄDRY**

Katedra Doświadczalnictwa i Bioinformatyki, SGGW, Warszawa

Zastosowania modelu AMMI do analizy reakcji odmian na środowiska*

Use of AMMI model in the analysis of cultivar responses to environments

W doświadczalnictwie rolniczym kluczową kwestią są serie doświadczeń odmianowych, stanowiące szczególnie przypadek doświadczeń dwuczynnikowych, w których jednym czynnikiem są odmiany, a drugim miejscowości. Do opisu charakteru interakcji dwóch czynników, a więc w powyżej opisanym przypadku, mogą być stosowane wielowymiarowe modele statystyczne takie jak model AMMI, GGE czy JREG. Praca ta ma przybliżyć możliwości zastosowania wybranych modeli statystycznych ze szczególnym uwzględnieniem modelu AMMI. Oprócz analizy AMMI przedstawiono uzupełniającą analizę skupień. Opisane metody statystyczne są celowe w analizie reakcji odmian roślin rolniczych na warunki środowiskowe, czyli agroekosystemy, na podstawie danych z serii doświadczeń.

Słowa kluczowe: analiza AMMI, analiza GGE, interakcja genotypowo-środowiskowa, modele multiplikatywne, ocena adaptacji

Series of cultivar trials are a key issue in agricultural experimentation. They represent a specific case of two-factorial experiments, where cultivars are one factor and locations are the other one. Multivariate statistical models like AMMI, GGE or JREG are used to describe type of interaction between the factors. The paper is aimed at showing possibilities of application of some statistical models, with particular emphasis put on the AMMI model. Additionally, supplementary cluster analysis is presented. The described statistical methods are a suitable tool in analysis of response of crop cultivars to environmental conditions, based on data from series of trials.

Key words: AMMI analysis, cultivar adaptation, genotype by environment interaction, GGE analysis, multiplicative models

* Praca zawiera wyniki badań w projekcie własnym Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego nr N N310 091136 pt. „Badanie uwarunkowania plonu ziarna odmian pszenicy ozimej przez cechy plonotwórcze roślin”.

SKRÓTY

AMMI (ang. Additive Main effects and Multiplicative Interaction model) — model dwuczynnikowy, opisujący sumę efektów addytywnych (głównych) odmian i środowisk oraz efekty interakcji GE w multiplikatywnej postaci

GE — klasyfikacja lub interakcja Genotypy $\times$ Środowiska

GGE (ang. Genotype main effects and Genotype $\times$ Environment interaction effects model) — model dwuczynnikowy, opisujący sumę efektów addytywnych (głównych) środowisk oraz sumę głównych efektów odmian i interakcji GE w multiplikatywnej postaci

JREG (ang. Joint Regresion Analysis) — analiza regresji łącznej

PCA (ang. Principal Component Analysis) — analiza składowych głównych. Model opisuje sumę efektów addytywnych (głównych) odmian i środowisk oraz efektów interakcji GE w multiplikatywnej postaci

WSTĘP

1.1. Podstawowe idee w ocenie reakcji cech odmian na warunki środowiskowe

Środowiska w przestrzeni rolniczej i czasie charakteryzują się zmiennością wielu czynników środowiskowych, które wpływają na wzrost i rozwój roślin uprawnych. Należą do nich czynniki abiotyczne, obejmujące warunki pogodowe (promieniowanie słoneczne, temperaturę, ilość opadów i inne) i glebowe oraz czynniki biotyczne, obejmujące natężenie chorób i szkodników, a także czynniki uprawowe. Wymienione czynniki tworzą zmienne warunki środowiskowe, które decydują o zróżnicowaniu plonu i innych cech ilościowych odmian roślin uprawnych. To zjawisko oddziaływania zmiennych warunków środowiskowych na cechy różnych genotypów jest skomplikowane i trudne do interpretacji. Przejawia się ono zwykle odmienną reakcją (funkcją reakcji) cech ilościowych genotypów na warunki środowiskowe, czyli interakcją genotypowo-środowiskową. Można ją empirycznie wykryć i opisać w kategoriach różnych modeli statystycznych, wywodzących się z dwuczynnikowego modelu analizy wariancji (Gauch, 1992; Patterson, 1997; Piepho, 1998; Annicchiarico, 2002 b; Piepho i van Eeuwijk, 2002; Mądry, 2003; Mekbib, 2003; Pacheco i in., 2005; Yan i Kang, 2003). Znacznie trudniejsze jest badanie biologicznego mechanizmu uwarunkowania interakcji genotypowo-środowiskowej (Motzo i in., 2001; Yan i Hunt, 2001; Brancourt-Hulmel i Lecomte, 2003; Sinebo, 2005; Rodriguez i in., 2008).

W celu scharakteryzowania reakcji cech ilościowych genotypów na zmienne warunki środowiskowe (i określenia ich rolniczej użyteczności), wartość danej cechy genotypów opisuje się matematycznie jako sumę efektów wywołanych czynnikami genetycznymi (G), efektów potencjału plonotwórczego środowisk (E) oraz efektów nieaddytywnych, związanych z każdą kombinacją genotypu i warunków środowiskowych, zwanych efektami interakcji genotypowo-środowiskowej). Poniżej podano podstawowe pojęcia

stosowane w statystycznym opisie reakcji cech ilościowych genotypów na zmienne warunki środowiskowe.

Średnia genotypowa danej cechy (np. plonu) jest średnią tej cechy danego genotypu poprzez konkretne środowiska lub w populacji środowisk (miejscowości w rejonie uprawy lub lat). Natomiast efekt główny genotypu dla danej cechy jest różnicą między średnią genotypową, a średnią ogólną dla wszystkich (badanych) genotypów (Annicchierico, 2002 b; Gauch, 2006; Gauch i in., 2008).

Informacja o średniej plonu genotypu, choć niewątpliwie ważna, nie stanowi wystarczającej wiedzy dla celów hodowlanych. Zasadniczym pytaniem w hodowli jest: „który genotyp i w jakich środowiskach plonuje najwyżej?”, ponieważ najczęściej okazuje się, że nie ma genotypu lepszego od innych w każdych możliwych (obserwowanych) warunkach, a zaledwie lepszy od innych w części z docelowych warunków środowiskowych. Efekty połączonego wpływu genotypów i środowisk, niewytłumaczalne przez sumę efektów głównych, nazywane są **efektami interakcji GE** (Gollob, 1968; Gauch, 1992, 2006; Gauch i Zobel, 1997; Kang, 1998, 2002; Annicchierico, 2002 b).

Opisywane różnice w przystosowaniu genotypów do środowisk wiążą się z pojęciem **Crossover Interaction (COI)**, określającym zmiany uporządkowania genotypów pod względem danej cechy (zwykle plonu) w różnych środowiskach (Cornelius i in., 1992; Crossa i in., 1993; Yan i in., 2000; Yan i Hunt, 2001; Crossa i in., 2002; Lillemo i in., 2005; Annicchiarico i in., 2006 b). Jeżeli dwa środowiska nie wykazują tego typu interakcji dla plonu, to uporządkowanie genotypów pod względem tej cechy jest w nich takie samo, a więc ten sam genotyp najwyżej plonuje, ten sam jest drugi w tych środowiskach itd. Jak zauważyli Gauch i Zobel (1997), pojęcie Crossover Interaction, określające interakcję polegającą na zmianie uporządkowania genotypów (pod względem badanej cechy) w różnych środowiskach nie jest rozwiązaniem idealnym, chociażby z tej przyczyny, że ważniejszy jest porządek wśród genotypów będących w czołówce pod względem badanej cechy, a mniej ważny jest ich porządek wśród słabych genotypów. Ponadto pojęcie COI nie odzwierciedla często używanej w hodowli odmian statystyki „procent plonowania wzorca”.

Stabilność plonowania

Genotypami stabilnymi nazywa się genotypy niewykazujące zmienności efektów interakcji GE (lub względnie niewielką ich zmienność). Plon takich genotypów w środowiskach jest silnie skorelowany dodatnio ze średnim plonem środowiskowym (Annicchiarico, 1997 b; Grausgruber i in., 2000; Sivapalan i in., 2000; Mądry, 2003; Annicchiarico i Perenzin, 2004; Li i in., 2006; Mądry i Kang, 2005). Dlatego stabilność plonowania genotypu jest jego ważną zaletą i stanowi jeden dwóch warunków szerokiej adaptacji genotypu. Drugim warunkiem, który musi być jednocześnie spełniony przez genotyp o szerokiej adaptacji, jest relatywnie wysoka średnia genotypowa dla plonu. Analiza stabilności plonowania genotypów jest badaniem statystycznym, polegającym na opisie odstępstwa rzeczywistego kształtu krzywej reakcji plonu genotypów na środowiska od reakcji stabilnej, czyli równoległej do średniej reakcji. Stosuje się różne parametry stabilności oparte na jedno- i wielowymiarowych modelach stałych i mieszanych dla danych w dwukierunkowej klasyfikacji genotypy x środowiska, pochodzących z serii

doświadczeń odmianowych. Analiza stabilności również jest podejściem do upraszczającego opisu różnych rzeczywistych funkcji reakcji cechy genotypów na środowiska, przy założeniu liniowości tej reakcji (Caliński i in., 1979, 1995, 1997; Becker i Leon, 1988; Crossa, 1990; Piepho, 1998; Nabugoomu i in., 1999; Annicchiarico, 2002 b; Mądry, 2003; Mądry i Kang, 2005).

Szeroka adaptacja genotypów

Genotypami o szerokiej adaptacji są nazywane te genotypy, które plonują powyżej średniej środowiskowej w znaczącej większości środowisk. O stopniu szerokiej adaptacji genotypu decyduje zarówno częstość (prawdopodobieństwo) plonowania danego genotypu powyżej średniej środowiskowej, jak i wielkość tej przewagi (Kang, 1993; Lin i Binns, 1994; van Eeuwijk i in., 1995; Sivapalan i in., 2000; Annicchiarico, 2002 a,b; Tollenaar i Lee, 2002; Trethowan i in., 2002; Mekbib, 2003; Samonte i in., 2005; Annicchiarico i in., 2006b; Mathews i in., 2006; Sharma i in., 2007; Rodriguez i in., 2008).

Genotypami o wąskiej (lokalnej, specyficznej) adaptacji są nazywane te genotypy, które plonują powyżej średniej środowiskowej w pewnej grupie środowisk (Lin i Binns, 1994; van Eeuwijk i in., 1995; Annicchiarico, 1997 a, 2002 a,b; Patterson, 1997; Haussmann i in., 2000; Sivapalan i in., 2000; Chapman i de la Vega, 2002; Bertran i in., 2003; Wamatu i in., 2003; Annicchiarico i in., 2005, 2006a; Samonte i in., 2005; Kaya i in., 2006; Worku i in., 2007).

Analiza adaptacji (rodzaju adaptacji, zdolności adaptacyjnej) genotypów jest badaniem statystycznym, polegającym na identyfikacji i upraszczającym opisie odrębnych (rodzajów) reakcji cechy genotypów na środowiska oraz wskazaniu genotypów o szerokiej lub wąskiej adaptacji (Caliński i in., 1987 a,b, 1995; Crossa, 1990; Gauch, 1992, 2006; Lin i Binns, 1994; Basford i Cooper 1997; Sivapalan i in., 2000; Annicchiarico, 2002 b; Yan i Kang, 2003; Gauch i in., 2008).

Genotypy podobnie reagujące na zmienne warunki środowiskowe

Wyszukiwanie podobieństw w reakcji plonu genotypów na zmienne warunki środowiskowe stanowi postępowanie, ułatwiające wnioskowanie o przydatności genotypów w przestrzeni rolniczej. Na podobieństwa funkcji reakcji cechy genotypów na zmienne warunki środowiskowe składają się podobieństwa średnich genotypowych i podobieństwa genotypowych profili efektów interakcji GE (Sivapalan i in., 2000; Annicchiarico i in., 2006 b; Chapman i de la Vega, 2002; Samonte i in., 2005; Kaya i in., 2006; Sharma i in., 2007; Rodriguez i in., 2008).

Jednym ze sposobów podejścia do analizy serii doświadczeń odmianowych, jest **podział genotypów i środowisk na grupy jednorodne**, w obrębie których zmienność efektów interakcji GE jest odpowiednio zmniejszona w stosunku do zmienności tych efektów w całej serii doświadczeń (Cooper i Delacy, 1994; Gauch i Zobel, 1997; Robert, 1997; Voltas i in., 1999; Hühn i Truberg, 2002; de la Vega i Chapman, 2006). Wobec tego, w każdej grupie jednorodnej genotypów lub środowisk profile efektów interakcji GE są podobne (Crossa i in., 1991; Gauch i Zobel, 1996; McLaren, 1996; Voltas i in., 1999; Haussmann i in., 2000; Sivapalan i in., 2000; Annicchiarico, 2002 a; Lillemo i in., 2005; de la Vega i Chapman, 2006; Kaya i in., 2006). W tym rodzaju analizy danych z serii doświadczeń odmianowych nieodzowna jest także przystępna ocena zróżnicowania i

relacji pomiędzy grupami obiektów tj. genotypów i środowisk pod względem efektów interakcji GE. Takie podejście jest bardzo przydatne i efektywne w praktyce hodowli i oceny odmian do badania różnych aspektów reakcji genotypów na zmienne warunki środowiskowe. Praktyczne znaczenie ma grupowanie środowisk podobnie różnicujących plon genotypów, czyli tworzących **megaśrodowiska**, które mogą identyfikować pewne podrejonu w badanym rejonie uprawy. Megaśrodowisko jest charakterystycznym (rozległym), niekoniecznie ciągłym, obszarem o podobnych właściwościach (Gauch i Zobel, 1997; Atlin i in., 2000; de la Vega i Chapman, 2006). Profile efektów interakcji GE dla badanych środowisk, tworzących megaśrodowisko są podobne (Annicchiarico, 1997 b, 2002 a,b; Gauch i Zobel, 1997; Robert, 1997; Alagarswamy i Chandra, 1998; Atlin i in., 2000; Chapman i de la Vega, 2002; Annicchiarico i in., 2005, 2006 a,b). Zatem zmienność efektów interakcji genotypu w zróżnicowanych warunkach środowiskowych występujących w megaśrodowisku jest odpowiednio mniejsza niż w całym zbiorze badanych środowisk. Dlatego te same genotypy będą najwyżej plonować we wszystkich środowiskach należących do danego megaśrodowiska (genotypy rekomendowane do tych warunków środowiskowych). Wydzielenie megaśrodowisk pomaga w racjonalnej redukcji liczby miejscowości (w doświadczeniach określających plenność odmian) bez pogorszenia reprezentatywności wybranych miejscowości w stosunku do badanego rejonu uprawy (Caliński i in., 1987 a,b; Gauch i Zobel, 1996, 1997; Robert, 1997; Voltas i in., 1999; Annicchiarico, 2002 a,b; Hühn i Truberg, 2002; Truberg i Hühn, 2002; Trethowan i in., 2003; Annicchiarico i in., 2005; Roozeboom i in., 2008).

Poprawa dokładności oceny efektów interakcji GE (ang. accuracy gain)

Obserwowaną zmienność badanej cechy ilościowej (np. plonu) genotypów w środowiskach można podzielić na powtarzalną zmienność plonu genotypów w środowiskach (a więc stanowiącą oznakę prawidłowości zjawiska, ang. signal) i na zmienność efektów losowych, nazywanych błędem doświadczalnym lub szumem (ang. noise), która jest spowodowana przyczynami niekontrolowanymi, czyli niepowtarzalnymi, losowymi (Gauch, 1992, 2006; Gauch i in., 2008; Piepho i in., 2008). Poprawę dokładności wnioskowania można uzyskać przez statystyczne usunięcie efektów losowych z analizowanych danych doświadczalnych (Gauch, 1988, 1990, 1992, 2006; Gauch i Zobel, 1989, 1996, 1997; Crossa i in., 1991; Nachit i in., 1992; Annicchiarico i Perenzin, 1994; Voltas i in., 1999; Sivapalan i in., 2000; Annicchiarico, 2002 b; Ebdon i Gauch, 2002 b; Dias i Krzanowski, 2003; Wamatu i in., 2003; Gauch i in., 2008; Piepho i in., 2008). Takie dane, dokładniej wyrażające relacje genotypu ze środowiskiem, można dalej analizować za pomocą różnych metod oceny i interpretacji interakcji GE.

1.2. Wnioskowanie o środowiskowej reakcji odmian

Głównym celem hodowli gatunków roślin rolniczych jest tworzenie nowych odmian o dużej (lepiej od starszych odmian) zdolności adaptacyjnej do zmiennych warunków środowiskowych w przestrzeni i czasie w obrębie danego rejonu uprawy, który jest formalnie rozumiany jako populacja pól (miejscowości) w tym rejonie (Bisford i Cooper, 1997; Annicchiarico, 2002 b; Annicchiarico i in., 2006a; Roozeboom i in., 2008). Takie odmiany powinny odznaczać się średnio (w rejonie uprawy) względnie wysokim plonem, który jest stabilny, czyli jak najściślej zgodny ze zdolnością plonotwórczą środowisk

miejsowości i lat, mierzoną za pomocą średnich środowiskowych plonu (Becker i Leon, 1988; Kang, 1993; Piepho, 1996, 1998; Annicchiarico, 2002 b; Piepho i van Eeuwijk, 2002). Dlatego powinny być one odporne lub tolerancyjne na stresy biotyczne i abiotyczne, takie, jak choroby i szkodniki oraz suszę, niedobory składników pokarmowych, a także inne niekorzystne warunki glebowe i pogodowe (Nachit i in., 1992; Tollenaar i Lee, 2002; Annicchiarico i in., 2006a; Joshi i in., 2007). Wymienione atrybuty odmian mogą ograniczyć ich efekty interakcji genotypowo-środowiskowej (interakcji GE) i zwiększyć stopień stabilności plonowania. Pomimo tego, że dobre plonowanie w sensie podanym wyżej jest warunkiem koniecznym nowoczesnych odmian, powinny one odznaczać się także podobnym, jak dla plonu, zachowaniem pod względem cech jakości plonu (Collaku i in., 2002; Gauch i in., 2008; Yan i Fréreau-Reid, 2008).

Rejon uprawy może być określony jako obszar rolniczy jednorodny pod względem przestrzennych warunków przyrodniczych (Yan i in., 2000; Roozeboom i in., 2008) lub jednorodny (złożony z jednorodnych pól, czyli agro-ekosystemów) pod względem charakteru (rodzaju) zróżnicowania plonu (Annicchiarico i Perenzin, 1994; Atlin i in., 2000; Yan i in., 2000; Annicchiarico 2002a,b; Lillemo i in. 2004) albo też innych cech (Collaku i in., 2002; Joshi i in. ,2007) odmian, reprezentatywnych dla danej puli genowej. Zwykle rejony uprawy są wydzielane według drugiego kryterium (Caliński i in., 1987 a,b, 1995; Yau i in., 1991; Annicchiarico i Perenzin, 1994; Atlin i in., 2000; Yan i in., 2000; Annicchiarico, 2002 a,b; Gauch i in., 2008; Roozeboom i in., 2008). Wielkość obszarowa wydzielanych rejonów uprawy w danym kraju lub w skali międzynarodowej zależy od określenia stopnia jednorodności tych rejonów pod względem przyjętego kryterium (Atlin i in., 2000; Lillemo i in., 2004). Można uznać, że obszar całego kraju stanowi jeden rejon uprawy danego gatunku rośliny, a można podzielić go na kilka bardziej wyrównanych podrejonów uprawy, zwanych megaśrodkami, w których odmiany wykazują mniejszą zmienność efektów interakcji GE dla plonu, czyli są podobnie zróżnicowane pod względem porządku i różnic plonowania w miejscowościach podrejonów (Annicchiarico i Perenzin, 1994; Gauch i Zobel, 1997; Atlin i in., 2000; Yan i in., 2000; Annicchiarico, 2002 a,b; Lillemo i in., 2004; Annicchiarico i in., 2005; de la Vega i Chapman, 2006; Mathews i in., 2006).

Z punktu widzenia oceny plonowania odmian, ważne jest analizowanie zmienności ich plonowania w podrejonach i/lub większym rejonie uprawy, złożonym z podrejonów. Odmiany plonujące średnio (wśród badanych genotypów) względnie wysoko i stabilnie w obrębie danego podrejonu uprawy, wykazują dużą zdolność adaptacyjną do warunków środowiskowych w obrębie tego podrejonu (odmiany o wąskiej, lokalnej lub specyficznej zdolności adaptacyjnej, Ceccarelli, 1994; Lin i Binns, 1994; Basford i Cooper, 1997; Atlin i in., 2000; Sivapalan i in., 2000; Annicchiarico, 2002a,b; de la Vega i Chapman, 2006). Natomiast odmiany plonujące średnio względnie wysoko i stabilnie w obrębie dużego rejonu uprawy, wykazują dużą zdolność adaptacyjną do warunków środowiskowych w takim rejonie, w dużym stopniu zmiennych (odmiany o szerokiej zdolności adaptacyjnej, Ceccarelli, 1989; Kang, 1993, 2002; Piepho, 1998; Annicchiarico, 2002 a,b; Piepho i van Eeuwijk, 2002; Yan i Kang, 2003; Annicchiarico i in., 2005; de la Vega i Chapman, 2006). Hodowcy mogą dążyć do wytworzenia odmian o szerokiej zdolności adaptacyjnej do

dużego rejonu uprawy lub też o wąskiej zdolności adaptacyjnej do poszczególnych podrejonów uprawy (Basford i Cooper, 1997; Atlin i in., 2000; Annicchiarico, 2002 a,b; Annicchiarico i in., 2005; de la Vega i Chapman, 2006). Hodowla odmian o wąskiej adaptacji jest szczególnie preferowana w krajach o bardzo zróżnicowanych warunkach agroekologicznych (Basford i Cooper, 1997; Atlin i in., 2000; Lillemo i in., 2004; de la Vega i Chapman, 2006; Roozeboom i in., 2008). W wielu krajach powszechne jest przestrzeganie doktryny, według której w praktyce rolniczej preferowane są odmiany roślin rolniczych o szerokiej adaptacji. Dlatego przed hodowlą roślin najczęściej stawia się zadanie wytwarzania szeroko przystosowanych odmian tych roślin (Ceccarelli, 1989, 1994; Kang, 1993; Lin i Binns, 1994; Piepho, 1998; Annicchiarico, 2002 b; Mekbib, 2003).

Pojęcia „wąska adaptacja” oraz „szeroka adaptacja” stosowane są także w odniesieniu do oceny plonowania odmian w innych rodzajach środowisk, niż miejscowości, takich, jak systemy uprawy roli i roślin, dawki nawożenia, nawodnienia, lub pestycydów, gęstości siewu, lata albo ich kombinacje (Ortiz-Monasterio i in., 1997; Piepho, 1998; Annicchiarico, 2002 a,b; Brancourt-Hulmel i Lecomte 2003; Ma i in. 2004; Sinebo 2005; Muurinen i Peltonen-Sainio, 2006; Worku i in., 2007). Wymienione rodzaje środowisk są ważne najczęściej w badaniach z zakresu fizjologii plonowania lub uprawy roślin.

Hodowla i wdrażanie odmian ważnych roślin uprawnych o wąskiej adaptacji do podrejonów (lub pewnych systemów uprawy roli i roślin) albo o szerokiej adaptacji w dużym rejonie uprawy (lub do różnych systemów uprawy roli i roślin) jest lepszą strategią wykorzystania potencjału przyrodniczego i umiarkowanych nakładów na środki produkcji (nawożenie, ochrona, nawadnianie), niż stosowanie dużych nakładów na te środki w uprawie odmian o mało poznanej zdolności adaptacyjnej. Taka doktryna rolnictwa jest zgodna z ideą rolnictwa zrównoważonego (Ceccarelli, 1989, 1996; Annicchiarico i in., 2006 a).

Trafny wybór odmian o wąskiej lub szerokiej adaptacji w zmiennych przestrzennie warunkach środowiskowych (rejonie uprawy), spośród tych odmian, które są zgłoszone przez hodowców lub innych specjalistów w danym roku, wymaga oceny rodzaju reakcji plonu rozpatrywanych genotypów na zmienne warunki środowiskowe w obrębie danego rejonu uprawy, opartej na wynikach doświadczeń. Takie badania, nazywane często analizą i interpretacją interakcji GE, można podzielić na dwa podstawowe etapy. Pierwszy etap polega na przeprowadzeniu jednorocznej lub wieloletniej (zależnie od możliwości merytorycznych i technicznych) serii doświadczeń przedrejestrów, rejestrów i porejestrów w miejscowościach, wybranych możliwie reprezentatywnie z dużego obszaru rolniczego (zwykle całego kraju), który jest najszerzej rozumianym rejonem uprawy danej rośliny rolniczej (Caliński i in., 1987 a,b; Lin i Binns, 1994; Patterson, 1997; Annicchiarico, 2002 a,b; Yan i Kang, 2003; de la Vega i Chapman, 2006; Roozeboom i in., 2008). W seriach doświadczeń obserwuje się rolniczy plon roślin oraz inne cechy opisujące produktywność roślin, odporność na stresy biotyczne i abiotyczne, jakość plonu itp. Podobnie wygląda eksperymentalny etap badań nad oceną funkcji reakcji genotypów na różne technologie uprawy (uprawa roli i roślin, nawożenie, ochrona roślin itp.). Polega on na wykonaniu doświadczeń dwu- lub wieloczynnikowych (z wymienionymi czynnikami) w jednej miejscowości i roku lub też w serii wielokrotnej i/lub wieloletniej (Piepho, 1998;

Brancourt-Hulmel i Lecomte, 2003; Ma i in., 2004; Sinebo, 2005; Worku i in., 2007). Natomiast drugi etap tych badań stanowi analiza statystyczna danych dla plonu lub/i innych cech z wymienionych rodzajów doświadczeń, za pomocą odpowiednich metod. Umożliwiają one analizę genotypowych efektów głównych oraz efektów interakcji GE dla tych cech, a przez to pozwalają sprawnie i wiarygodnie analizować i rozróżniać reakcje badanych odmian pod względem poszczególnych cech na zmienne warunki środowiskowe (Caliński i in., 1979, 1980, 1983, 1987 a,b, 1995; Crossa, 1990; Gauch, 1992, 2006; Lin i Binns, 1994; Basford i Cooper, 1997; Annicchiarico, 2002 b; Yan i Kang, 2003; Gauch i in., 2008). Różne rodzaje środowiskowych reakcji plonowania badanych odmian określają różne rodzaje ich zdolności adaptacyjnej w obrębie rejonu uprawy (Sivapalan i in., 2000; Mathews i in., 2006; de la Vega i in., 2007 a,b). Na tej podstawie badane odmiany można podzielić na te o szerokiej adaptacji i wąskiej adaptacji do określonych typów środowisk (podrejonów uprawy, systemów i technologii uprawy roli i roślin itp.).

2. Metody statystyczne służące do interpretacji interakcji

2.1. Cele analiz statystycznych

Metody statystyczne opracowane do wnioskowania o środowiskowej reakcji plonu lub innych cech odmian na podstawie danych z serii doświadczeń hodowlanych lub innych doświadczeń z genotypami i czynnikami środowiskowymi, służą głównie:

1. zwiększeniu precyzji oceny rzeczywistej reakcji cech odmian na środowiska (Gauch, 1988, 1990, 1992, 2006; Gauch i Zobel, 1988, 1989, 1996, 1997; Crossa i in., 1991; Nachit i in., 1992; Voltas i in., 1999; Sivapalan i in., 2000; Annicchiarico, 2002 b; Dias i Krzanowski, 2003; Wamatu i in., 2003; Gauch i in., 2008; Piepho i in., 2008),
2. grupowaniu odmian jednocześnie podobnych pod względem genotypowego profilu efektów interakcji GE i genotypowego efektu głównego dla rozpatrywanej cechy, czyli rodzaju (typu) reakcji tej cechy na warunki środowiskowe i określaniu średnich grupowych reakcji (ang. group-mean response to environments); ułatwia ono znacząco opis rodzaju środowiskowej reakcji każdej grupy odmian (zamiast pojedynczych odmian), co w przypadku analizy reakcji plonu usprawnia ocenę rodzajów zdolności adaptacyjnej dużej liczby odmian w doświadczeniach hodowlanych i testujących nowe odmiany (Caliński i in., 1987 a,b; Crossa, 1990; DeLacy i Cooper, 1990; Lin i Binns, 1994; Basford i Cooper, 1997; Voltas i in., 1999; Haussmann i in., 2000; Sivapalan i in., 2000; Yan i in., 2000; de la Vega i in., 2007 a,b; Yan i Hunt, 2001; Annicchiarico, 2002 a,b; Adugna i Labuschagne, 2002; Yan i Kang, 2003; Pacheco i in., 2005; Kaya i in., 2006; Zhang i in., 2006 a,b; Paderewski i in. 2010, 2011),
3. grupowaniu środowisk (głównie miejscowości) podobnych pod względem środowiskowego profilu efektów interakcji GE, czyli rodzaju zróżnicowania danej cechy (głównie plonu) odmian (ang. discriminating patterns of genotypes in environments); pozwala ono zwykle na zmniejszenie liczby miejscowości, nie pogarszając ich reprezentatywności względem rozważanego rejonu uprawy, lub uzasadnia obiektywnie określony podział rejonu uprawy na bardziej jednorodne podrejon, zwane megaśrodowiskami (Annicchiarico i Perenzin, 1994; Lin i Binns, 1994; Atlin i in., 2000; Sivapalan i in., 2000; Yan i in., 2000; de la Vega i in., 2007 a,b;

- Yan i Hunt, 2001; Annicchiarico ,2002 a,b; Collaku i in., 2002; Trethowan i in., 2002, 2003; Lillemo i in., 2004; Annicchiarico i in., 2005, 2006 a,b; Kaya i in., 2006; Zhang i in., 2006 a,b; Joshi i in., 2007; Roozeboom i in. ,2008),
4. przedstawieniu graficznemu dobrze przybliżonych informacji o podobieństwie rzeczywistej środowiskowej reakcji danej cechy poszczególnych odmian i ich grup jednorodnych, a także o podobieństwie środowisk (oraz megaśrodków) pod względem efektów interakcji GE (Caliński i in., 1979, 1980, 1983, 1987 a,b, 1995; Gauch, 1988, 1992; Crossa i in., 1991; Gauch i Zobel, 1997; Nachit i in., 1992; Voltas i in., 1999; Annicchiarico, 2002 b; Ebdon i Gauch, 2002 a,b; Crossa i Cornelius, 2002; Crossa i in., 2002; Yan i Kang, 2003; Annicchiarico i in., 2005; Samonte i in., 2005; Li i in.,2006; Weber i in., 2007; Gauch i in., 2008).

Metody statystyczne do wnioskowania o środowiskowej reakcji cech odmian na podstawie danych z pojedynczych doświadczeń lub serii doświadczeń z odmianami są bardzo liczne i różnorodne w treści matematycznej (jednowymiarowe i wielowymiarowe albo oparte na stałym lub mieszanym modelu analizy wariancji) i metodologicznej. Posiadają one różną przydatność do realizacji wymienionych celów badawczych. Jedne z nich pozwalają na osiągnięcie w zadowalającym stopniu wszystkich wymienionych czterech zadań, inne zaś mają ograniczoną efektywność metodyczną w rozważanych pracach.

Większość metod statystycznych do badania interakcji GE została opracowana dla danych, stanowiących kompletną klasyfikację dwukierunkową krzyżową, w której jednym kierunkiem są genotypy, drugim zaś środowiska (klasyfikacja typu genotypy $\times$ środowiska).

Metody wielowymiarowe, ukierunkowane na analizę interakcji GE, można podzielić na dwie grupy o komplementarnych możliwościach wnioskowania. Pierwsza grupa obejmuje metody analizy skupień (ang. clustering methods), służące do klasyfikacji (grupowania) genotypów i środowisk podobnych pod względem podanych wyżej kryteriów (punkty 2 i 3). Do drugiej grupy należą tzw. metody ordynacyjne, tj. metody oceny zróżnicowania i relacji obiektów (ang. ordination methods), przydatne do badania podobieństwa genotypów i środowisk pod względem wymienionych kryteriów (punkty 2 i 3).

Metody analizy skupień umożliwiają dobre wykonanie podanych wyżej zadań 2 i 3, zaś są nieprzydatne do realizacji zadań 1 i 4. Natomiast metody ordynacyjne są bardzo skuteczne przy wykonywaniu zadań 1 i 4, zaś mniej przydatne w grupowaniu podobnych genotypów i środowisk. Zatem, łączne zastosowanie dwóch metod, jednej z grupy analizy skupień, drugiej zaś z grupy metod ordynacyjnych, pozwala stworzyć znacznie bardziej efektywną metodykę do bogatszego i bardziej wiarygodnego wnioskowania statystycznego o środowiskowej reakcji danej cechy genotypów (przydatną do wykonania wszystkich czterech rozpatrywanych zadań wnioskowania), niż przy użyciu tylko jednej z nich. Łączne zastosowanie metod klasyfikacyjnych (analizy skupień) i ordynacyjnych do wielo cechowej oceny różnorodności obiektów (rozważano tutaj różnorodność ilościowej reakcji genotypów na warunki środowiskowe) zostało nazwane w języku angielskim pattern analysis, które dotychczas nie ma utrwalonego odpowiednika polskiego (Williams, 1976; Fox i Rosielle, 1982; Cooper i DeLacy, 1994; McLaren, 1996; Alagarswamy i Chandra, 1998; Kaya i in., 2006; Zhang i in., 2006 a,b).

2.2. Zastosowania analizy AMMI i innych metod statystycznych do badania reakcji odmian na środowiska

Dwuczynnikowe modele analizy wariancji (modele ANOVA)

Dla danych z doświadczeń w klasyfikacji dwukierunkowej krzyżowej postaci genotypy $\times$ środowiska, odpowiednie modele ANOVA uważane są za efektywne narzędzie do analizy średnich obiektowych (efektów głównych dla obu czynników) i wykrywania (oceny istotności) efektów interakcji między tymi czynnikami (Gauch, 1988, 1990, 1992, 2006; Crossa, 1990; Cooper i Delacy, 1994; Annicchiarico, 2002 b; Gauch i in., 2008). Różnorodność modeli ANOVA związana jest z charakterem przypisywanym poszczególnym czynnikom, tj. traktowaniem badanych czynników jako stałe (o ustalonych poziomach, ang. fixed factor) lub losowe (ang. random factor). Gdy oba czynniki uważane są jako stałe to odpowiedni do takiego założenia model ANOVA nazywany jest modelem stałym (ang. fixed model). Jeśli oba czynniki uznano za losowe to model ANOVA nazywany jest modelem losowym (ang. random model). Natomiast jeśli jeden czynnik jest uznany za stały, a drugi za losowy, wtedy odpowiednim modelem ANOVA jest model mieszany (ang. mixed model) — (Caliński i in., 1987 a,b, 1995; Piepho, 1996, 1998; Patterson, 1997; Annicchiarico, 2002 b; Ebdon i Gauch, 2002 a,b; Dias i Krzanowski, 2003; Mądry, 2003; Piepho i in., 2008).

Rozwinięcie dwuczynnikowego modelu ANOVA

Dwuczynnikowy model addytywny, liniowy, analizy wariancji dla klasyfikacji dwukierunkowej genotypy $\times$ środowiska nie umożliwia przejrzystej i sprawnej analizy oraz interpretacji efektów interakcji GE, ukierunkowanych na potrzeby hodowli i uprawy roślin (Shaffi i Price, 1998; Viele i Srinivasan, 2000; Annicchiarico, 2002 a,b; Ebdon i Gauch, 2002 a,b; Dias i Krzanowski, 2003; Annicchiarico i in., 2006 a,b).

Ponieważ w analizie reakcji cech genotypów na zmienne warunki środowiskowe potrzebne jest bardziej szczegółowe rozpatrywanie efektów interakcji GE, powstały modele wywodzące się z addytywnego modelu ANOVA (np. modele regresji łącznej, AMMI i GGE). Parametry takich modeli są bardziej adekwatne (niż w modelu addytywnym ANOVA) do wnioskowania o stabilności plonowania i adaptacji (szerokiej lub wąskiej) genotypów. Takie modele są nazywane modelami upraszczającymi efekty interakcji GE (ang. parsimonious models) — (Viele i Srinivasan, 2000; Annicchiarico, 2002 b; Crossa i Cornelius, 2002; Dias i Krzanowski, 2003). Dobrym modelem jest taki, który opisuje wiarygodnie charakter interakcji GE, czyli oceny efektów tej interakcji są możliwie precyzyjne.

Model analizy regresji łącznej, JREG (ang. **Joint Regresion analysis**, Caliński i in., 1979, 1995, 1997; Becker i Leon, 1988; Crossa, 1990; Piepho, 1998; Nabugoomu i in., 1999; Annicchiarico, 2002 b; Mądry, 2003; Mądry i Kang, 2005). Do najczęściej stosowanych metod statystycznych, przydatnych do oceny reakcji cech genotypów na zmienne warunki środowiskowe, należy analiza regresji łącznej, która jest metodą jednowymiarową. Wykorzystuje liniową funkcję regresji średnich badanej cechy każdego genotypu od średnich środowiskowych tej cechy do uproszczenia opisu reakcji genotypów na zmienne warunki środowiskowe (Caliński i in., 1979, 1995, 1997; Becker i Leon, 1988; Crossa, 1990; Annicchiarico i Perenzin, 1994; Annicchiarico, 1997b; Piepho 1998;

Nabugoomu i in., 1999; Ibanez i in., 2001; Adugna i Labuschagne, 2002; Annicchiarico, 2002 b; Mądry 2003; Mądry i Kang 2005). Regresja plonu (lub innej cechy) genotypu względem średnich środowiskowych określa stabilność plonowania (lub innej cechy) oraz intensywność lub ekstensywność tego genotypu. Odchylenia empirycznej funkcji reakcji plonowania genotypów od wyznaczonej funkcji regresji liniowej są interpretowane jako stopień niestabilności genotypów.

Analiza regresji łącznej, mimo swej względnej prostoty, jest metodą ze znacznymi wadami w zakresie skuteczności badania środowiskowej reakcji cechy genotypów. Zakłada ona liniową zależność plonu genotypów od średnich środowiskowych oraz liniową zależność plonu w środowiskach od średnich genotypowych, co najczęściej nie jest spełnione w rzeczywistości. Takie ograniczenie opisu reakcji genotypów na warunki środowiskowe może prowadzić do nieodzwierciedlenia obserwowanych i wyraźnie nieliniowych reakcji cech genotypów (Annicchiarico i Perenzin, 1994; Chapman i in., 1997; Zobel i in., 1988; Annicchiarico i in., 2005). Po drugie, nie pozwala ona na sprawne i wiarygodne grupowanie genotypów o podobnej reakcji środowiskowej (Caliński i in., 1979, 1995, 1997; Crossa, 1990; Gauch, 1992; Nachit i in., 1992; Piepho, 1996, 1998; Basford i Cooper, 1997; Nabugoomu i in., 1999; Adugna i Labuschagne, 2002; Annicchiarico, 2002 b; Mądry, 2003; Mądry i Kang, 2005; Weber i in., 2007). Wspomnianych wad nie posiadają metody wielowymiarowe. Pozwalają one na nieobciążoną i precyzyjną ocenę oraz analizę — pod różnymi kątami — rzeczywistej reakcji genotypów na warunki środowiskowe, niezależnie od jej kształtu.

Model AMMI (ang. **A**dditive **M**ain effects and **M**ultiplicative **I**nteraction model, Caliński i in., 1979, 1980, 1983, 1987 a,b, 1995; Gauch, 1988, 1990, 1992, 2006; Gauch i Zobel, 1989, 1996, 1997; Annicchiarico, 2002b; Dias i Krzanowski, 2003; Yan i in., 2007; Gauch i in., 2008) zakłada addytywność efektów głównych genotypów i środowisk oraz efektów interakcji GE (tak samo jak model ANOVA). Efekty interakcji GE w tym modelu są przedstawione w postaci multiplikatywnych parametrów dla genotypów i dla środowisk (Gollob, 1968; Gauch, 1988, 1990, 1992, 2006; Gauch i Zobel, 1996; Crossa i in., 1990). Takie postępowanie pozwala opisać wiernie i w sposób uproszczony dowolną reakcję genotypów na zmienne warunki środowiskowe. Analiza AMMI jest szeroko stosowana do opisu reakcji genotypów roślin rolniczych (i nie tylko) na zmienne warunki środowiskowe (Crossa i in., 1991; Annicchiarico i Perenzin, 1994, 2002 a,b; Cornelli i in., 1996; Link i in., 1996; Gauch i Zobel, 1997; Shaffi i Price, 1998; Voltas i in., 1999; Wade i in. 1999; Sivapalan i in. 2000; Motzo i in. 2001; Ebdon i Gauch 2002a,b; Pinnschmidt i Hovmöller, 2002; Wamatu i Thomas, 2002; Dias i Krzanowski, 2003; Annicchiarico i in., 2005, 2006 a,b; Annicchiarico i Piano, 2005; Cassida i in., 2005; Pacheco i in., 2005; Li i in., 2006; Sudarić i in., 2006; de la Vega, 2006 a,b; de la Vega i Chapman, 2006). Analiza danych oparta na modelu AMMI jest nazywana analizą AMMI.

Znane są, także w Polsce, opracowania teoretyczne dotyczące zastosowania analizy składowych głównych (rozkładu macierzy efektów interakcji GE według wartości osobliwych) do graficznego przedstawienia profili efektów interakcji GE na wykresie podwójnym AMMI(2), który stanowi element analizy AMMI (Gabriel, 1971; Bradu i Gabriel, 1978; Caliński i in., 1979, 1980, 1983, 1987a,b, 1995). To podejście było

stosowane w nielicznych krajowych pracach naukowych (Caliński i in., 1987 a,b; Drzazga i Krajewski, 2001; Bujak i in., 2006; Mądry i in., 2006; Paderewski i Mądry 2006; Weber i in., 2007).

Model GGE (ang. **Genotype main effects and Genotype $\times$ Environment interaction effects model**, Yan i in., 2000; Yan i Kang, 2003; Gauch, 2006; Yan i in., 2007; Gauch i in., 2008). Model ten jest też nazywany modelem SREG (regresja na parametry środowiskowe, ang: site regression). Jest on podobny do modelu AMMI, lecz różni się od niego tym, że zawiera efekty główne dla środowisk badanej cechy z modelu ANOVA oraz sumę efektów głównych dla genotypów oraz efektów interakcji GE (stąd bierze się jego nazwa w języku angielskim) przedstawioną w postaci sumy składników multiplikatywnych, w których uczestniczą parametry dla genotypów i dla środowisk (Yan i Hunt, 2001; Crossa i in., 2002; Yan i Tinker, 2005; Zieliński i in., 2005; Gauch, 2006). Suma efektów głównych G i efektów interakcji GE pozwala określić ranking plonowania genotypów w środowiskach. Interpretacja parametrów modelu GGE jest prostsza niż dla AMMI gdyż nie wymaga połączenia efektów głównych genotypów i efektów interakcji GE rozpatrywanych w modelu AMMI osobno. Z drugiej strony owo oddzielne rozpatrywanie każdego typu efektów może stanowić przewagę modelu AMMI (np. przy testowaniu istotności tych efektów, Gollob, 1968; Corneliuss, 1993, 1996; Gauch, 1992). Podobnie, jak w analizie AMMI, reakcję genotypów na zmienne warunki środowiskowe najczęściej opisuje się za pomocą ograniczonej liczby składników multiplikatywnych, opartych zwykle na dwóch pierwszych składowych głównych dla efektów GGE (Yan i in., 2007; Gauch, 2006).

W analizie danych z serii doświadczeń, w których czynniki (genotypy i/lub środowiska) można scharakteryzować za pomocą opisujących je atrybutów (wskaźników), stosowane są metody oparte na innych modelach multiplikatywnych, tj. **modelu regresji czynnikowej** (ang. factorial regression) lub **modelu regresji cząstkowych najmniejszych kwadratów** (ang. partial least squares regression model) — (Vargas i in., 2001; Brancourt-Hulmel i Lecomte, 2003).

Komplementarne stosowanie analizy skupień i innych (ordynacyjnych) metod wielowymiarowych. Do wydzielania grup genotypów i środowisk jednorodnych pod względem efektów interakcji oraz oceny zróżnicowania pomiędzy tymi grupami stosuje się różne metody statystyczne. Rozważa się łączne (komplementarne) stosowanie wielowymiarowych metod klasyfikacji — grupowanie obiektów za pomocą analizy skupień (ang. clustering methods) — oraz metod ordynacyjnych służących do oceny zróżnicowania i relacji obiektów (ang. ordination methods).

Modele multiplikatywne wyrażają efekty interakcji GE lub sumę tych efektów z głównymi efektami genotypowymi (efekty G+GE) w formie składników multiplikatywnych. Modelem z multiplikatywnymi efektami interakcji GE, jest model AMMI, zaś z multiplikatywnymi efektami G+GE jest model GGE (model SREG). Z punktu widzenia potrzeb analizy skupień, modele multiplikatywne mogą być wykorzystywane w celu określenia odległości pomiędzy genotypami lub środowiskami. Dodatkowo, parametry składników multiplikatywnych dla wymienionych efektów stwarzają możliwość praktyczną zwykle dość dokładnego przedstawienia i charakterystyki wspomnianego podobieństwa i

niepodobieństwa pomiędzy obiektami w przestrzeni dwóch pierwszych składowych głównych (Cooper i Delacy, 1994; McLaren, 1996; Chapman i in., 1997; Voltas i in., 1999; Hausmann i in., 2000; Yan i Hunt, 2001; Crossa i in., 2002; Lillemo i in., 2005; Yan i Tinker, 2005; Zieliński i in., 2005; de la Vega i Chapman, 2006; Gauch, 2006; Kaya i in. 2006; Zhang i in., 2006a; Yan i in., 2007; Gauch i in., 2008) , a więc możliwy do narysowania na dwuwymiarowym wykresie sposób (Gabriel, 1971; Bradu i Gabriel, 1978).

W badaniach interakcji GE jest stosowana dwustopniowa metoda pattern analysis, oparta na modelu GGE i analizie skupień (Cooper i Delacy, 1994; McLaren, 1996; Chapman i in., 1997; Hausmann i in., 2000; Lillemo i in., 2005; de la Vega i Chapman, 2006; Kaya i in., 2006; Zhang i in., 2006 a,b). W tej metodzie można stosować różne techniki analizy skupień i różne miary wielocechowego niepodobieństwa (odległości) genotypów lub środowisk pod względem efektów interakcyjnych. Najczęściej stosuje się technikę analizy skupień opartą na zasadzie Warda (metodę Warda), która pozwala wydzielić skupienia (grupy) o dużym podobieństwie wewnętrznym. Natomiast miary odległości genotypów lub środowisk pod względem efektów interakcji GE są oparte na dwu pierwszych składowych głównych modelu GGE. Jednak ostatnio dominują zastosowania tylko samej analizy GGE, jako metody graficznej do badania różnych aspektów środowiskowej reakcji genotypów, z pominięciem pierwotnego pomysłu łącznego zastosowania analizy skupień i analizy GGE (Yan i in., 2000; Yan i Kang, 2003; Zieliński i in., 2005; Yan i in., 2007).

Druga wśród ordynacyjnych metod oceny podobieństwa genotypów i środowisk, również oparta na modelu multiplikatywnym wywodzącym się z klasycznego modelu dwuczynnikowej analizy wariancji, jest analiza (model) AMMI. Na łamach czasopisma Crop Science przedstawiona jest bardzo interesująca dyskusja między Gauchem, jako współtwórcą i zwolennikiem analizy AMMI (Gauch, 2006; Gauch i in., 2008), a Yanem, jako współtwórcą i zwolennikiem analizy GGE (Yan i in., 2007) na temat walorów i wad obu tych metod ordynacyjnych w zastosowaniu do badań interakcji GE.

Połączenie analizy AMMI i analizy skupień można wykonać na dwa sposoby: i) dwukrotne stosowanie analizy skupień (Paderewski i in., 2010, 2011) — najpierw podział genotypów na grupy o podobnych efektach interakcji (analiza skupień np. metodą Warda stosowana na odtworzonych przez model AMMI efektach interakcji) a następnie podział na podgrupy ze względu na efekty główne genotypów. Takie postępowanie pozwala zachować kontrolę nad stratą informacji (występującą zawsze podczas grupowania) dla efektów interakcji (które są estymowane z mniejszą precyzją) i dla efektów głównych (estymowane z większą precyzją). ii) stosowanie analizy skupień na odtworzonym modelem AMMI wzorcu reakcji genotypów na środowiska (suma efektów głównych odmian i odtworzonych na podstawie modelu AMMI efektów interakcji). Takie rozwiązanie jest prostsze (Mądry i in., 2011).

Z analizy dorobku zarówno teoretycznego (statystycznego), jak i aplikacyjnego, dotyczącego obu podejść oraz wspomnianej bardzo cennej dyskusji ich autorów, wynikają potrzeby dalszych badań metodyczno-statystycznych nad łączną analizą AMMI i analizą skupień (McLaren, 1996; Voltas i in., 1999; Gauch i in., 2008), która może okazać się efektywną metodą alternatywną albo nawet konkurencyjną w stosunku do łącznej analizy

skupień i analizy GGE, czyli pattern analysis (Williams, 1976; Fox i Rosielle, 1982; Cooper i DeLacy, 1994; Alagarswamy i Chandra, 1998; Kaya i in., 2006; Zhang i in., 2006 a,b).

Spośród znanych autorom tego opracowania publikacji, tylko nieliczne prace odnoszą się do łącznej analizy AMMI i skupień (McLaren 1996; Voltas i in., 1999; Paderewski i in., 2010, 2011; Mądry i in., 2011). McLaren (1996) wskazuje wyraźnie na potrzebę uzupełnienia analizy AMMI o analizę skupień oraz na potencjalnie większą efektywność metodyczną takiej kombinowanej techniki w porównaniu do stosowania tylko analizy AMMI, jako metody ordynacyjnej. Voltas i in. (1999) zastosowali to podejście w ocenie reakcji plonu odmian jęczmienia na agroekologiczne warunki środowisk rolniczych, czyli agroekosystemy w obrębie śródziemnomorskich rejonów Hiszpanii. W pracach Paderewski i in. (2010, 2011) oraz Mądry i in. (2011) stosując łączną analizę AMMI i analizę skupień, wydzielono grupy jednorodne odmian pszenicy ozimej pod względem charakteru ich reakcji plonu na środowiska rolnicze w Polsce.

2.3. Praktyczne zastosowania analiz statystycznych

Ocena stabilności i szerokiej adaptacji genotypów. Jednym z priorytetowych zadań analizy danych hodowlanych jest określenie, które z badanych genotypów mogą być określone jako stabilne — albo poprzez grupowanie genotypów i wskazanie grupy genotypów uznanych za stabilne, albo przez podanie miary porządkującej i różnicującej genotypy pod względem stabilności. W analizie regresji łącznej genotyp stabilny pod względem danej cechy powinien charakteryzować się zarówno proporcjonalną reakcją tej cechy na zmienne warunki środowiskowe mierzone za pomocą średniej środowiskowej (współczynnik regresji dla tej funkcji reakcji powinien być równy 1), jak i przewidywalną reakcją na warunki środowiskowe (relatywnie mała wariancja odchyleń od funkcji regresji) — (Annicchiarico i Perenzin, 1994; Caliński i in., 1995; Annicchiarico, 1997 b; Chapman i in., 1997; Zobel i in., 1988; Mądry, 2003; Annicchiarico i in., 2005; Mądry i Kang, 2005).

Annicchiarico (1997 b) porównał analizę regresji łącznej i analizę AMMI pod względem powtarzalności oceny stabilności genotypów w różnych sezonach wegetacyjnych. Obie metody, tzn. miara Euklidesa dla istotnych IPC w modelu AMMI oraz miary stabilności oparte na modelu analizy regresji łącznej (współczynnik regresji i wariancja Shukli), okazały się pod tym względem podobne. Metody porównano na zbiorach danych, pochodzących z serii doświadczeń prowadzonych we Włoszech z pszenicą chlebową, pszenicą twardą, kukurydzą i owsem (klasyfikacji genotypy $\times$ miejscowości $\times$ lata, GLY). Zgodność między metodami AMMI i JREG pod względem intensywności / stabilności / ekstensywności plonowania odmian, to jest parametry stabilności w analizie regresji łącznej (wariancja odchyleń od funkcji regresji) i statystykę ASV (ang. AMMI(s) stability value) w analizie AMMI, zaobserwowana została w eksperymentach opisanych przez autorów: Annicchiarico i Perenzin (1994), Adugna i Labuschagne (2002), Wamatu i Thomas (2002). Na podstawie modelu AMMI i parametru ASV, jako miary stabilności AMMI(s), badano stabilność plonowania pszenicy jarej (Li i in., 2006) oraz stabilność plonu i składu chemicznego prosa różgowatego (Cassida i in., 2005).

Link i in. (1996) badał adaptację (dla plonu nasion) 12 linii wsobnych i ich 99 mieszańców F_1 bobiku do warunków śródziemnomorskich, reprezentowanych przez 9 miejscowości w południowych Niemczech, Hiszpanii i północnej Afryce. Zastosowano

analizę regresji łącznej i AMMI. Stwierdzono silną, dodatnią korelację pomiędzy wariancją odchyłeń od regresji a wartościami parametrów genotypowych dla IPC1. Można to wytłumaczyć w ten sposób, że dla takiego wzorca efektów interakcji regresja łączna pomija największą część zmienności (opisaną pierwszą składową IPC1 w modelu AMMI a włączoną do odchyłeń od funkcji regresji, błędu, w JREG).

Na porządek plonowania genotypów w środowiskach wpływają efekty główne genotypów i efekty interakcji GE. W modelu GGE suma obu typów efektów opisywana jest za pomocą PCA. Jednakże parametry modelu GGE nie opisują oddzielnie zmienności efektów głównych genotypów i zmienności efektów interakcji. Oznacza to, że np. pierwsza składowa główna może zawierać (wyjaśniać) więcej zmienności powodowanej efektem głównym niż druga czy trzecia, ale może być odwrotnie (Gauch, 2006). Dlatego efekty główne genotypów mogą być wypierane przez efekty interakcji GE. Stąd przydatność modelu GGE jest większa do określenia adaptacji genotypów do specyficznych warunków środowisk, niż do określenia szerokiej adaptacji (silniej związanej z efektami głównymi genotypów niż efektami interakcji GE).

W pracy Samonte i in. (2005) pokazano możliwość identyfikacji najwyższej plonującego stabilnego genotypu w modelu GGE — przez narysowanie osi aproksymującej oś średniego plonu (jest to jednocześnie przybliżenie prostej, na której leżą genotypy niewykazujące zmienności interakcyjnej — rzut ortogonalny takiej prostej na dwie osie wykresu podwójnego GGE). Tak określona prosta posłużyła również do identyfikacji najlepszego środowiska badania genotypów, tzn. takiego, które rozróżnia genotypy pod względem ich średnich oraz jest reprezentatywne dla docelowego rejonu uprawy z powodu małej zmienności efektów interakcji GE.

Badanie rodzajów adaptacji genotypów i grupowanie genotypów. Model analizy regresji łącznej pozwala na efektywne wykrywanie genotypów o stabilnej produktywności (np. plonu) oraz genotypów intensywnych i ekstensywnych, ale w takich przypadkach, kiedy liniowa funkcja regresji badanej cechy genotypów od średnich środowiskowych jest dobrze dopasowana, czyli towarzyszy jej mała wariancja odchyłeń od regresji (Annicchiarico i Perenzin, 1994; Annicchiarico, 1997 b; Chapman i in., 1997; Zobel i in., 1988; Wamatu i Thomas, 2002; Annicchiarico i in., 2005). Z racji na to, że przeważnie wspomniany model liniowy regresji jest nieadekwatny do rzeczywistości, funkcja ta nie opisuje wiernie krzywej reakcji cechy genotypów na zmienne warunki środowiskowe (Brancourt-Hulmel i in., 1997; Chapman i in., 1997; Zobel i in., 1988; Ibanez i in., 2001; Annicchiarico i in., 2005). Analiza AMMI pozwala wiernie przybliżyć każdą krzywą reakcji cechy genotypów na zmienne warunki środowiskowe, ponieważ liczba multiplikatywnych składników efektów interakcji GE jest tak dobierana, aby odchylenia od modelu były nieistotne.

W pracy Wade i in. (1999) oceniano plonowanie 37 genotypów ryżu w 36 środowiskach. Najpierw odjęto efekty główne genotypów i środowisk, uzyskując macierz efektów interakcji GE (jak w modelu AMMI), następnie na efektach interakcji GE wykonano hierarchiczną analizę skupień metodą Warda. Wyniki analizy skupień przedstawiono na dendrogramach (na których pokazano, oprócz średniego plonu, wybrane cechy genotypów i środowisk), przedstawiających wyznaczone 9 grup genotypów ryżu i 9

grup warunków środowiskowych, podobnie różnicujących plon badanych genotypów. Badając (Wamatu i in., 2003) reakcje plonu klonów kawy arabskiej (*Coffea arabica* L.) na warunki środowiskowe Kenii za pomocą analizy AMMI, wskazano genotypy stabilne, genotypy dobrze zaadaptowane do środowisk o wysokim potencjale plonowania oraz genotypy zaadaptowane do środowisk o niskim potencjale plonowania.

Wykresy podwójne GGE pozwalają wyróżnić grupy genotypów o podobnej funkcji reakcji na środowiska, czyli grupy genotypów zarówno o podobnej średniej genotypowej, jak i o podobnym genotypowym profilu efektów interakcji GE). Samonte i in. (2005) badali 6 odmian ryżu w stanie Teksas, USA. Na podstawie wykresu podwójnego GGE wykonano porównania plonu genotypów w wybranym środowisku i sprawdzono porządek plonowania genotypów dla każdego środowiska osobno. Yan i Hunt (2001) analizowali plon pszenicy ozimej w stanie Ontario, Kanada. Współczynniki korelacji parametrów modelu GGE z opisanymi cechami środowisk lub genotypów również pozwalają wyjaśniać przyczyny warunkujące zmienność efektów interakcji GE.

Grupowanie środowisk ze względu na rodzaj zróżnicowania plonu genotypów oraz wybór środowisk kluczowych. Niektórzy biometrycy i hodowcy roślin uznają, że właściwym kryterium dzielenia miejscowości na grupy jednorodne, powinna być jakościowa interakcja GL, COI (ang. cross over interaction GL). Oznacza to, że miejscowości w różnych grupach powinny odznaczać się odmiennym rankingiem genotypów pod względem plonowania lub innych cech rolniczych. Jednakże, wielu badaczy wydziela jednorodne grupy miejscowości na podstawie ilościowej interakcji GL, czyli efektów interakcji GL. Takie podejście jest zgodne z używaną w hodowli statystyką „procent plonowania wzorca”. Wobec tego miejscowości w różnych grupach mogą odznaczać się ilościowym lub jakościowym zróżnicowaniem środowiskowych profili efektów interakcji GL, czyli mogą — choć nie muszą — zmieniać ranking genotypów dla danej cechy rolniczej (Caliński i in., 1979, 1983, 1987 a,b, 1995; Gauch i Zobel, 1997; Robert, 1997; Annicchiarico, 2002 a,b; Sivapalan i in., 2000; Collaku i in., 2002; Ebdon i Gauch, 2002 a,b; de la Vega i Chapman, 2006; Gauch, 2006; Zhang i in., 2006 a,b).

W pracy Lillemo i in. (2005) hierarchiczna analiza skupień i model SHMM (Crossa i in. 1993) została zastosowana do wydzielenia grup środowisk i grup genotypów pszenicy chłebowej. Doświadczenie przeprowadzono w Północnej i Południowej Ameryce, Europie, Azji, Afryce oraz Oceanii. Wydzielono 5 grup miejscowości o podobnym zróżnicowaniu plonu i 5 grup genotypów podobnie reagujących pod względem plonu na środowiska. W wyniku analizy wybrano środowiska najbardziej reprezentatywne dla każdej grupy oraz środowisko najbardziej reprezentatywne dla wszystkich 32 wybranych miejscowości.

Oceniano stabilność i adaptację linii wsobnych sorga i ich mieszańców w obrębie 8 środowisk, złożonych z 4 sezonów wegetacyjnych oraz dwóch warunków wilgotnościowych gleby (dobrych i złych) w badanych miejscowościach (Hausmann i in., 2000). Do analizy uzyskanych danych dla plonu ziarna zastosowano model GGE. Wykonano analizę skupień metodą Warda na macierzy ocen efektów G+GE w celu grupowania genotypów i środowisk oraz analizę GGE (analizę SREG) w celu przedstawienia wykresu podwójnego GGE (wykresu SREG). Podzielono środowiska na trzy grupy pod względem podobieństwa rodzaju zróżnicowania genotypów (efektów interakcji GE). Najmniej

podobne do pozostałych było środowisko o największym niedoborze (stresie) wody. Genotypy podzielono na 9 grup, z których każda zawiera obiekty hodowlane o podobnych reakcjach (podobnych średnich i kształtach krzywych reakcji) na środowiska, czyli o podobnym rodzaju adaptacji. Na wykresie podwójnym GGE w układzie dwóch pierwszych składowych głównych zobrazowano relacje (podobieństwo) genotypów i środowisk pod względem efektów interakcji. Na wykresach pokazano także średnie sumarycznych efektów G+GE genotypów z każdej grupy w badanych środowiskach. Takie wykresy obrazują różne rodzaje adaptacji grup genotypów do tych środowisk, wskazując grupy genotypów plonujących relatywnie najwyżej w danym środowisku.

Blanche i Myers (2006) zastosowali analizę GGE do wykrycia środowisk optymalizujących wybór genotypów (pod względem zdolności do rozróżniania rodzajów reakcji genotypów oraz reprezentacyjności środowiska). Badając plon bawełny (*Gossypium hirsutum* L.) w miejscowościach rozlokowanych w stanie Luizjana, USA, określono przydatność tych miejscowości do wykonywania oceny plonowania genotypów bawełny.

Presterl i Weltzien (2003) badali reakcję plonu ziarna 6 populacji prosa i ich mieszańców diallelicznych, na warunki środowiskowe w czterech miejscowościach w Indiach poprzez 3 lata. Zastosowano analizę AMMI według modelu stałego, traktując 12 kombinacji miejscowości z latami jako środowiska. Wydzielono dwie grupy środowisk (megaśrodowiska) o ujemnie skorelowanych efektach interakcji GE, czyli różnie porządkujących średnie genotypów. Wskazano genotypy o dodatnich i ujemnych efektach interakcji GE w poszczególnych środowiskach.

Na podstawie wyników analizy AMMI, Pacheco i in. (2005) wybrali środowisko, spośród badanych, o najmniejszej zmienności efektów interakcji GE dla badanych genotypów soi, tzn. środowisko, w którym uporządkowanie genotypów pod względem plonu jest podobne jak uporządkowanie według średniej ze wszystkich badanych 11 środowisk.

Analiza AMMI wraz z analizą skupień (metodą agregowania Warda, z kwadratem odległości Euklidesa jako miarą odległości), grupującą genotypy pszenicy twardej oraz miejscowości o podobnych profilach efektów interakcji GE, została użyta (Annicchiarico i in., 2005) do wydzielenia megaśrodowisk i miejscowości dla nich reprezentatywnych (key-locations). Celem grupowania miejscowości było również potwierdzenie zasadności ich podziału ze względu na temperaturę w okresie zimy.

Wykres podwójny AMMI(2) posłużył (Ibanez i in., 2001) do graficznej oceny podobieństwa genotypowych i środowiskowych profili ocen efektów interakcji GE. Stwierdzono, że niektóre środowiska były podobne pod względem zróżnicowania profili efektów interakcji GE (skorelowane dodatnio), inne zaś były niepodobne (nieskorelowane lub skorelowane ujemnie). Wskazano także miejscowości o małej zmienności ocen efektów interakcji GE, czyli takie, w których zróżnicowanie plonu genotypów jest podobne do zróżnicowania średnich genotypowych poprzez środowiska.

Wybór genotypów o lokalnej adaptacji. W pracy Samonte i in. (2005) podjęto badania nad identyfikacją najwyżej plonujących odmian dla różnych środowisk, czyli odmian zalecanych do tych środowisk. Badano 6 półkarłowych, długoziarnistych genotypów ryżu. Plony ziarna określono w 4 miejscowościach w stanie Teksas USA, w 3

sezonach (2000, 2001, 2002). Jeżeli efekty główne genotypów (efekty główne E nie wpływają na porządek, a więc i rekomendację genotypów) nie są wystarczające do wskazania najwyższej plonującego genotypu, to identyfikacja odbywać się musi na podstawie zarówno efektów głównych genotypów, jak i efektów interakcji GE. Dlatego do identyfikowania grupy środowisk, w których ten sam genotyp plonuje najwyższej, wybrano analizę GGE. Na podstawie wykresu podwójnego GGE porównano 2 genotypy, określając, w których środowiskach wyżej plonuje jeden, a w jakich drugi. Zidentyfikowano również grupy środowisk, w których ten sam genotyp plonuje najwyższej spośród wszystkich badanych genotypów (wykazując bardzo dobre przystosowanie do warunków w takich środowiskach).

Badano wąską adaptację form rodzicielskich i mieszańców F_1 bobiku w 8 środowiskach o zmiennym natężeniu suszy (Abdelmulla i in., 1999). Środowiskami były kombinacje 2 miejscowości, 2 warunków natężenia suszy i 2 lat badań. Zastosowano analizę AMMI oraz wykres podwójny AMMI(1). Na tej podstawie stwierdzono, że jedne genotypy były dostosowane najlepiej do warunków suszy, inne zaś do warunków o większej dostępności wody w glebie w trakcie wegetacji.

W pracy (Gauch i Zobel, 1997) na podstawie wyników analizy AMMI określono 4 genotypy wygrywające dla kukurydzy zwyczajnej, tzn. takie genotypy, które w pewnych warunkach środowiskowych plonują relatywnie najwyższej, spośród badanych genotypów. Jeden z nich był określony przez model AMMI(1) jako stabilny o wysokim stopniu szerokiej adaptacji, jednak w wyznaczonych grupach środowisk wykazał niższą średnią plonu niż genotypy bardzo dobrze zaadaptowane do specyficznych warunków środowiskowych.

Analiza AMMI została również wykorzystana przez Annicchiarico i Piano (2005) do analizy suchej masy lucerny (*Medicago sativa* L. subsp. *sativa*). Na tej podstawie wskazano 3 genotypy najwyższej plonujące w odpowiednich dla nich warunkach środowiskowych. Także Ebdon i Gauch (2002 b), badając jakość zadarnienia odmianami życicy trwałej i wiechliny łąkowej, wskazali 3 spośród 125 odmian wiechliny łąkowej i 4 ze 123 odmian życicy trwałej o najlepszej jakości darni w wyznaczonych grupach środowisk.

Łączna analiza AMMI i analiza skupień została wykorzystana w pracy (Annicchiarico i Perenzin, 1994) do grupowania środowisk (31 miejscowości rozlokowanych na terenie Włoch) podobnie różnicujących plon genotypów pszenicy. Wykorzystano metodę aglomeracji średniego wiązania z miarą Euklidesa jako miarą odległości między parametrami istotnych interakcyjnych składowych głównych w modelu AMMI. Celem badań było wydzielenie grup genotypów o podobnej specyficznej adaptacji oraz grupowanie miejscowości w megaśrodowiska.

Poprawa dokładności oceny efektów interakcji GE za pomocą analizy AMMI

Model analizy wariancji ANOVA pozwala estymować efekty główne (optymalnie) i efekty interakcji GE oraz testować istotność tych efektów. Jednak, jak wynika z licznych doniesień (Gauch, 1988, 1990, 1992, 2006; Gauch i Zobel, 1989, 1996, 1997; Crossa i in., 1991; Gauch 1992, 2006; Nachit i in. 1992; Voltas i in., 1999; Sivapalan i in., 2000; Annicchiarico, 2002 a,b; Ebdon i Gauch, 2002 a,b; Dias i Krzanowski 2003; Gauch i in., 2008), model AMMI pozwala dokładniej ocenić populacyjne efekty interakcji GE, niż

model ANOVA. Oznacza to, że oceny efektów interakcji GE na podstawie modelu AMMI są dokładniejsze, niż zwykłe oceny efektów interakcji GE (otrzymane metodą najmniejszych kwadratów na podstawie stałego modelu ANOVA).

Gauch i Zobel (1997), badając genotypy kukurydzy w wielokrotnej i wieloletniej serii doświadczeń odmianowych donoszą, że większość zmienności losowej (szumu, zakłóceń) jest zawarta w ocenach efektów interakcji GE. Wartość współczynnika S/N (stosunek siły sygnału do siły zakłóceń (Gauch, 1992; Gauch i Zobel, 1997) pokazała, że efekt interakcji GE jest bardziej zakłócony ($S/N=0,61$), niż średnie plonowania genotypów poprzez miejscowości ($S/N=6,40$). W konsekwencji autorzy postulują stosowanie większej liczby środowisk kosztem mniejszej liczby powtórzeń, co miałoby lepiej charakteryzować efekty interakcji GE.

Analizy wyników doświadczeń (w cytowanych powyżej pracach) potwierdzają statystyczną własność sumy kwadratów dla efektów interakcji GE, która polega na kumulowaniu się w niej znacznie większej sumy kwadratów dla błędu doświadczalnego niż w sumie kwadratów dla głównych efektów genotypowych i środowiskowych. Wynika to z relatywnie dużo większej liczby stopni swobody dla interakcji GE niż dla efektów głównych G i E. Oznacza to, że efekty główne — zarówno genotypowe, jak i środowiskowe — są oceniane z większą precyzją, niż efekty interakcji GE.

Analiza AMMI może być narzędziem do poprawy precyzji ocen efektów interakcji GE. Zwiększenie dokładności ocen efektów interakcji GE w modelu AMMI jest interpretowane jako skutek usunięcia znacznej części losowego błędu doświadczalnego ze zwykłych ocen interakcji GE, który jest w nich uwikłany (Gauch, 1988, 1990, 1992, 2006; Gauch i Zobel, 1989, 1996, 1997; Crossa i in., 1991; Dias i Krzanowski, 2003; Ebdon i Gauch, 2002 a,b). Przyjmuje się, że zmienność losowa lub mało znacząca część efektów interakcji (z punktu widzenia praktyki pozbawiona znaczenia z powodu zbyt małej zmienności wywoływanych efektów), są opisane przez dalsze interakcyjne składowe główne (o względnie małej sumie kwadratów i dużej łącznej liczbie stopni swobody). Spodziewanym efektem ich odjęcia od obserwowanych efektów interakcji (jest to równoważne pozostawieniu tylko kilku pierwszych IPC o względnie dużej sumie kwadratów i małej łącznej liczbie stopni swobody) jest uzyskanie średnich dla kombinacji GE, które lepiej opisują reakcje cech genotypów na warunki środowiskowe. Takie poprawione średnie można dalej analizować za pomocą metod klasyfikacyjnych i ordynacyjnych (Annicchiarico i Perenzin, 1994; Voltas i in., 1999; Sivapalan i in., 2000).

Ebdon i Gauch (2002 b) analizowali dane dla zadarnienia, w skali bonitacyjnej 1–9 (zawierającej różne aspekty jakości darni, takie jak kolor, gęstość, jednolitość), dla dwóch gatunków traw. Oceny AMMI efektów interakcji GE, oparte na znacznie mniejszej liczbie stopni swobody, a opisujące niewiele mniejszą sumę kwadratów dla efektów interakcji GE (dla oceny zadarnienia wiechliną łąkową efekty interakcji IPC1 opisywały 19,7% sumy kwadratów zwykłych efektów interakcji przy 2,3% stopni swobody, natomiast dla oceny zadarnienia życicą trwałą efekty IPC1 zawierały 49,9% sumy kwadratów i 2,5% stopni swobody zwykłych efektów interakcji), zostały uznane za dokładniejsze niż zwykłe oceny efektów GEI (średnie kombinacji GE). Aby opisać siłę tego efektu, określono liczbę powtórzeń, dla której zwykłe średnie genotypów w miejscowościach (średnie podklas

z kombinacji GE) zyskałyby taką samą jakość predykcji, jak model AMMI. Dla wiechliny łąkowej statystycznie właściwym był model AMMI(7) o współczynniku efektywności równym 2,05 (zamiast wykonanych 3 powtórzeń analizowanych modelem AMMI(7) należałoby wykonać 6 powtórzeń wyznaczając średnie dla kombinacji GE), a dla życicy trwałej model AMMI(2) ze współczynnikiem efektywności 5,6.

Ponieważ model AMMI w obu przypadkach (Ebdon i Gauch, 2002 b) skutecznie określił zmienność losową dla tych danych doświadczalnych i umożliwił zwiększenie precyzji oceny dla reakcji tych gatunków traw na warunki środowiskowe, autorzy — popierając uzyskane wyniki swoim doświadczeniem — uogólniają tę właściwość twierdząc „skoro model AMMI ma lepszą predykcję [niż średnie genotypów w środowiskach lub efekty główne modelu ANOVA] to sugeruje, że potencjalna zdolność predykcji modeli AMMI jest wyższa, czyli wartości wyznaczone za pomocą modelu AMMI są lepszym przybliżeniem średnich dla kombinacji GE, niż zwykłe średnie arytmetyczne z powtórzeń”. Jednym z celów zastosowania analizy AMMI było wydzielenie i usunięcie z danych dla plonu pszenicy efektów losowych, a pozostawienie rzeczywistego obrazu reakcji genotypów na zmienne warunki środowiskowe (Annicchiarico i Perenzin, 1994; Wade i in., 1999; Sivapalan i in., 2000)

Jak widać z powyższego, zastosowanie analizy AMMI do oceny efektów interakcji GE pozwala uzyskać dokładniejsze oceny tych efektów, lub przy planowaniu doświadczenia pozwala zmniejszyć liczbę powtórzeń (czyli koszt przeprowadzenia doświadczenia), zachowując taką samą dokładność ocen tych efektów, jak przy większej liczbie powtórzeń, ale estymowanych za pomocą modelu ANOVA.

Niektórzy autorzy zajmują się **wyjaśnianiem multiplikatywnych parametrów modelu AMMI za pomocą cech genotypów lub środowisk** (Annicchiarico i Perenzin, 1994; Annicchiarico, 1997 a; Motzo i in., 2001; Ebdon i Gauch, 2002 a; Annicchiarico i Piano, 2005; Samonte i in., 2005; Annicchiarico i in., 2006 b). W ten sposób wyjaśniano zmienność efektów interakcji GE przez badane cechy genotypów i środowisk. Za pomocą współczynnika korelacji prostej, Ebdon i Gauch (2002 a) badali związek parametrów interakcyjnych składowych głównych ze wskaźnikami (zmiennymi) genotypowymi albo środowiskowymi w badaniach dwóch gatunków traw. Podobnie, wykorzystując współczynnik korelacji między cechami środowisk, a parametrami modelu AMMI, tj. średnim plonem w środowiskach i środowiskowymi parametrami interakcji (EIPC), Annicchiarico i Piano (2005) badali wpływ cech środowisk (takich, jak stres spowodowany suszą, warunkami glebowymi, stres niedoboru wody na lekkich glebach, czy stres niedoboru powietrza na glebach gliniastych) na plon suchej masy lucerny (*Medicago sativa* L. subsp. *sativa*). Również w pracy Samonte (Samonte i in., 2005) indeks cieplny (zależny od temperatury powietrza i wilgotności względnej) był skorelowany z EIPC1 ($r = -0,62$ był istotny na poziomie $p = 0,03$). Motzo i in. (2001) badali korelacje między cechami genotypów i cechami środowisk, a parametrami modelu AMMI tj.: średnią obiektywą oraz parametrami IPC.

Inne zastosowania modelu AMMI. Model AMMI jest także skutecznym narzędziem do badania powtarzalności w latach efektów interakcji GL, czyli rodzaju krzywej reakcji genotypów na warunki środowiskowe w miejscowościach. Takie badanie jest możliwe

wtedy, gdy środowiskami są kombinacje miejscowości $\times$ lata (Abdelmulla i in., 1999; de la Vega i Chapman, 2006). Wtedy o powtarzalności reakcji genotypów na warunki w miejscowościach poprzez lata badań świadczy zgodność środowiskowych parametrów interakcji (EIPC) dla środowisk tej samej miejscowości w różnych latach. De la Vega i Chapman (2006) badając mieszańce F_1 słonecznika w Argentynie pod względem powtarzalności plonu oleju stwierdzili, że aby uzyskać wiarygodną ocenę reakcji plonu na środowiska w miejscowościach, wskazane jest wykonanie przynajmniej 4-letniej serii doświadczeń w przynajmniej 14 miejscowościach. Dixon i in. (2002) zastosowali analizę AMMI do oceny reakcji porażenia zarazą bakteryjną 8 udoskonalonych klonów manioku w 18 środowiskach (6 miejscowości w 3 latach). Wykazano małą powtarzalność w latach dla krzywych porażenia klonów w badanych miejscowościach.

Model AMMI stosowano również do badania innych cech niż plon. Chociaż przez wiele lat badań dwie metody, tj. analiza regresji łącznej i analiza AMMI, były szeroko stosowane w badaniach rolniczych głównie do oceny reakcji genotypów roślin pod względem plonu na zmienne warunki środowiskowe, to także stosowano je efektywnie do testowania porażenia genotypów chorobami w programach hodowlanych (ryżu przez grzyb *Magnaporthe grisea* w Afryce, Abamu i in. 1998; jęczmienia plamistością siatkową, Robinson i Jalli 1999; Pinnschmidt i Hovmöller 2002; manioku zarazą bakteryjną, Dixon i in. 2002;).

Programy komputerowe do analizy AMMI. Istnieje ogólnodostępny program użytkowy do analizy AMMI napisany w systemie SAS (SAS Institute, 2001; Hernandez i Crossa, 2000; Burgueno i in., 2001) oraz komercyjny program MATMODEL (Gauch i Furnas 1991; Gauch i Zobel, 1997). W pracy Annicchiarico i in. (2005, 2006 b) stosowano analizę AMMI za pomocą programu IRRISTAT (udostępnianym przez International Rice Research Institute, of Manila, Philippines). Sivapalan i in. (2000) do obliczania średnich poprawionych, oraz do obliczenia parametrów modelu AMMI użył programu AGROBASE (program napisany przez Agronomic Software Inc.), podczas gdy hierarchiczną analizę skupień na podstawie ocen AMMI efektów interakcji GE wykonano za pomocą HACCLUS.EXE i MINITAB (programy opracowane przez University of Queensland). Paderewski i Mądry (2006) oraz Mądry i in. (2006) wykorzystali do obliczeń bogaty w statystyczne procedury język programowania R (R Development Core Team, 2007). W pracach analizowano jednoroczne serie doświadczeń przedrejestrowych z pszenicą ozimą. Podobną do AMMI, analizę interakcyjnych składowych głównych wykonali Drzazga i Krajewski (2001) za pomocą programu SERGEN (Caliński i in., 1995).

PODSUMOWANIE

Opisane metody statystyczne (AMMI, GGE, JREG, analiza skupień) są przydatne w analizie reakcji odmian roślin rolniczych na warunki środowiskowe, czyli agroekosystemy, na podstawie danych z serii doświadczeń. Problemem może być ich mnogość, która utrudnia wybór właściwego modelu. Ów wybór staje się kwestią przyjętej filozofii, przekonania odnośnie charakteru opisywanej interakcji. Ponadto każdy z modeli ma (nieopisane w niniejszej pracy) unikalne parametry, których dobór wpływa na wynik.

Dlatego przy analizie serii doświadczeń ważne jest nie tylko uwzględnienie teoretycznych właściwości modelu statystycznego, ale też wykazanej w podobnych przypadkach doświadczalnych użyteczności takiego modelu.

LITERATURA

- Abamu F.J., Akinsola E.A., Alluri K. 1998. Applying the AMMI models to understand genotype-by-environment (G E) interactions in rice reaction to blast disease in Africa. *Internat. J. Pest Manag.* 44: 239 — 245.
- Abdelmulla AA., Linke W., Von Kittlitz E., Stelling D. 1999. Heterosis and inheritance of drought tolerance in faba bean *Vicia faba* L. *Plant Breeding* 118: 485 — 490.
- Adugna W., Labuschagne M.T. 2002. Genotype-environment interactions and phenotypic stability analyses of linseed in Ethiopia. *Plant Breeding* 121: 66 — 71.
- Alagarswamy G., Chandra S. 1998. Pattern analysis of international sorghum multi-environment trials for grain-yield adaptation. *Theor. Appl. Genet.* 96: 397 — 405.
- Annicchiarico P. 1997 a. Additive main effects and multiplicative interaction (AMMI) analysis of genotype location interaction in variety trials repeated over years. *Theor. Appl. Genet.* 94: 1072 — 1077.
- Annicchiarico P. 1997 b. Joint regression vs AMMI analysis of genotype-environment interactions for cereals in Italy. *Euphytica* 94: 53 — 62.
- Annicchiarico P. 2002 a. Defining adaptation strategies and yield stability targets in breeding programmers. 165–183. W Kang M.S. (Ed.) *Quantitative genetics, genomics and plant breeding*. CABI, Wallingford, UK.
- Annicchiarico P. 2002 b. Genotype-environment interactions: challenges and opportunities for plant breeding and cultivar recommendations. *FAO Plant Production and Protection Paper No. 174*. Food and Agriculture Organization, Rome.
- Annicchiarico P., Perenzin M. 1994. Adaptation patterns and definition of macro-environments for selection and recommendation of common-wheat genotypes in Italy. *Plant Breeding* 113: 197 — 205.
- Annicchiarico P., Piano E. 2005. Use of artificial environments to reproduce and exploit genotype $\times$ location interaction for lucerne in northern Italy. *Theor. Appl. Genet.* 110: 219 — 227.
- Annicchiarico P., Bellah F., Chiari T. 2005. Defining subregions and estimating benefits for a specific-adaptation strategy by breeding programs: A case study. *Crop Sci.* 45: 1741 — 749.
- Annicchiarico P., Bellah F., Chiari T. 2006a. Repeatable genotype $\times$ location interaction and its exploitation by conventional and GIS-based cultivar recommendation for durum wheat in Algeria. *Europ. J. Agronomy* 24: 70 — 81.
- Annicchiarico P., Russi L., Piano E., Veronesi F. 2006 b. Cultivar adaptation across Italian locations in four turfgrass species. *Crop Sci.* 46: 264 — 272.
- Atlin G. N., McRae K.B., Lu X. 2000 a. Genotype region interaction for two row barley yield in Canada. *Crop Sci.* 40: 1 — 6.
- Basford K. E., Cooper M. 1997. Genotype $\times$ environment interactions and some considerations of their implications for wheat breeding in Australia. *Austr. J. Agric. Res.* 49:153 — 174.
- Becker H. C., Leon J. 1988. Stability analysis in plant breeding. *Plant Breeding* 101:1 — 23.
- Blanche S. B., Myers G. O. 2006. Identifying Discriminating Locations for Cultivar Selection in Louisiana. *Crop Sci.* 46:946–949.
- Bradu D. Gabriel K.R. 1978. The biplot as a diagnostic tool for model of two-way tables. *Technometrics* 1978: 47 — 63.
- Brancourt-Hulmel M., Lecomte C. 2003. Effect of environmental varieties on genotype $\times$ environment interaction of winter wheat: a comparison of biadditive factorial regression to AMMI. *Crop Sci.* 43: 608 — 617.
- Brancourt-Hulmel M., Denis J.B., Biarnes-Dumoulin V. 1997. Comparison of Joint Regression, AMMI model and Factorial regression for efficiency and parsimony in plant breeding. *Materiały konferencyjne*

- EUCARPIA sekcja biometrics in Plant Breeding (ed. Krajewski P., Kaczmarek Z.) Poznań 1997: 81 — 86.
- Bujak H., Dopierała A., Dopierała P., Nowosad K. 2006. Analiza interakcji genotypowo-środowiskowej plonu odmian żyta ozimego. *Biul. IHAR*. 240/241: 151 — 160.
- Burgueño, J., Crossa, J., Vargas, M., 2001. SAS programs for graphing GE and GGE biplots. Biometrics and Statistics Unit, CIMMYT, Int. México.
- Caliński T., Czajka S., Kaczmarek Z. 1979. Analiza interakcji genotypowo-środowiskowej. Zastosowanie analizy regresji oraz analizy składowych głównych. IX Coll. Metodol. z Agrobiom. 5 — 28 .
- Caliński T., Czajka S., Kaczmarek Z. 1980. Analiza jednorocznej serii ortogonalnej doświadczeń odmianowych ze szczególnym uwzględnieniem interakcji odmianowo-środowiskowej. 1. Analiza ogólna. *Biul. Oceny Odmian* 12: 67 — 81.
- Caliński T., Czajka S., Kaczmarek Z. 1983. Analiza jednorocznej serii ortogonalnej doświadczeń odmianowych ze szczególnym uwzględnieniem interakcji odmianowo-środowiskowej. 1. Analiza szczegółowa. *Biul. Oceny Odmian* 15: 39 — 60.
- Caliński T., Czajka S., Kaczmarek Z. 1987 a. A model for the analysis of a series of experiments repeated at several places over a period of years. I. Theory. *Biul. Oceny Odmian* 17 — 18:7 — 33.
- Caliński T., Czajka S., Kaczmarek Z. 1987b. A model for the analysis of a series of experiments repeated at several places over a period of years. II. Example. *Biul. Oceny Odmian* 17 — 18:35 — 71.
- Caliński T., Czajka S., Kaczmarek Z., Krajewski P., Siatkowski I. 1995. SERGEN-a computer program for the analysis of series of variety trials. *Biuletyn Oceny Odmian* 26/27: 39 — 41.
- Caliński T., Czajka S., Kaczmarek Z. 1997. A multivariate approach to analysing genotype-environment interactions. W: Krajewski P., Kaczmarek Z (Ed), *Advances in Biometrical Genetics*, 3 — 14, Poznań.
- Cassida K. A., Muir J. P., Hussey M. A. Read J.C., Venuto B. C., Ocumpaugh W. R. 2005. Biofuel component concentrations and yields of switchgrass in South Central U.S. environments. *Crop Sci.* 45: 692.
- Ceccarelli S. 1989. Wide adaptation: How wide? *Euphytica* 40: 197 — 205.
- Ceccarelli S. 1994. Specific adaptation and breeding for marginal conditions. *Euphytica* 77: 205 — 219.
- Ceccarelli S. 1996. Adaptation to low/high input cultivation. *Euphytica* 92: 203 — 214.
- Chapman S.C., de la Vega A. J. 2002. Spatial and seasonal effects confounding interpretation of sunflower yields in Argentina. *Field Crops Research* 73: 107 — 120.
- Chapman S.C., Crossa J., Edmeades G.O. 1997. Genotype by environment effects and selection for drought tolerance in tropical maize. I. Two mode pattern analysis of yield. *Euphytica* 95: 1 — 9.
- Collaku A., Harrison S.A., Finney P.L., Van Sanford D.A. 2002. Clustering of environments of Southern Soft Red Winter Wheat Region for milling and baking quality attributes. *Crop Sci.* 42:58 — 63.
- Cooper M., Delacy I. H. 1994. Relationships among analytic methods used to study genotypic variation and genotype-by-environment interaction in plant breeding multi-environment trials. *Theor. Appl. Genet.* 88: 561 — 572 .
- Cornelius P. L. 1993. Statistical tests and retention of terms in the additive main effects and multiplicative interaction model for cultivar trials. *Crop Sci.* 33: 1186 — 1193.
- Cornelius P.L., Seyedsadr M., Crossa J. 1992. Using the shifted multiplicative model to search for "separability" in crop cultivar trials. *Theor. Appl. Genet.* 84: 161 — 172.
- Crossa J. 1990. Statistical analyses of multilocation trials. *Adv. Agron.* 44: 55 — 85.
- Crossa J., Cornelius P.L. 2002. Linear-bilinear models for the analysis of genotype-environment interaction. In: Kang M.S. (Ed.), *Quantitative Genetics, Genomics and Plant Breeding*, CAB International Wallingford, UK: 305 — 322.
- Crossa J., Gauch H. G., Zobel R.W. 1990. Additive Main Effects and Multiplicative Interaction Analysis of Two Interaction Maize Cultivar Trials. *Crop Sci.* 30: 493 — 500 .
- Crossa J., Fox P.N., Pfeiffer W. H., Rajaram S., Gauch H.G. 1991. AMMI adjustment for statistical analysis of an international wheat yield trial. *Theor. Appl. Genet.* 81: 27 — 37.
- Crossa J., Cornelius P.L., Seyedsadr M., Byrne P. 1993. A shifted multiplicative model cluster analysis for grouping environments without genotypic rank change. *Theor. Appl. Genet.* 85: 577 — 586.
- Crossa J., Cornelius P.L., Yan W. 2002. Biplots of linear-bilinear models for studying crossover genotype x environment interaction *Crop Sci.* 42: 619 — 633.

- de la Vega A.J., Chapman S.C. 2006. Defining sunflower selection strategies for a highly heterogeneous target population of environments. *Crop Sci.* 46: 136 — 144.
- de la Vega A.J., DeLacy I.H., Chapman S.C. 2007a. Changes in agronomic traits of sunflower hybrids over 20 years of breeding in central Argentina. *Field Crops Res.* 100: 73 — 81.
- de la Vega A.J., DeLacy I.H., Chapman S.C. 2007b. Progress over 20 years of sunflower breeding in central Argentina. *Field Crops Res.* 100: 61 — 72.
- DeLacy I.H., Cooper M. 1990. Pattern analysis for the analysis of regional variety trials. In: Kang M.S. (ed.) *Genotype-by-environments interaction and plant breeding*. Louisiana State Univ., Baton Rouge, LA: 301 — 334.
- Dias C., Krzanowski W. 2003. Model selection and cross validation in additive main effect and multiplicative interaction models. *Crop Sci.* 43: 865 — 873.
- Dixon A.G.O., Ngeve J.M., Nukenine E.N. 2002. Genotype $\times$ environment effects on severity of cassava bacterial blight disease caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *Manihotis*. *European Journal of Plant Pathology* 108: 763 — 770.
- Drzazga T., Krajewski P. 2001. Zróżnicowanie środowisk pod względem stopnia interakcji w seriach doświadczeń z pszenicą ozimą. *Biul. IHAR*. 218/219: 111 — 115.
- Ebdon J. S., Gauch H.G. 2002 a. Additive main effect and multiplicative interaction analysis of national turfgrass performance trials: I. Interpretation of genotype by environment interaction. *Crop Sci.* 42: 489 — 496.
- Ebdon J. S., Gauch H. G. 2002 b. Additive main effect and multiplicative interaction analysis of national turfgrass performance trials: II. Cultivar recommendations. *Crop Sci.* 42: 497 — 506.
- Fox P.N., Rosielle A.A. 1982. Reducing the influence of environmental main-effects on pattern analysis of plant breeding environments. *Euphytica* 31: 645 — 656.
- Gabriel K. R. 1971 The biplot graphic display of matrices with application to principal component analysis. *Biometrika* 58: 453 — 467.
- Gauch H. G. 1988. Model selection and validation for yield trials with interaction. *Biometrics* 44: 705 — 715.
- Gauch H. G. 1990. Full and reduced models for yield trials. *Theor. Appl. Genet.* 80: 153 — 160.
- Gauch H. G. 1992. Statistical analysis of regional yield trials. AMMI analysis of factorial designs. Elsevier Science, New York.
- Gauch H. G. 2006. Statistical analysis of yield trials by AMMI and GGE. *Crop Sci.* 46: 1488 — 1500.
- Gauch H. G., Furnas R.E. 1991. Statistical analysis of yield trials with MATMODEL. *Agron. J.* 83: 916 — 920.
- Gauch H. G., Zobel R. W. 1988. Predictive and postdictive success of statistical analyses of yield trials. *Theor. Appl. Genet.* 76: 1 — 10.
- Gauch H. G., Zobel R. W. 1989. Accuracy and selection success in yield trial analyses. *Theor. Appl. Genet.* 77: 473 — 481.
- Gauch H. G., Zobel R. W. 1996. AMMI analysis of yield trials, In: M.S. Kang, H.G. Gauch (Ed.) *Genotype by environment interaction*. CRC Press, Boca Raton: 85 — 122.
- Gauch H. G., Zobel R.W. 1997. Identifying mega-environments and targeting genotypes. *Crop Sci.* 37: 311 — 326.
- Gauch H.G., Piepho H.P., Annicchiarico P. 2008. Statistical analysis of yield trials by AMMI and GGE: Further considerations. *Crop Sci.* 48: 866 — 889.
- Gollob H. 1968. A statistical model which combines features of factor analytic and analysis of variance techniques. *Psychometrika* 33: 73 — 115.
- Grausgruber H., Oberforster M., Werteker M., Ruckenbauer P., Vollmann J. 2000. Stability of quality traits in Austrian-grown winter wheats. *Field Crops Res.* 66: 257 — 267.
- Hausmann B. I. G., Obilana A. B., Ayiecho P. O., Blum A., Schipprack W., Geiger H. H. 2000. Yield and yield stability of four population types of grain sorghum in a semi-arid area of Kenya. *Crop Sci.* 40: 319 — 329.
- Hernandez M., Crossa J. 2000. The AMMI analysis and graphing the biplot. *CIMMYT, Int. Mexico*.

- Hühn M., Truberg B. 2002. Contributions to the analysis of genotype x environment interactions: theoretical results of the application and comparison of clustering techniques for the stratification of field test sites. *J. Agron. Crop Sci.* 188: 65 — 72.
- Ibanez M. A., Di Renzo M.A., Samami S. S., Bonamico N. C., Poverene M. M. 2001. Genotype-environment interaction of lovegrass forage yield in the semi-arid region of Argentina. *Journal of Agricultural Science, Cambridge* 137: 329 — 336.
- Joshi A.K., Ortiz-Ferrara G., Crossa J., Singh G., Alvarado G., Bhatta M.R., Duveiller E., Sharma R.C., Pandit D.B., Siddique A.B., Das S.Y., Sharma R.N., Chand R. 2007. Associations of environments in South Asia based on spot blotch disease of wheat caused by *Cochliobolus sativus*. *Crop Sci.* 47: 1071— 1081.
- Kang M.S. 1993. Simultaneous selection for yield and stability: Consequences for growers. *Agron. J.* 85: 754 — 757 .
- Kang M.S. 1998. Using genotype-by-environment interaction for crop cultivar development. *Adv. in Agronomy* 62: 200 — 252.
- Kang M.S. 2002. Genotype-environment interaction: Progress and prospects. In: Kang M.S. (Ed.), *Quantitative Genetics, Genomics and Plant Breeding*, CAB International Wallingford, UK: 221 — 243.
- Kaya Y., Akcura M., Ayranci R., Taner S. 2006. Pattern analysis of multi-environment trials in bread wheat. *Commun. Biometry and Crop Sci.* 1: 63 — 71.
- Li W., Yan Z.H., Wei Y.M. Lan X.J., Zheng Y.L. 2006. Evaluation of genotype x environment interactions in Chinese spring wheat by the AMMI model, correlation and path analysis. *J. Agronomy and Crop Science* 192: 221 — 227.
- Lillemo M., van Ginkel M., Trethowan R.M., Hernandez E., Rajaram S. 2004. Associations among international CIMMYT bread wheat yield testing locations in high rainfall areas and their implications for wheat breeding. *Crop Sci.* 44: 1163 — 1169.
- Lillemo M., van Ginkel M., Trethowan R. M., Hernandez E., Crossa J. 2005. Differential adaptation of CIMMYT bread wheat to global high temperature environments. *Crop Sci.* 45: 2443 — 2453.
- Lin C.S., Binns M.R. 1994. Concepts and methods for analyzing regional trial data for cultivar and location selection. *Plant Breeding Reviews* 12: 271 — 297.
- Link W., Schill B., von Kittlitz E. 1996. Breeding for wide adaptation in faba bean. *Euphytica* 92: 185 — 190.
- Ma B. L., Yan W., Dwyer L. M., Frégeau-Reid J., Voldeng H.D., Dion Y., Nass H. 2004. Graphic analysis of genotype, environment, nitrogen fertilizer, and their interactions on spring wheat yield. *Agron. J.* 96: 169 — 180.
- Mathews K. L., Chapman S. C., Trethowan R., Singh R. P., Crossa J., Pfeiffer W., van Ginkel M., DeLacy I. 2006. Global adaptation of spring bread and durum wheat lines near-isogenic for major reduced height genes. *Crop Sci.* 46: 603 — 613.
- Mądry W. 2003. Analiza statystyczna miar stabilności na podstawie danych w klasyfikacji genotypy × środowiska. Część II Model mieszany Shukli i model regresji łącznej. *Coll. Biom.* 33: 207 — 220.
- Mądry W., Kang M.S. 2005. Scheffé-Caliński and Shukla models: their interpretation and usefulness in stability and adaptation analyses. *Journal of Crop Improvement* 14: 325 — 369 .
- Mądry W., Gacek E.S., Paderewski J., Gozdowski D., Drzazga T. 2011. Adaptive yield response of winter wheat cultivars across environments in Poland using combined AMMI and cluster analyses. *International Journal of Plant Production* 5.
- Mądry W., Paderewski J., Drzazga T. 2006. Ocena reakcji plonu ziarna rodów hodowlanych pszenicy ozimej na zmienne warunki środowiskowe za pomocą analizy AMMI. *Fragmenta Agronomica* 92: 130 — 143.
- McLaren C.G. 1996. Methods of data standardization used in pattern analysis and AMMI models for the analysis of international multi-environment variety trials, In: Cooper M., Hammer G.L., Eds. *Plant adaptation and crop improvement*. Wallingford, UK, CAB International.: 225 — 242.
- Mekbib F. 2003. Yield stability in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes. *Euphytica* 130:147-153.
- Motzo R., Giunta F., Deidda M. 2001. Factors affecting the genotype × environment interaction in spring triticale grown in a Mediterranean environment. *Euphytica* 121: 317 — 324.
- Muurinen S., Peltonen-Sainio P. 2006. Radiation-use efficiency of modern and old spring cereal cultivars and its response to nitrogen in northern growing conditions. *Field Crops Research* 96: 363 — 373.

- Nabugoomu F., Kempton R.A., Talbot M. 1999. Analysis of series of trials where varieties differ in sensitivity to locations. *J. Agric. Biol. Environ. Stat.* 4: 310 — 325.
- Nachit M. M., Nachit G., Ketata H., Gauch H. G., Zobel R. W. 1992. Use of AMMI and linear regression models to analyze genotype-environment interaction in durum wheat. *Theor. Appl. Genet.* 83: 597 — 601.
- Ortiz-Monasterio J.I., Sayre K.D., Rajaram S., McMahon M. 1997. Genetic progress in wheat yield and nitrogen use efficiency under four nitrogen rates. *Crop Sci.* 37: 898 — 904.
- Pacheco R. M., Duarte J. B., Vencovsky R., Pinheiro J. B., Oliveira A. B. 2005. Use of supplementary genotypes in AMMI analysis. *Theor. Appl. Genet.* 110: 812 — 818.
- Paderewski J., Mądry W. 2006. Addytywno-multiplikatywny model AMMI do statystycznej analizy danych z serii doświadczeń genotypowych. *Coll. Biom.* 36: 125 — 148.
- Paderewski J., Mądry W., Rozbicki J. 2010. Yielding of old and modern Polish wheat cultivars under different nitrogen input as assessed by method of joint AMMI and cluster analyses. *Plant Breeding and Seed Science* 62: 117 — 136.
- Paderewski J., Gauch H.G., Mądry W., Drzazga T., Rodrigues P.C. 2011. Yield Response of Winter Wheat to Agro-Ecological Conditions Using Additive Main Effects and Multiplicative Interaction and Cluster Analysis. *Crop Sci.* 51: 969 — 980.
- Patterson H. D. 1997. Analysis of series of variety trials. In R.A. Kempton, P.N. Fox (ed.) *Statistical methods for plant variety evaluation*. Chapman and Hall, London: 139 — 161.
- Piepho H.P. 1996. Analysis of genotype by environment interaction and phenotypic stability. In: M.S. Kang, H.G. Zobel (Eds), *Genotype by environment interaction*, CRC Press, Boca Raton: 151 — 174.
- Piepho H.P. 1998. Methods for comparing the yield stability of cropping systems-a review. *J. Agron. Crop Sci.* 180: 193 — 213.
- Piepho, H.P., van Eeuwijk F.A. 2002. Stability analyses in crop performance evaluation. In: Kang, M. [ed.]: "Crop improvement: Challenges in the twenty-first century". Food Products Press, Binghamton, New York: 307 — 342.
- Piepho H.P., Möhring J., Melchinger A. E., Büchse A. 2008. BLUP for phenotypic selection in plant breeding and variety testing. *Euphytica* 161: 209 — 228.
- Pinnsschmidt H.O., Hovmøller M.S. 2002. Genotype $\times$ environment interactions In the expression of net blotch resistance In spring and winter barley varieties. *Euphytica* 125: 227 — 243.
- Presterl T., Weltzien E. 2003. Exploiting heterosis in pearl millet for population breeding in arid environments *Crop Sci.* 43: 767 — 776.
- R Development Core Team 2007. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.
- Robert N. 1997. Structuring genotype $\times$ environment interaction for quality traits in bread wheat, in two multi-location series of trials. *Euphytica* 97: 53 — 66.
- Robinson J., Jalli M. 1999. Sensitivity of resistance to net blotch in barley. *J. Phytopathol.* 147: 235 — 241.
- Rodriguez M., Rau D., Papa R., Attene G. 2008. Genotype by environment interactions in barley (*Hordeum vulgare* L.): different responses of landraces, recombinant inbred lines and varieties to Mediterranean environment. *Euphytica* Vol. 163, No 2: 231 — 247.
- Roozeboom K. L., Schapaugh W. T., Tuinstra M. R., Vanderlip R.L., Milliken G. A. 2008. Testing wheat in variable environments: genotype, environment, interaction effects, and grouping test locations. *Crop Sci.* 48: 317 — 330.
- Samonte S. O., Wilson L. T., McClung A. M., Medley J. C. 2005. Targeting cultivars onto rice growing environments using AMMI and SREG GGE biplot analyses. *Crop Sci.* 45: 2414 — 2424.
- SAS Institute. 2001. SAS system for Windows. v. 8.2. SAS Inst., Cary, NC.
- Sharma R. C., Ortiz-Ferrara G., Crossa J., Bhatta M. R., Sufian M.A., Shoran J., Joshi A. K., Chand R. Singh G., Ortiz R. 2007. Wheat grain yield and stability assessed through regional trials in the Eastern Gangetic Plains of South Asia. *Euphytica* 157: 457 — 464.
- Sinebo W. 2005. Trade off between yield increase and yield stability in three decades of barley breeding in a tropical highland environment. *Field Crops Research* 92: 35 — 52.

- Sivapalan S., O'Brien L., Ortiz-Ferrera G., Hollamby G. J., Barclay I., Martin P.J. 2000. An adaptation analysis of Australian and CIMMYT/ICARDA wheat germplasm in Australian production environments. *Aust. J. Agric. Res.* 51: 903 — 915.
- Tollenaar M., Lee E. A. 2002. Yield potential, yield stability and stress tolerance in maize. *Field Crops Research* 75: 161 — 170.
- Trethowan R. M., van Ginkel M., Rajaram S. 2002. Progress in breeding wheat for yield and adaptation in global drought affected environments. *Crop Sci.* 42: 1441 — 1446.
- Trethowan R. M., van Ginkel M., Ammar K., Crossa J., Payne T. S., Cukadar B., Rajaram S., Hernandez E. 2003. Associations among twenty years of international bread wheat yield evaluation environments. *Crop Sci.* 43: 1698 — 1711.
- Truberg B., Hühn M. 2002. Contributions to the analysis of genotype $\times$ environment interactions: Experimental results of the application and comparison of clustering techniques for the stratification of field test sites. *J. Agron. Crop Sci.* 188: 113 — 122.
- van Eeuwijk F.A., Keizer L.C.E., Bakker J.J. 1995. Linear and bilinear models for the analysis of multi-environment trials: II. An application to data from the Dutch Maize variety trials. *Euphytica* 84: 9 — 22.
- Vargas M., Crossa J., van Eeuwijk F., Sayre K.D., Reynolds M.P. 2001. Interpreting treatment $\times$ environment interaction in agronomy trials. *Agron. J.* 93:949 — 960.
- Viele K., Srinivasan C. 2000. Parsimonious estimation of multiplicative interaction in analysis of variance using Kullback Leibler Information. *J. Stat. Plan. Inf.* 84: 201 — 219.
- Volta J., Romagosa I., Lafarga A., Armesto A.P., Sombrero A., Araus J.L. 1999. Genotype by environment interaction for grain yield and carbon isotope discrimination of barley in Mediterranean Spain. *Australian Journal of Agricultural Research* 50: 1263 — 1271.
- Wade L.J., McLaren C.G., Quintana L., Harnpichitvitaya D., Rajatasereekul S., Sarawgi A.K., Kumar A., Ahmed H.U., Sarwoto, Singh A.K., Rodriguez R., Siopongco J, Sarkarung S. 1999. Genotype by environment interactions across diverse rainfed lowland rice environments. *Field Crop Reserch* 64: 35 — 50.
- Wamatu J.N., Thomas E. 2002. The influence of genotype-environment interaction on the grain yields of 10 pigeonpea cultivars grown in Kenya. *J. Agron. Crop Sci.* 188: 25 — 33.
- Wamatu J. N., Thomas E., Piepho H.P. 2003. Responses of different Arabica coffee (*Coffea arabica* L.) clones to varied environmental conditions. *Euphytica* 129: 175 — 182.
- Weber R., Zalewski D., Kotecki A., Kaczmarek J. 2007. Ocena przydatności punktów doświadczalnych do prowadzenia PDO na Dolnym Śląsku. *Biul. IHAR* 245: 5 — 16.
- Williams W. T. 1976. Pattern analysis in agricultural science. Elsevier, Amsterdam.
- Worku M., Bänziger M., Schulte Erley G., Friesen D., Diallo A.O. Horst W.J. 2007. Nitrogen uptake and utilization in contrasting nitrogen efficient tropical maize hybrids. *Crop Sci.* 47: 519 — 528 .
- Yan W., Fréreau-Reid J. 2008. Breeding line selection based on multiple traits. *Crop Sci.* 48: 417 — 423.
- 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., Kang M.S. 2003. GGE biplot analysis: A graphical tool for breeders, geneticists and agronomists. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Yan W., Tinker N.A. 2005. An Integrated Biplot Analysis System for Displaying, Interpreting, and Exploring Genotype $\times$ Environment Interaction. *Crop Sci.* 45: 1004 — 1016.
- Yan W., Hunt L.A. Sheng Q., Szlanics Z. 2000. Cultivar evaluation and mega-environment investigation based on the GGE biplot. *Crop Sci.* 40: 597 — 605.
- Yan W., Kang M.S., Ma B., Woods S., Cornelius P.L. 2007. GGE biplot vs. AMMI analysis of genotype-by-environment data. *Crop Sci.* 47: 643 — 653.
- Yau S.K., Ortiz-Ferrera G. Srivastava J.P. 1991. Classification of diverse bread wheat-growing environments based on differential yield responses. *Crop Sci.* 31: 571 — 576.
- Zhang Y., He Z., Zhang A., van Ginkel M., Ye G. 2006a. Pattern analysis on grain yield of Chinese and CIMMYT spring wheat cultivars grown in China and CIMMYT. *Euphytica* 147: 409 — 420.

- Zhang Y., He Z., Zhang A., van Ginkel M., Pena R.J., Ye G. 2006b. Pattern analysis on protein properties of Chinese and CIMMYT spring wheat cultivars sown in China and CIMMYT. *Australian Journal of Agricultural Research* 57: 811 — 822.
- Zieliński A., Jankowski P., Mądry W. 2005. Biplot typu GGE jako narzędzie do graficznej analizy danych z serii doświadczeń odmianowych. *Coll. Biom.* 35: 207 — 224.
- Zobel R.W., Wright M.J., Gauch H.G. 1988. Statistical analysis of a yield trial. *Agron. J.* 80:388 — 393.

WIESŁAW MĄDRY ¹
JAKUB PADEREWSKI ¹
JAN ROZBICKI ²
DARIUSZ GOZDOWSKI ¹
JAN GOLBA ²
MARIUSZ PIECHOCIŃSKI ²
MARCIN STUDNICKI
ADRIANA DEREJKO ¹

¹ Katedra Doświadczalnictwa i Bioinformatyki, SGGW, Warszawa

² Katedra Agronomii, SGGW, Warszawa

Plonowanie odmian pszenicy ozimej w różnych środowiskach — jednoroczna seria PDOiR*

Yielding of winter wheat cultivars across environments — one-year multi-environment post-registration trial

Celem pracy jest odpowiednie przygotowanie i przedstawienie statystycznej metodyki wnioskowania o adaptacyjnej reakcji odmian na zróżnicowane warunki środowiskowe w miejscowościach, na podstawie danych kompletnych z jednorocznej, wielokrotnej serii dwuczynnikowych doświadczeń PDOiR oraz empiryczna ilustracja zastosowania i ocena przydatności tej metodyki dla plonu ziarna pszenicy ozimej. Rozpatrywane dane doświadczalne stanowią trójkierunkową kompletną klasyfikację o postaci Odmiana × Agrotechnika × Miejscowość. Stosowana metodyka statystyczna obejmuje łączną trójkierunkową analizę wariancji opartą na modelu stałym dla danych z wymienionej serii doświadczeń, analizę AMMI dla interakcji odmiany x miejscowości (interakcji GL) oraz analizę skupień dla odmian, w której zmiennymi opisującymi odmiany były średnie poprawione przez model AMMI dla plonu w badanych miejscowościach. Te średnie poprawione były obliczane poprzez dwie badane intensywności agrotechniki, A1 i A2, z wykorzystaniem istotnych multiplikatywnych składników efektów interakcyjnych GL otrzymanych w analizie AMMI. Proponowana metodyka okazała się skutecznym narzędziem do rozróżniania rodzajów adaptacyjnej reakcji 28 odmian pszenicy ozimej na warunki środowiskowe, czyli agroekosystemy. Umożliwia ona efektywne poszukiwanie odmian o szerokiej i wąskiej adaptacji. Stwierdzono, że w sezonie wegetacyjnym 2008/2009 szeroką adaptację wykazały dwie odmiany, tj. polska odmiana Bogatka (wyhodowana przez DANKO Hodowla Roślin sp. z o.o.) oraz niemiecka odmiana Jenga (wyhodowana przez Nordsaat Saatuchtgesellschaft mbH). Pozostałe odmiany były wąsko zaadaptowane do niektórych badanych środowisk lub były relatywnie nie zaadaptowane do żadnych spośród testowanych środowisk, ponieważ plonowały zawsze znacząco poniżej średnich środowiskowych.

* PDOiR = Porejestrowe Doświadczalnictwo Odmianowe i Rolnicze. Praca zawiera wyniki badań w projekcie własnym Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego nr N N310 091136 pt. „Badanie uwarunkowania plonu ziarna odmian pszenicy ozimej przez cechy plonotwórcze roślin”.

Słowa kluczowe: adaptacja odmian, analiza AMMI, analiza skupień, PDOiR, plon ziarna, pszenica ozima

The aim of the paper is adequate modification and presenting a statistical methodology to assess patterns of cultivar adaptive response to agricultural environments (agro-ecosystems) on the basis of complete Genotype $\times$ Crop Management $\times$ Location (G $\times$ M $\times$ L) data obtained from yearly multi-location two-factor trials conducted in a net of post-registration trials (PDOiR), empirical illustration of using and usefulness of this methodology applied to winter wheat grain yield. This statistical technique consists of three procedures, i.e. three-way ANOVA based on a fixed model, AMMI procedure for genotype $\times$ location interaction modeling and cluster analysis for classification of cultivar adaptive response described by AMMI-modeled (adjusted) genotype $\times$ location means calculated across two crop management intensities (A1 and A2). The considered methodology was an efficient tool to reliable classification of 28 winter wheat cultivars into cultivar groups that exhibited homogenous adaptive response to the environments. Then, it permits to identify cultivars showing wide or specific adaptation. It was revealed that in the season 2008/2009 Polish cultivar Bogatka (bred by DANKO Hodowla Roślin sp. z o.o.) and German cultivar Jenga (bred by Nordsaat Saatzeitgesellschaft mbH) showed wide adaptation to the testing environments. The remaining cultivars were locally adapted to some testing environments or some of them were not relatively adapted to the environments because they always yielded substantially below environmental means.

Key words: AMMI analysis, cluster analysis, cultivar adaptation, grain yield, post-registration trials, winter wheat

WSTĘP

Pszenica jest głównym gatunkiem roślin uprawnych na świecie, pokrywającą 53% potrzeb żywieniowych ludności w krajach rozwiniętych i 85% w krajach rozwijających się (Pena, 2007; Denčić i in., 2011). Jest ona także najważniejszą rośliną uprawną w Polsce. Ilościowe cechy rolnicze, takie, jak plon ziarna, atrybuty jakości plonu oraz porażenie chorobami i szkodnikami pszenicy, a także innych gatunków roślin uprawnych, są uwarunkowane przez genotyp odmiany, środowisko rolnicze (warunki biotyczne i abiotyczne agroekosystemu w rolniczej przestrzeni produkcyjnej), warunki pogodowe w latach oraz agrotechnikę, a także interakcję tych czynników (Basford i Cooper, 1998; Oscarsson i in., 1998; Ma i in., 2004; Souza i in., 2004; Trethowan i Crossa, 2007; Annicchiarico i in., 2010; Anderson, 2010). Ze względu na znaczące efekty interakcyjne pomiędzy wymienionymi czynnikami na plon i inne cechy rolnicze roślin uprawnych, ocena działania tych czynników, a zwłaszcza ocena wartości gospodarczej odmian, oparta na ich efektach głównych nie jest wystarczająco wiarygodna (Basford i Cooper, 1998; Annicchiarico, 2002; Anderson, 2010). Wobec tego, w metodologii badań agronomicznych główna uwaga jest skupiona na adekwatnym modelowaniu statystycznym, wykrywaniu oraz interpretowaniu różnorodnych reakcji badanych odmian pod względem cech rolniczych (zwłaszcza plonu) na warunki środowiskowe oraz agrotechnikę (Cooper i in., 2001; Schmidt i in., 2001; Annicchiarico, 2002; Ma i in., 2004). Wymienione reakcje odmian są nazywane ich reakcjami adaptacyjnymi (ang. cultivar adaptive response lub adaptation pattern) — (Annicchiarico, 2002; Annicchiarico i Iannucci, 2008; Gauch i in., 2008; Annicchiarico i in., 2010, 2011; Anderson i in., 2011). Są one określone przez średnie doświadczalne badanej cechy rolniczej danej odmiany w rozpatrywanych środowiskach lub rodzajach agrotechniki. Zależnie od reakcji adaptacyjnej odmian, scharakteryzowanej

w postaci relatywnej zdolności adaptacyjnej w różnych warunkach środowiskowych lub agrotechnicznych, wyróżnia się dwa główne typy albo rodzaje adaptacji odmian, tj. adaptację wąską, zwaną też swoistą lub lokalną (ang. local lub specific adaptation) oraz adaptację szeroką (ang. wide adaptation) — (Gauch i Zobel, 1997; Annicchiarico 2002; Gauch i in., 2008; Annicchiarico i in., 2010; Anderson i in., 2011; Miyan i in., 2011). W polskiej literaturze, podstawy teoretyczne i metodologiczne, dotyczące wymienionych rodzajów adaptacji odmian można znaleźć m.in. w przeglądowych pracach Mądrego i Iwańskiej (2011) oraz Paderewskiego i Mądrego (2012).

W badaniach hodowlanych i agronomicznych, do oceny adaptacyjnej reakcji odmian ważnych gatunków roślin uprawnych, włączając także pszenicę, wykonywane są serie odmianowych lub odmianowo-agrotechnicznych doświadczeń polowych (ang. multi-environment trials, METs). Najczęściej wykonuje się serie doświadczeń odmianowych w celu oceny adaptacyjnej reakcji odmian pod względem plonu i innych cech rolniczych na zmienne warunki środowiskowe (Bisford i Cooper, 1998; Sivapalan i in., 2000; Annicchiarico, 2002; Fan i in., 2007; Annicchiarico i Iannucci, 2008; Sharma i in., 2009; Annicchiarico i in., 2011 a; Paderewski i in., 2011). Natomiast, rzadziej wykonywane są serie doświadczeń odmianowo-agrotechnicznych, które dostarczają danych do badania rodzajów adaptacji odmian zarówno na środowiska, jak i agrotechnikę (Cooper i in., 2001; Schmidt i in., 2001; Carr i in., 2003; Ma i in., 2004; Souza i in., 2004; Anderson 2010 (oraz prace tam cytowane), Annicchiarico i in., 2010; Anderson i in., 2011). W Polsce serie doświadczeń odmianowo-agrotechnicznych dla ważnych gospodarczo gatunków roślin uprawnych są realizowane w Porejestrze Doświadczalnictwa Odmianowego i Rolniczego (PDOiR), do 2010 roku określanym, jako Porejestrowe Doświadczalnictwo Odmianowe (PDO). PDOiR jest systemem stałych lub okresowych badań wartości gospodarczej odmian roślin rolniczych, wpisanych do Krajowego Rejestru Odmian oraz znajdujących się we Wspólnym Katalogu Odmian Roślin Rolniczych (CCA). Badania w ramach PDOiR są prowadzone z zachowaniem doboru odmian i reprezentatywności środowisk rolniczych (podmiotów oceniających odmiany) zarówno dla rolniczej przestrzeni produkcyjnej całego kraju (seria L), jak i województw (seria K).

W ramach PDOiR dla pszenicy ozimej wykonuje się corocznie wielokrotne serie dwuczynnikowych doświadczeń odmianowo-agrotechnicznych, to znaczy doświadczenia powtórzone w wielu, odpowiednio wybranych środowiskach rolniczych, czyli miejscowościach (w Stacjach lub Zakładach Doświadczalnych Oceny Odmian dla serii L oraz w wymienionych i innych podmiotach oceniających odmiany w serii K) — (COBORU, 2002, <http://www.coboru.pl>). W tych doświadczeniach jednym czynnikiem są odmiany, drugim zaś, poziomy intensywności agrotechniki (A1 — o niższych nakładach, A2 — o wyższych nakładach). W serii dwuczynnikowych doświadczeń PDOiR, w każdej miejscowości jest stosowany układ pasów prostokątnych, nazywany też układem split-block (Elandt, 1964; Mejza, 1999; Mintenko i in., 2002). Zatem, serie dwuczynnikowych doświadczeń w PDOiR dla pszenicy ozimej są źródłem danych, przydatnych do badania adaptacyjnej reakcji odmian na zmienne warunki środowiskowe w rolniczej przestrzeni produkcyjnej całego kraju lub w obrębie województw, przy jednej z dwóch badanych intensywności agrotechniki, a także reakcji na intensywność agrotechniki w każdym

badanych warunkach środowiskowych (Ma i in., 2004; Anderson, 2010; Annicchiarico i in., 2010). Jednakże, efektywne badanie adaptacyjnej reakcji odmian pszenicy ozimej na środowiska i intensywność agrotechniki na podstawie danych dla plonu (lub innych cech plonotwórczych roślin) z serii doświadczeń PDOiR w każdym roku oddzielnie lub też danych zebranych z serii tych doświadczeń, przeprowadzonych w kilku latach, jest trudnym zadaniem metodycznym. Najważniejszym powodem tej trudności jest niekompletność danych, tworzących klasyfikację trójkierunkową o postaci Odmiany $\times$ Agrotechnika $\times$ Miejscowości, w skrócie klasyfikacji $G \times M \times L$ (pochodzącą z wielokrotnej serii tych doświadczeń w jednym roku) lub klasyfikację czterokierunkową o postaci Odmiany $\times$ Agrotechnika $\times$ Miejscowości $\times$ Lata, w skrócie klasyfikacji $G \times M \times L \times Y$ (stanowiącą dane zebrane z wielokrotnej serii tych doświadczeń, przeprowadzonych w kilku latach) — (Casanoves i in., 2005; Virk i Witcombe, 2008; Crossa i in., 2010). Niekompletność danych w wymienionych klasyfikacjach jest wynikiem zróżnicowanych zestawów odmian w wybranych miejscowościach oraz latach. Wobec tego, wyczerpujące i zaawansowane badania nad oceną wartości gospodarczej odmian pszenicy ozimej i innych ważnych gatunków roślin uprawnych, a zwłaszcza zdolności adaptacyjnej odmian w ramach PDOiR, wymagają opracowania nowych albo uogólnienia, dostosowania lub modyfikacji istniejących, specjalistycznych metod statystycznych, opartych na mieszanych modelach liniowych (Cooper i in., 2001; Mintenko i in., 2002; Virk i Witcombe, 2008; Crossa i in., 2010) oraz multiplikatywnych (Ma i in., 2004; Annicchiarico i in., 2010; Crossa i in., 2010).

Jest warto podkreślić, że do badania adaptacji odmian na podstawie danych w kompletnej klasyfikacji trójkierunkowej $G \times M \times L$ lub czterokierunkowej $G \times M \times L \times Y$, otrzymanych z serii doświadczeń PDOiR, można dostosować, zmodyfikować lub rozwinąć dostępną i stosowaną aktualnie metodykę analizy danych z kompletnych serii doświadczeń odmianowych lub odmianowo-agrotechnicznych, która jest znacznie prostsza, niż ta, dla danych niekompletnych (McIntosh, 1983; Cooper i in. 2001; Mintenko i in., 2002; Ma i in., 2004; Annicchiarico i in., 2010; Crossa i in., 2010). Pierwsze podejście metodyczne do rozpatrywanego tutaj wnioskowania na podstawie analizy danych w kompletnej klasyfikacji trójkierunkowej $G \times M \times L$, pochodzących z jednorocznej serii doświadczeń PDOiR, zostało zaprezentowane i zilustrowane empirycznie w pracy Derejko i in. (2011) dla pszenicy ozimej. Metoda proponowana w cytowanej pracy, obejmująca analizę wariancji oraz wielokrotne testowanie średnich, może być stosowana do klasycznego wnioskowania o efektach głównych odmian, intensywności agrotechniki i miejscowości, a także o efektach interakcyjnych tych czynników. Kompletną klasyfikację $G \times M \times L$ uzyskano przez ograniczenie się do takiego samego zestawu odmian w każdej miejscowości, wybranych z całej serii doświadczeń. W pracy Derejko i in. (2011) nie przedstawiono specjalistycznych metod, opartych na modelach multiplikatywnych, które stosuje się zwykle do badania adaptacyjnej reakcji odmian na środowiska rolnicze. Cenną propozycją źródłową wymienionej metodyki są prace Ma i in. (2004) oraz Annicchiarico i in. (2010), w których zastosowano model multiplikatywny AMMI dla danych kompletnych w klasyfikacji czterokierunkowej o postaci $G \times M \times L \times Y$.

Celem niniejszej pracy jest 1) odpowiednie przygotowanie i przedstawienie komplementarnej metodyki statystycznej do wnioskowania o adaptacyjnej reakcji badanych odmian na zróżnicowane warunki środowiskowe w miejscowościach, na podstawie danych kompletnych z jednorocznej, wielokrotnej serii dwuczynnikowych doświadczeń PDOiR, 2) empiryczna ilustracja zastosowania i ocena przydatności tej metodyki dla plonu ziarna pszenicy ozimej. Metodyka ta obejmuje łączną trójkierunkową analizę wariancji, opartą na modelu stałym dla danych z wymienionej serii doświadczeń, analizę AMMI dla interakcji odmiany $\times$ miejscowości (interakcji GL) oraz analizę skupień dla odmian, w której zmiennymi opisującymi odmiany były średnie poprawione przez model AMMI dla plonu w badanych miejscowościach.

MATERIAŁ I METODY

Materiał doświadczalny

W tej pracy rozpatrywano dane dotyczące plonu ziarna, uzyskane dla 28 odmian pszenicy ozimej w serii L doświadczeń w systemie PDOiR, wykonanych w 8 miejscowościach (Stacjach i Zakładach Doświadczalnych Oceny Odmian COBORU) w sezonie wegetacyjnym 2008/2009. Nazwy badanych odmian podano w tabeli 3, a ich pochodzenie (hodowców) można znaleźć m.in. w pracy Derejko i in. (2011).



Rys. 1. Lokalizacja ośmiu Stacji i Zakładów Doświadczalnych Oceny Odmian, w których przeprowadzono rozpatrywaną serię L doświadczeń z pszenicą ozimą w ramach PDOiR w sezonie wegetacyjnym 2008/2009

Fig. 1. Geographic distribution of the trial locations (the COBORU Cultivar Testing Stations) of the PDOiR trials for winter wheat cultivars tested in 2008/2009 season

Miejscowości badawcze wybrano spośród 20 uczestniczących w tej serii doświadczeń, wszystkich Stacji i Zakładów Doświadczalnych COBORU, rozmieszczonych w całym

kraju, aby reprezentować zmienność środowiskową w głównych rejonach uprawy pszenicy ozimej. Rozmieszczenie geograficzne rozpatrywanych miejscowości badawczych przedstawiono na rysunku 1, zaś charakterystykę warunków glebowych w tych środowiskach podano w tabeli 1. Rozkład średnich opadów i temperatury w ośmiu stacjach oceniających w badawczym sezonie wegetacyjnym podano na rysunku 2.

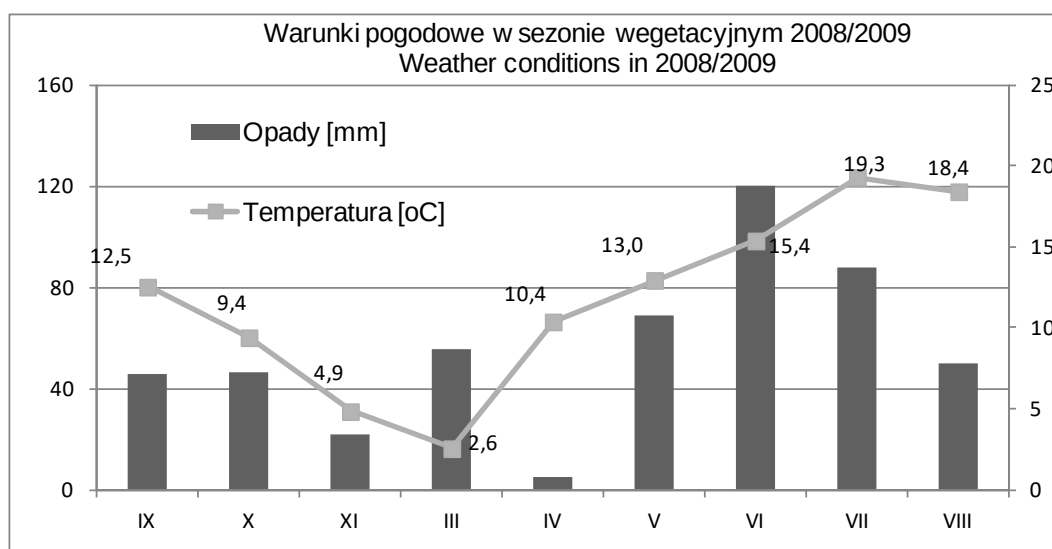
Tabela 1

Charakterystyka gleb w ośmiu miejscowościach badawczych w serii L doświadczeń PDOiR z pszenicą ozimą w sezonie wegetacyjnym 2008/2009
Description of soils in eight trial locations included in PDOiR trials for winter wheat in season 2008/2009

Miejscowość Locality	Kompleks przydatności rolniczej Agricultural soil quality	Klasa gleby Soil class	Typ, rodzaj gleby Soil type	pH
Węgrzce	2	II	brunatna właściwa wytw. z lessu - brown soil on loess	6,1
Głębokie	2	IIIa	czarne ziemie właściwe wytw. z glin lekkich pylastych – black earth formed from light silt-loam	6,0
Głubczyce	1	II	gleba brunatna właściwa wytw. z utworów lessowych ilastych - brown soil formed from clayey loess	6,4
Radostowo	1	I	czarne ziemie zdegradowane zalegające na glebach mocnych – degraded black earth on strong soil	6,1
Nowa Wieś Ujska	4	IV a	płowa, piasek gliniasty lekki na glinie lekkiej zalegającej płytko – grey-brown, light loamy sand on light loam	5,4
Marianowo	4	IV a	brunatna właściwa wytw. z pyłów na glinie lekkiej pylastej - brown soil formed from silt on light silty loam	5,9
Seroczyn	5	IV b	gleby bielcowe i pseudobielcowe; piaski słabogliniaste i gliny lekkie – podsolic and pseudopodsolic, slightly loamy sands and light loams	6,4
Kościelna Wieś	2	III a	brunatna wylugowana, pyły zwykłe na glinie średniej – leached brown soil, very fine sands on medium loam	6,4

Badane w publikacji odmiany wybrano spośród wszystkich obiektów testowanych w tej serii doświadczeń PDOiR, w taki sposób, aby były one zróżnicowane pod względem potencjału plonowania oraz cech jakości ziarna oraz były reprezentatywne dla puli nowoczesnych odmian pszenicy ozimej, zarejestrowanych w ostatnich kilku latach w Krajowym oraz Wspólnotowym Rejestrze Odmian tego gatunku. Analizowane dane doświadczalne uzyskano w trakcie badań w ramach projektu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego nr N N310 091136 pt. „Badanie uwarunkowania plonu ziarna odmian pszenicy ozimej przez cechy plonotwórcze roślin”.

Rośliny pobierano w fazie dojrzałości pełnej z mikropoletek o powierzchni 1 m², wyciętych z każdego poletka o powierzchni do zbioru 15 m² (10 × 1,5 m), w poszczególnych doświadczeniach, we wszystkich miejscowościach. Dla roślin z tych mikropoletek obserwowano plon ziarna (g/m²) oraz składowe plonu, tj. liczbę kłosów z 1 m², liczbę ziarniaków w kłosie i masę tysiąca ziarniaków, a także inne zmienne opisujące ontogenetyczny proces tworzenia plonu i gospodarowanie azotem przez rośliny. W tej pracy przeprowadzono analizę statystyczną danych dla plonu ziarna. Dane te stanowiły kompletną, trójkierunkową klasyfikację o postaci G×M×L.



Rys. 2. Rozkład średnich opadów i temperatury w ośmiu Stacjach i Zakładach Doświadczalnych Oceny Odmian, w których przeprowadzono rozpatrywaną serię L doświadczeń z pszenicą ozimą w ramach PDOiR, w sezonie wegetacyjnym 2008/2009

Fig. 2. Distribution of average rainfall and temperature across the eight trial locations (the COBORU Cultivar Testing Stations) of the PDOiR trials network for winter wheat cultivars in 2008/2009 season

Analiza statystyczna

Do analizy danych była zastosowana łączna trójkierunkowa analiza wariancji według modelu stałego z trzema błędami doświadczalnymi, odpowiednimi dla układu doświadczalnego split-block, która jest opisana w pracy Derejko i in. (2011). Przyjęto, że miejscowości badawcze (stacje) oraz odmiany i intensywność agrotechniki są czynnikami stałymi. Konsekwencją metodyczno-statystyczną tego założenia jest odnoszenie wniosków o plonowaniu odmian pszenicy ozimej tylko do tych miejscowości, w których wykonano serię doświadczeń PDOiR. W łącznej trójkierunkowej analizie wariancji dla danych w trójkierunkowej klasyfikacji o postaci $G \times M \times L$, efekty interakcji Odmiana $\times$ Miejscowość (GL) analizowano za pomocą procedury (analizy) AMMI dla średnich arytmetycznych plonów, dotyczących kombinacji GL, czyli obliczonych z dwóch poziomów intensywności agrotechniki (Gauch, 1988, 1992; Annicchiarico, 2002, 2009; Annicchiarico i in., 2010). Taka procedura statystyczna jest nazywana także modelowaniem AMMI genotypowo-środowiskowych efektów interakcyjnych (Annicchiarico, 2009; Annicchiarico i in., 2011 a).

W analizie AMMI średnich arytmetycznych plonów, dotyczących kombinacji GL, efekty główne odmian i miejscowości są estymowane za pomocą metody ANOVA (tutaj łącznej trójkierunkowej analizy wariancji), zaś efekty interakcji GL są wyrażone matematycznie za pomocą składników multiplikatywnych, zgodnie z następującym równaniem (Gauch 1988, 1992, Annicchiarico 2002, 2009, Annicchiarico i in. 2010):

$$GL_{ij} = \sum_{t=1}^T \lambda_t u_{ti} v_{tj}$$

gdzie:

GL_{ij} jest efektem interakcji Odmiana $\times$ Miejscowość dla i -tej odmiany ($i = 1, \dots, I$) oraz j -tej miejscowości ($j = 1, \dots, J$), λ_t jest wartością osobliwą macierzy ocen efektów interakcyjnych GL dla t -tej [$t=1, \dots, T \leq \min\{(I-1), (J-1)\}$] składowej głównej ($\lambda_1 \geq \dots \geq \lambda_T$), u_{ti} jest parametrem t -tej interakcyjnej składowej głównej dla i -tej odmiany, v_{tj} jest parametrem t -tej interakcyjnej składowej głównej dla j -tej miejscowości.

Analiza AMMI w rozpatrywanym przypadku składa się z testowania istotności kolejnych pierwszych interakcyjnych składowych głównych za pomocą testu F_R (Cornellius i in. 1996, Dias i Krzanowski 2003) oraz obliczenia poprawionych albo odtworzonych średnich plonów odmian w każdej miejscowości (ang. AMMI-adjusted means lub AMMI-modeled means), za pomocą analizy AMMI z wykorzystaniem istotnych interakcyjnych składowych głównych — (Sivapalan i in., 2000; Annicchiarico, 2002; Annicchiarico i in., 2011 b). Tak poprawione średnie plony, modelują efektywnie w sensie statystycznym, adaptacyjne reakcje plonu odmian na warunki środowiskowe (Gauch, 1988, 1992; Annicchiarico, 2002; Gauch i in., 2008). Reakcje te, oznaczone symbolem R_{ij} , opisuje następujące równanie (Annicchiarico, 2002, 2009; Annicchiarico i in., 2011 b):

$$R_{ij} = \hat{m}_i + \hat{L}_j + \sum_{t=1}^S \hat{\lambda}_t \hat{u}_{ti} \hat{v}_{tj}$$

gdzie:

$\hat{m}_i$ jest oszacowaną (metodą najmniejszych kwadratów) średnią brzegową dla i -tej odmiany, $\hat{L}_j$ jest oszacowanym (metodą najmniejszych kwadratów) efektem głównym dla j -tej miejscowości, $\hat{\lambda}_t$, $\hat{u}_{ti}$, $\hat{v}_{tj}$ są oszacowanymi parametrami multiplikatywnymi modelu AMMI metodą rozkładu macierzy ocen efektów interakcyjnych GL według wartości osobliwych (metodą składowych głównych), S jest liczbą istotnych interakcyjnych składowych głównych.

Na wartościach średnich poprawionych plonu dla odmian w środowiskach, R_{ij} , przeprowadzono analizę skupień metodą Warda dla badanych odmian z kwadratem odległości Euklidesa jako miarą niepodobieństwa odmian pod względem zmiennych opisujących odmiany (Sivapalan i in., 2000; Crossa i in., 1991; Mądry i in., 2011), czyli średnich poprawionych przez model AMMI dla plonu odmian w badanych miejscowościach (Crossa i in., 1991; Annicchiarico, 2002; Annicchiarico i in., 2010; Mądry i in., 2011). Dla każdej grupy jednorodnej (skupienia) odmian pod względem reakcji plonu na warunki środowiskowe, wyznaczono średnią (grupową) reakcję adaptacyjną plonu odmian (Mądry i in., 2011).

Łączną analizę wariancji dla plonu ziarna (surowych danych) z rozpatrywanych serii doświadczeń PDOiR, wykonano za pomocą procedury GLM w programie SAS 9.1 (SAS Institute Inc. 2004; Derejko i in., 2011). Testowanie istotności poszczególnych efektów w

modelu stałym dla łącznej trójkierunkowej analizy wariancji (tab. 2) oraz kod procedury wykorzystanej w łącznej analizie wariancji i wielokrotnych porównaniach średnich obiektowych za pomocą metody Tukeya jest przedstawiony w pracy Derejko i in. (2011). Analiza AMMI, która stanowi uzupełnienie łącznej analizy wariancji (tab. 2), została wykonana w języku R (R Development Core Team, 2009) za pomocą procedury „La.svd”, służącej do rozkładu macierzy według wartości osobliwych (ang. *singular value decomposition*). Natomiast, analiza skupień metodą Warda została wykonana za pomocą procedury ‘hclust’ w języku R.

WYNIKI BADAŃ I DYSKUSJA

Analiza wariancji (tab. 2) wykazała, że interakcja Odmiana $\times$ Miejscowość była istotna, co wskazuje na niejednakową (nierównoległą) reakcję plonu badanych odmian pszenicy ozimej na zmienne warunki środowiskowe w miejscowościach (agroekosystemy), przeciętnie poprzez dwa poziomy intensywności agrotechniki. Nieistotna interakcja potrójna Odmiana $\times$ Agrotechnika $\times$ Miejscowość, $G \times M \times L$ (tab. 2) wskazuje, że kształty reakcji plonu każdej z badanych odmian na środowiska były podobne (w dużym stopniu powtarzalne) przy obu poziomach intensywności agrotechniki. Ma to ważne, pozytywne konsekwencje metodyczne przy modelowaniu adaptacyjnej reakcji plonu odmian w agroekosystemach przy obu badanych rodzajach agrotechniki. Fakt nieistotnej interakcji $G \times M \times L$ uzasadnia poprawność (bez straty informacji) ograniczenia się do analizy, interpretacji i przedstawiania zróżnicowanej adaptacyjnej reakcji plonu odmian na środowiska, tylko na średnich plonach poprzez dwa rodzaje uprawy (tutaj na poprawionych średnich plonach za pomocą modelu AMMI). Interakcja $G \times L$ dla plonu i jego jakości u pszenicy ozimej jest powszechnie stwierdzanym zjawiskiem na różnych szerokościach geograficznych (Ayoub i in., 1994; Basford i Cooper, 1998; Cooper i in., 2001; Ma i in., 2004; Souza i in., 2004; Sharma i in., 2009; Anderson, 2010; Annicchiarico i in., 2010; Denčić i in., 2011; Paderewski i in., 2011).

Relacje sum kwadratów dla źródeł zmienności w analizie wariancji (tab. 2) informują o relatywnym znaczeniu wielkości wpływu danego źródła zmienności na plon (Basford i Cooper, 1998; Annicchiarico, 2002; Gauch i in., 2008). Ponieważ suma kwadratów dla efektów interakcji $G \times L$ jest prawie 3-krotnie większa, niż suma kwadratów dla efektów głównych odmian (G), więc wypowiedzanie się o relatywnym plonowaniu odmian w zmiennych środowiskach (i wybieranie odmian o relatywnie najwyższym plonowaniu), tylko na podstawie średniego plonu odmian poprzez środowiska jest niewłaściwe (Annicchiarico, 2002, 2009; Sharma i in., 2009). Dlatego wykres średnich odmianowych plonu, obliczonych poprzez miejscowości i intensywności agrotechniki, podany w pracy Derejko i in. (2011), nie jest wiarygodnym i wystarczającą oceną plonowania odmian w zmiennych agroekosystemach i agrotechnice. Przy niewielkim zróżnicowaniu średnich genotypowych (odmianowych) plonu, stwierdzonym w badaniach Derejko i in. (2011) na tych samych danych, dużego znaczenia nabiera uwzględnianie efektów interakcji $G \times L$ w modelowaniu adaptacyjnej reakcji odmian. Test F_R (Cornellius i in., 1996; Dias i Krzanowski, 2003, tab. 2) wykazał istotność dwóch pierwszych interakcyjnych

składowych głównych, które akumulują 46,3% sumy kwadratów dla efektów interakcji $G \times L$. Zatem, do uzyskania poprawionych plonów dla odmian w badanych miejscowościach za pomocą modelu AMMI, wykorzystano dwie pierwsze interakcyjne składowe główne (Gauch, 1988, 1992; Annicchiarico, 2002).

Tabela 2

Łączna analiza wariancji oparta na modelu stałym dla plonu ziarna pszenicy ozimej obserwowanego w kompletnej, wielokrotnej serii dwu-czynnikowych doświadczeń PDOiR, przeprowadzonej w sezonie 2008/2009

Combined analysis of variance based on a fixed effect model for winter wheat grain yield data obtained in a complete two-factorial post-registration (PDOiR) multi-location trials carried out in the season 2008/2009

Źródło zmienności Sources of variation	St. sw. Df	Sumy kwadr. SS	Średnie kwadr. MS	F _{emp.} F	Wartość p p-Value
Miejscowość Location (L)	7	10444575	1492082	306,99	<0,0001
Bloki w Miejsc. Blocks in locations	8	394695	49337		
Agrotechnika Management (M)	1	1877311	1877311	163,27	<0,0001
Agrotechnika × Miejscowość Management × Location (M × L)	7	375691	53670	4,67	0,023
Błąd I Error I	8	91983	11498		
Odmiana Cultivar (G)	27	503471	18647	4,15	<0,0001
Odmiana × Miejscowość Cultivar × Location (G × L):	189	1307860	6920	1,54	0,001
AMMI IPC1	189 ^{a)}	1307860 ^{a)}	6920	1,54	0,001
AMMI IPC2	156 ^{a)}	990930 ^{a)}	6352	1,41	0,009
AMMI IPC3	125 ^{a)}	702358 ^{a)}	5619	1,25	0,076
AMMI IPC4	96 ^{a)}	459051 ^{a)}	4782	1,06	0,350
Błąd II Error II	216	970121	4491		
Agrotechnika × Odmiana Management × Cultivar (G×M)	27	161590	5985	1,23	0,208
Agrotechnika × Odmiana × Miejscowość Management×Cultivar×Location (G×M×L)	189	894343	4732	0,97	0,574
Błąd III (Reszta) Error III (Residual)	216	1049823	4860		

a) stopnie swobody i sumy kwadratów według testu F_R (Cornellius et al. 1996, Dias and Krzanowski 2003)

a) degrees of freedom and sum of squares are computed according F_R test (Cornellius et al. 1996, Dias and Krzanowski 2003)

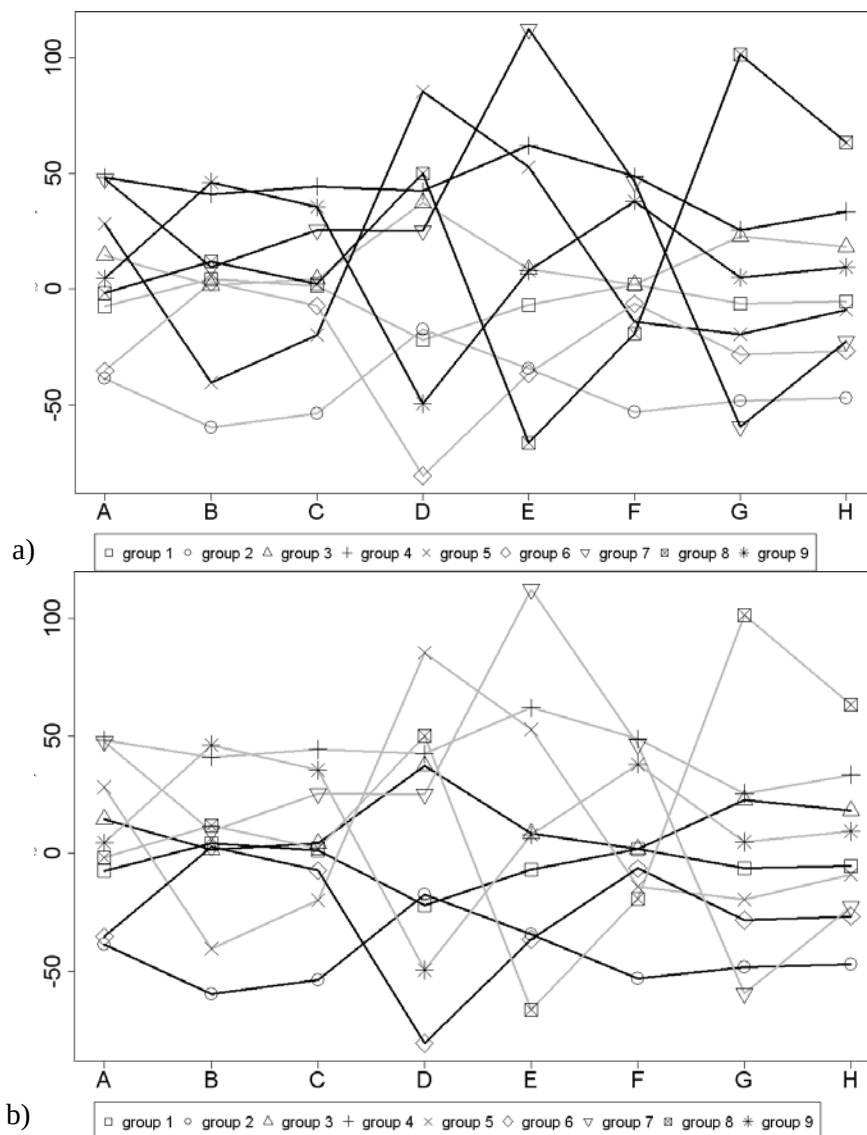
Za pomocą analizy skupień odmian za pomocą metody Warda na tych poprawionych plonach wydzielono 9 skupień (grup) odmian (tab. 3). Grupy te zachowują 86,5% całkowitej sumy kwadratów dla średnich plonów poprawionych za pomocą modelu AMMI2 (ang. AMMI2-adjusted means). Dlatego, można wnioskować o dużym podobieństwie adaptacyjnej reakcji plonu odmian w wyznaczonych grupach i dobrym odwzorowaniu typu reakcji adaptacyjnej odmian w każdej grupie przez średnie adaptacyjne reakcje plonu odmian w grupie na zmienne warunki środowiskowe.

Tabela 3

Grupy odmian pszenicy ozimej o podobnej adaptacyjnej reakcji plonu w ośmiu środowiskach w Polsce, wydzielone za pomocą analizy skupień plonów poprawionych za pomocą modelu AMMI2
Groups of cultivars with similar adaptive yield response across eight agro-ecosystems of Poland, distinguished with the use of cluster analysis of AMMI2-adjusted data

Grupa 1 Group 1	Grupa 2 Group 2	Grupa 3 Group 3	Grupa 4 Group 4	Grupa 5 Group 5	Grupa 6 Group 6	Grupa 7 Group 7	Grupa 8 Group 8	Grupa 9 Group 9
Akteur	Alkazar	Anthus	Bogatka	Boomer	Flair	Kohelia	Legenda	Rapsodia
Finezja	Smuga	Figura	Jenga	Nadobna	Markiza		Meteor	Turkis
Garantus	Wydma	Mulan			Satyna			
Kris Ludwig		Muszelka						
Mewa		Tonacja						
Naridana								
Ostroga								

Linie na rysunku 3 odwzorowują wymienione średnie reakcje plonu grup odmian na warunki środowiskowe, uzyskane po odjęciu od nich średnich środowiskowych. Zabieg taki jest często stosowany w pracach nad oceną adaptacyjnej reakcji odmian po to, aby uzyskać mniejszy zakres zmienności skali transformowanych w ten sposób średnich i lepiej wizualnie zobrazować stwierdzone różnice odmian w każdym środowisku (Cooper i in., 2001; Annicchiarico, 2002; Zhang i in., 2006). Dodajmy, że różnice średnich odmian lub ich grup jednorodnych dla danej cechy w każdym środowisku, które są kryterium oceny zdolności adaptacyjnej odmian, są niezmiennicze dla wykresów z odmianowym średnim plonem „surowym” lub poprawionym przez model AMMI w środowiskach oraz dla wykresów po odjęciu od nich średnich środowiskowych. Zatem, rysunku 3 jest podstawą do wnioskowania o relatywnej zdolności adaptacyjnej odmian w badanych środowiskach, ponieważ pozwala wskazać te grupy odmian (o podobnej reakcji adaptacyjnej), które były wśród najwyższej plonujących tylko w jednym środowisku lub grupie środowisk (odmiany o wąskiej adaptacji) lub we wszystkich lub prawie wszystkich środowiskach (odmiany o szerokiej adaptacji). Wykonując analizę AMMI danych w klasyfikacji $G \times L$ badacze często ograniczają się do modelu AMMI1, nawet wtedy, gdy wybrany test statystyczny lub inna metoda (na przykład metoda cross-validation) wykaże istotność większej liczby interakcyjnych składowych głównych. Taki model nazywany jest suboptymalnym (Annicchiarico i in. 2011 a). W następstwie wyboru takiego modelu uzyskiwany jest łatwy w interpretacji, nawet dla dużej liczby odmian, wykres plonu nominalnego (Gauch, 1992; Gauch i Zobel, 1997; Annicchiarico, 2002, 2009; Gauch i in., 2008). W rozpatrywanym tu przykładzie, pierwsza interakcyjna składowa główna wyjaśniła tylko 24,2% sumy kwadratów dla efektów interakcji $G \times L$. Zatem, wskazane było uwzględnienie kolejnej składowej głównej, uznanej za istotną na podstawie testu F_R .



A — Marianowo; B — Nowa Wieś Ujska; C — Głębokie; D — Seroczyn; E — Kościelna Wieś; F — Głubczyce; G — Radostowo; H — Węgrzce.

a) liniami czarnymi zostały przedstawione reakcje grup odmian o szerokiej lub wąskiej adaptacji, zaś liniami szarymi przedstawiono reakcje grup odmian relatywnie nieprzystosowanych do badanych środowisk

b) wymienione reakcje grup odmian przedstawiono odpowiednio liniami szarymi i czarnymi

a) bold lines describe mean yield response for cultivar groups showing specific or wide adaptation, light lines are for those relatively non-adapted to all environments

b) the two response patterns of the cultivar groups are presented using the reverse kinds of lines

Rys. 3. Średnie grupowe reakcje adaptacyjne plonu odmian pszenicy ozimej na warunki środowiskowe w ośmiu miejscowościach (grupy odmian są podane w tab. 3)

Fig. 3. Pattern of winter wheat mean yield response of cultivar groups across eight trial locations (cultivar groups are presented in table 3)

Autorzy uważają, że 46,3% sumy kwadratów dla efektów interakcji $G \times L$, akumulowane przez pierwszą i drugą interakcyjną składową główną, które łącznie uczestniczą w określeniu adaptacyjnych reakcji badanych odmian, stanowi rozsądne usunięcie błędu losowego z tych empirycznych funkcji reakcji, który kumuluje się głównie w obserwowanych efektach interakcyjnych (Gauch, 1988, 1992; Gauch i in., 2008).

Rozpatrując grupowe reakcje adaptacyjne odmian na rys. 3, stwierdzamy, że w sezonie wegetacyjnym 2008/2009 szeroką adaptację wykazały odmiany z grupy 4 (Bogatka, Jenga), plonując we wszystkich miejscowościach na 1. lub 2. miejscu, zaś na 3. miejscu w Seroczynie. Grupa odmian 8 (odmiany: Legenda, Meteor) wykazała wąską adaptację do warunków środowiskowych w dwu miejscowościach o najwyższym średnim plonie, tj. Radostowo i Węgrzce. Odmiany te relatywnie dość wysoko plonowały także w miejscowości Seroczyn i bardzo słabo w miejscowości Kościelna Wieś. W pozostałych miejscowościach plonowały one blisko średniej środowiskowej odmian i dlatego blisko zera na rysunku 3. Odmiana Kohelia, zaliczona do grupy 7 plonowała najwyżej w miejscowości Kościelna Wieś, a w miejscowości Głubczyce i Marianowo niewiele ustępowała najwyżej tam plonującej grupie (w obu przypadkach grupie 4). Natomiast w obu miejscowościach o najwyższym plonie, Kohelia plonowała relatywnie bardzo słabo. Specyficzną adaptację do agrosystemu w miejscowości Nowa Wieś Ujska (1 miejsce w plonowaniu) oraz miejscowości Głębokie i Głubczyce wykazała grupa odmian 9 (Rapsodia, Turkis). Grupa odmian 5 (Boomer, Nadobna) była przystosowana wąsko do warunków środowiskowych w miejscowości Seroczyn. Stabilnie, choć zaledwie blisko średniej środowiskowej plonowały odmiany z grupy 1 (Akteur, Finezja, Garant, Kris, Ludwig, Mewa, Naridana, Ostroga), niewiele wyżej plonowały odmiany z grupy 3 (Anthus, Figura, Mulan, Muszelka, Tonacja). Stabilnie, ale relatywnie bardzo nisko, plonowały odmiany z grupy 2 (Alcazar, Smuga, Wydma), wykazując w ten sposób brak adaptacji do warunków środowiskowych w głównych rejonach uprawy pszenicy ozimej w Polsce. Brak adaptacji do warunków środowiskowych w Polsce wykazały też mało stabilne odmiany z grupy 6 (Flair, Markiza, Satyna).

WNIOSKI

1. W badanych warunkach pogodowych sezonu wegetacyjnego 2008/2009 nowoczesne polskie i wspólnotowe odmiany pszenicy ozimej reagowały różnie pod względem plonu ziarna na przestrzennie zmienne warunki środowiskowe w Polsce (miały różną średnią odmianową oraz stabilność plonowania), zaś te reakcje środowiskowe były podobne przy obu poziomach intensywności uprawy,
2. Szeroką adaptację wykazały polska odmiana Bogatka (wyhodowana przez HR Danko oraz niemiecka odmiana Jenga (wyhodowana przez Nordsaat Saatuchtgesellschaft mbH), w nielicznych tylko środowiskach ustępując najwyższych rang pod względem plonowania innym grupom odmian o wąskiej adaptacji,
3. Przedstawiona komplementarna metodyka statystyczna, obejmująca łączną analizę wariancji kompletnych danych z jednorocznej, wielokrotnej serii dwuczynnikowych doświadczeń PDOiR w układzie split-block, analizę AMMI dla kombinacji średnich w

- klasyfikacji odmiany $\times$ miejscowości oraz analizę skupień dla odmian opartą na średnich odmianowych w miejscowościach, poprawionych przez analizę AMMI, okazała się efektywnym narzędziem do wnioskowania o adaptacyjnej reakcji plonu ziarna badanych odmian pszenicy ozimej na zmienne warunki środowiskowe,
4. W przypadkach, w których uzasadniony jest wybór modelu AMMI zawierający więcej, niż jedną interakcyjną składową główną, analiza skupień na poprawionych przez analizę AMMI średnich odmianowych w miejscowościach oraz wykres adaptacyjnych reakcji plonu dla grup odmian, umożliwiającą sprawną interpretację zróżnicowanej zdolności adaptacyjnej dużej liczby badanych odmian.

LITERATURA

- Anderson W.K. 2010. Closing the gap between actual and potential yield of rainfed wheat. The impacts of environment, management and cultivar. *Field Crops Research* 116: 14 — 22.
- Anderson W.K., Van Burgel A.J., Sharma D.L., Shackley B.J., Zaicou-Kunesch C.M., Miyan M.S., Amjad M. 2011. Assessing specific agronomic responses of wheat cultivars in a winter rainfall environment. *Crop and Pasture Science* 62: 115 — 124.
- Annicchiarico P. 2002. Genotype $\times$ environment interactions — challenges and opportunities for plant breeding and cultivar recommendations, FAO plant productions and protection paper 174. FAO, Rome
- Annicchiarico P. 2009. Coping with and exploiting genotype $\times$ environment interactions. In: Ceccarelli S., Guimarães E. P., Weltzien E. (eds), *Plant Breeding and Farmer Participation*, Food and Agricultural Organization, Rome: 519 — 564.
- Annicchiarico P., Chiapparino E., Perenzin M. 2010. Response of common wheat varieties to organic and conventional production systems across Italian locations, and implications for selection. *Field Crops Res.* 116: 230 — 238.
- Annicchiarico P., Iannucci A. 2008. Adaptation strategy, germplasm type and adaptive traits for field pea improvement in Italy based on variety responses across climatically contrasting environments. *Field Crops Res.* 108: 133 — 142.
- Annicchiarico P., Pecetti L., Abdelguerfi A., Bouizgaren A., Carroni A. M., Hayek T., M'Hammadi Bouzina M., Mezni M. 2011 a. Adaptation of landrace and variety germplasm and selection strategies for lucerne in the Mediterranean basin. *Field Crops Res.* 120: 283 — 291.
- Annicchiarico P., Pecetti L., Bouzerzour H., Kallida R., Khedim A., Porqueddu C., Simoes N.M., Volaire F., Lelièvre F. 2011. Adaptation of contrasting cocksfoot plant types to agricultural environments across the Mediterranean basin. *Environ. Experim. Bot.* 74: 82 — 89.
- Ayoub M., Guertin S., Fregeau-Reid J., Smith D.L. 1994. Nitrogen fertilizer effect on breadmaking quality of hard red spring wheat in eastern Canada. *Crop Sci.* 34: 1346 — 1352.
- Basford K. E., Cooper M. 1998. Genotype $\times$ environment interactions and some considerations of their implications for wheat breeding in Australia. *Austr. J. Agric. Res.* 49: 153 — 174.
- Bradu D., Gabriel K.R. 1978. The biplot as a diagnostic tool for model of two-way tables. *Technometrics* 1978: 47 — 63.
- Carr P.M., Horsley R.D., Poland W.W. 2003. Tillage and seeding rate effects on wheat cultivars: I. grain production. *Crop Sci.* 43: 202 — 209.
- Casanoves F., Baldessari J., Balzarini M. 2005. Evaluation of multi environment trials of peanut cultivars. *Crop Sci.* 45: 18 — 26.
- Cornelius P.L., Crossa J., Seyedsadr M. 1996 Statistical tests and estimators of multiplicative models for genotype-by-environment interaction. In: Kang M.S., Gauch H.G. (Eds.), *Genotype by Environment Interaction*. CRC Press, Boca Raton: 199 — 234.
- Crossa J., Fox P.N., Pfeiffer W.H., Rajaram S., Gauch H.G. 1991. AMMI adjustment for statistical analysis of an international wheat yield trial. *Theor. Appl. Genet.* 81:27 — 37.

- Crossa J., Vargas M., Joshi A.K. 2010. Linear, bilinear, and linear-bilinear fixed and mixed models for analyzing genotype environment interaction in plant breeding and agronomy. *Can. J. Plant Sci.* 90:561 — 574.
- Dias C., Krzanowski W. 2003. Model selection and cross validation in additive main effect and multiplicative interaction models. *Crop Sci.* 43:865 — 873.
- COBORU. 2002. Zboża. Metodyka badania wartości odmian. COBORU, Słupia Wielka.
- Cooper M., Woodruff D.R., Phillips I.G., Basford K.E., Gilmour A. R. 2001. Genotype-by-management interactions for grain yield and grain protein concentration of wheat. *Field Crops Research*, 69: 47 — 67.
- Denčić S., Mladenov N., Kobiljski B. 2011. Effects of genotype and environment on breadmaking quality in wheat. *Int. J. Plant Prod.* 5:71 — 82.
- Derejko A., Mądry W., Gozdowski D., Rozbicki J., Golba J., Piechociński M., Studnicki M. 2011. Wpływ odmian, miejscowości i intensywności uprawy oraz ich interakcji na plon pszenicy ozimej w doświadczeniach PDO. *Biul. IHAR* 259: 131 — 146.
- 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.
- Elandt R. 1964. Statystyka matematyczna w zastosowaniu do doświadczeń rolniczego. PWN, Warszawa.
- Fan X.M., Kang M.S., Chen H., Zhang Y., Tan J., Xu C. 2007. Yield stability of maize hybrids evaluated in multi-environment trials in Yunnan, China. *Agron. J.* 99: 220 — 228.
- Gauch H.G. 1988. Model selection and validation for yield trials with interaction. *Biometrics* 44:705 — 715
- Gauch H.G. 1992. Statistical analysis of regional yield trials. AMMI analysis of factorial designs. Elsevier Science, New York, NY.
- Gauch, H.G., Piepho H.P., Annicchiarico P. 2008. Statistical analysis of yield trials by AMMI and GGE: Further considerations. *Crop Sci.* 48: 866 — 889.
- Gauch H. G., Zobel R.W. 1997. Identifying mega-environments and targeting genotypes. *Crop Sci.* 37: 311 — 326.
- Geleta B., Atak M., Baenziger P.S., Nelson L.A., Baltenesperger D.D., Eskridge K.M., Shipman M.J., Shelton D.R. 2002. Seeding rate and genotype effect on agronomic performance and end-use quality of winter wheat. *Crop Sci.* 42: 827 — 832.
- Ma B.L., Yan W., Dwyer L.M., Fregeau-Reid J., Voldeng H. D., Dion Y., Nass H. 2004. Graphic analysis of genotype, environment, nitrogen fertilizer, and their interactions on spring wheat yield. *Agron. J.* 96: 169 — 180.
- Mądry W., Gacek E.S., Paderewski J., Gozdowski D., Drzazga T., 2011. Adaptive yield response of winter wheat cultivars across environments in Poland using combined AMMI and cluster analyses. *Int. J. Plant Prod.* 5: 299 — 310.
- Mądry W., Iwańska M. 2011. Przydatność metod oraz miar statystycznych do oceny stabilności i adaptacji odmian: przegląd literatury. *Biul. IHAR* 260/261: 193 — 218.
- McIntosh M.S 1983. Analysis of combined experiments. *Crop Sci.* 75:153 — 156.
- Mejza I. 1999. Planowanie serii doświadczeń dwuczynnikowych z rozszczepionymi jednostkami i analiza wyników. *Roczniki Akademii Rolniczej w Poznaniu*, vol. 301.
- Mintenko A. S., Smith S. R., Cattani D. J. 2002. Turfgrass evaluation of native grasses for the Northern Great Plains Region. *Crop Sci.* 42: 2018 — 2024.
- Miyan M.S., Impiglia A., Anderson W. K. 2011. Agronomic practices for durum wheat in an area new to the crop. *Communications in Biometry and Crop Sci.* 6: 64 — 79.
- Oscarsson M., Andersson R., Aman P., Jonsson A. 1998. Effects of cultivar, nitrogen fertilization rate and environment on yield and grain quality of barley. *J. Sci. Food Agric.* 78: 359 — 366.
- Paderewski J., Gauch H. G., Mądry W., Drzazga T., Rodrigues P. C. 2011. Yield response of winter wheat to agro-ecological conditions using additive main effects and multiplicative interaction and cluster analysis, *Crop Sci.* 51: 969 — 980.
- Paderewski J., Mądry W. 2012. Zastosowania modelu AMMI do analizy reakcji odmian na środowiska. *Biul. IHAR* 263: 161 — 188.

- Pena R. J. 2007. Current and future trends of wheat quality needs. In: Buck H. T., Nisi J. E., Salomon N. (Eds.). *Wheat production in stressed environments*. Springer Verlag: 411 — 424.
- R Development Core Team. 2009. R: A language and environment for statistical computing. Available at <http://www.Rproject.org> (verified 3 Dec. 2010). R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- SAS Institute. 2004. SAS system for Windows. v. 8.2. SAS Inst., Cary, NC.
- Schmidt J. P., Lamb J.A., Schmitt M.A., Randall G.W., Orf J. H., Gollany H. T. 2001. Soybean varietal response to liquid swine manure application. *Agron. J.* 93: 358 — 363.
- Sharma R. C., Morgounov A. I., Braun H.J., Akin B., Keser M., Bedoshvili D., Bagci A., Martius C., van Ginkel M. 2009. Identifying high yielding stable winter wheat genotypes for irrigated environments in Central and West Asia. *Euphytica*, 171: 53 — 64.
- Sivapalan S., O'Brien L., Ortiz-Ferrera G., Hollamby G. J., Barclay I., Martin P. J. 2000. An adaptation analysis of Australian and CIMMYT/ICARDA wheat germplasm in Australian production environments. *Aust. J. Agric. Res.* 51: 903 — 915.
- Souza E. J., Martin J.M., Guttieri M.J., O'Brien K. M., Habernicht D. K., Lanning S. P., McLean R., Carlson G. R., Talbert L. E. 2004. Influence of genotype, environment, and nitrogen management on spring wheat quality. *Crop Sci.* 44: 425 — 432.
- Virk D. S., Witcombe J. R. 2008. Evaluating cultivars in unbalanced on-farm participatory trials. *Field Crops Res.* 106: 105 — 115.
- Yan W., Kang M.S. 2003. *GGE Biplot Analysis: A Graphical tool for breeders, geneticists, and agronomists*. CRC Press. Boca Raton, FL.
- Zhang Y., He Z., Zhang A., van Ginkel M., Ye G. 2006. Pattern analysis on grain yield of Chinese and CIMMYT spring wheat cultivars grown in China and CIMMYT. *Euphytica* 147: 409 — 420.

KRYSTYNA GRZELAK

em. pracownik IHAR — PIB, Radzików

Wspomnienia — nasiennictwo i nasionoznawstwo w Instytucie Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — PIB w Radzikowie*

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin jako jednostka naukowo-badawcza został utworzony Uchwałą Rządową w 1951 roku. Powstało wtedy także pięć innych Instytutów resortowych Ministerstwa Rolnictwa. Tradycja nauki rolniczej wywodziła się z Instytutu Rolniczego w Puławach utworzonego przez rodzinę Czartoryskich, późniejszego Państwowego Instytutu Naukowego Gospodarstwa Wiejskiego PINGW.

Dyrektorem Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin została profesor doktor Jadwiga Lekczyńska, absolwentka Wydziału Matematyczno-Przyrodniczego Uniwersytetu Warszawskiego przed 1939 rokiem. Dyrekcja Instytutu mieściła się w Warszawie przy ulicy Górskiego 7.

W ramach działalności naukowo-badawczej IHAR w 1953 roku został powołany Zakład Biologii i Przechowywania Nasion we Wrocławiu. Kierownikiem, pomysłodawcą i organizatorem był profesor doktor habilitowany Marian Lityński. Zakład mieścił się w gmachu Wyższej Szkoły Rolniczej, przy ulicy Cybulskiego 20. Profesor dr Marian Lityński był uczestnikiem pierwszego powojennego Kongresu ISTA — International Seed Testing Association (Międzynarodowy Związek Oceny Nasion). Polska była jednym z pierwszych członków tego stowarzyszenia, powołanego w 1924 roku.

Do pracy w Instytucie zostałam przyjęta przez profesor dr Jadwigę Lekczyńską w 1955 roku po ukończeniu studiów biologicznych w Warszawie. Umowę o pracę załatwiała kierowniczka Wydziału Kadr pani Zofia Siemiatycka, a potem wydział ten prowadziła pani Próchniakowa i pan Marek Suski. W rozmowie wstępnej z panią profesor podałam, że ukończyłam w Warszawie XVI Liceum Ogólnokształcące im. Stefanii Sempołowskiej, a biologii uczyła mnie pani Maria Wipszycka. Okazała się, koleżanką ze studiów pani profesor Jadwigi Lekczyńskiej.

* Wspomnienia zostały napisane z okazji 60-lecia działalności IHAR — PIB i zadedykowane prof. dr hab. Marianowi Lityńskiemu.

Pracowałam początkowo w gmachu dyrekcji przy ulicy Górskiego 7, skierowana do Działu Koordynacji Zakładów Naukowych. Wykonywałam powierzone zadania i uczyłam się poznawać problemy prac oraz rozpoznawać pracujących tam ludzi. Wszyscy wydawali mi się bardzo ważni. Dużo mówiło się wtedy o tak zwanych BZ — bezetach, czyli byłych ziemianach, to jest ludziach, którym zabrano majątki po wojnie w ramach reformy rolnej, lub którzy potracili majątki w czasie okupacji niemieckiej w wyniku wypędzeń. Byli to ludzie wykształceni przed wojną ze statusami naukowymi i znajomością języków obcych. Ludzi tych zatrudniała Dyrektor Instytutu profesor Jadwiga Lekczyńska, dając im życiową szansę pracy i rozwoju naukowego. Mogę tu wspomnieć panów Milewskiego, Zaorskiego, Madalińskiego, Łozińskiego, Lityńskich, a w stacjach terenowych Instytutu pracowało ich więcej.

Poznałam tu także panią mgr Stanisławę Świrską, mgr Zofię Mazurkiewicz, panią Irenę Paszkowską, mgr Annę Bydlińską i mgr Krystynę Wiązecką, które pracowały wówczas nad swoimi doktoratami, panie Roniewicz i Rothkielową, Janinę Strzelecką.

W tym czasie w latach 1955–1956 prof. dr hab. Marian Lityński prowadził działania nad organizowaniem i rozwijaniem nasiennictwa w Instytucie. Prowadził Zakład Biologii i Przechowalnictwa Nasion, a także rozpoczął organizowanie Stacji Doświadczalnych przy zakładach i magazynach nasiennych w Krakowie, Poznaniu i Warszawie. W Krakowie kierownikiem Stacji był mgr Stanisław Broniewski — nasionoznawca, wysokiej klasy specjalista oceny jakości nasion, a także wspinały człowiek. Pracowała tam również mgr Maria Szynalska. W Poznaniu stacja doświadczalna, mieściła się w gmachu Zakładu Roślin Oleistych IHAR przy ulicy Sierocej 2, którą kierowała inż. Irena Derlicka.

W Warszawie w Instytucie Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, pracę nad problemami biologii nasion, nasiennictwem, przechowalnictwem oraz technologią przygotowania do siewu powierzono mnie, młodemu pracownikowi Instytutu. Na wiosnę 1956 roku, zostałam skierowana do Wrocławia, do Zakładu Biologii i Przechowalnictwa Nasion, gdzie pracowałam we wszystkich laboratoriach przez miesiąc, potem jeszcze chyba dwa miesiące. Tam poznałam pracowników naukowych i technicznych; wiele z nich pochodziło z kresów wschodnich Rzeczypospolitej, osiedlonych po wojnie we Wrocławiu. Pani mgr Anna Wiłkojć, mgr Janina Schneider, mgr Zofia Chudoba, mgr Konstanty Ostromięcki, mgr Zbigniew Urbaniak stanowili trzon naukowo-badawczy tego zakładu. Można się było od nich wiele nauczyć. Później doktoryzowali się u profesora Mariana Lityńskiego. W Zakładzie poznałam i się zaprzyjaźniłam z mgr Kamilą Ostoja-Chyżyńską, zamieszkałą pod Warszawą, a po przeprowadzce z Wrocławia rozpoczęła ze mną pracę nad nasionami w Stacji Doświadczalnej w Warszawie.

Profesor dr hab. Marian Lityński prowadził rozmowy o współpracy i prowadzeniu prac doświadczalnych nad nasionami z dyrektorem Centrali Nasiennej na Okęciu-Służewcu, inżynierem Felicjanem Preibiszem w mojej obecności i pani Kamili Chyżyńskiej. Dyrektor Centrali Nasiennej zaoferował nam lokal na laboratorium w budynku siedziby Centrali Nasiennej oraz próby materiałów nasiennych z działającego magazynu. Profesor dr Marian Lityński zabiegał o to i przyjął ofertę i tam rozpoczęła się nasza praca badawcza. Pracowaliśmy przy ulicy Cybernetyki 15, gdzie w pobliżu rozbudowywały się duże zakłady przemysłowe i poprawiała się komunikacja miejska.

Budynek i wielkie magazyny nasienne Centrali Nasienniej położone były w pobliżu stacji kolejowej Warszawa — Okęcie, i była także specjalna bocznicza kolejowa, którą przesyłano duże transporty nasion traw i roślin motylkowych do przerobów technologicznych i oceny jakości. Tam też znajdowało się laboratorium zakładowe Centrali Nasienniej, o odpowiednim zakresie pracy, głównie przeprowadzane były usługowe analizy jakości nasion przed i po przerobie technologicznym.

Nasza praca w IHAR miała charakter naukowo-doświadczalny, materiałów badawczych mieliśmy pod dostatkiem, pobierałyśmy wiele prób nasion do badań laboratoryjnych. Pomału także obie z mgr Kamilą Chyżyńską zorganizowałyśmy laboratorium, nasz warsztat pracy. Powoli przybywało nam sprzętu laboratoryjnego i prób nasion pobieranych w magazynie nasiennym. Prowadziłyśmy także obserwacje nad nasionami roślin warzywnych w magazynie nasiennym Centrali Nasiennictwa Ogrodniczego i Szkółkarstwa (CNOS) na Woli w Warszawie.

W międzyczasie prof. dr hab. Marian Lityński, po uzgodnieniach z prof. Jadwigą Lekczyńską zaoferował pani mgr Stanisławie Świrskiej kierownictwo tworzącej się Stacji Doświadczalnej ZBiPN w Warszawie. Pani mgr Stanisława Świrska zrezygnowała z pracy w dyrekcji Instytutu i przeszła do pracy naukowo-badawczej nad nasionami i nasiennictwem, a od w 1956 roku została kierownikiem stacji doświadczalnej ZBiPN w Warszawie.

Profesor dr hab. Marian Lityński zasłużył się nauce o nasionach, organizował naukę rolniczą na Ziemiach Zachodnich, był twórcą i pierwszym rektorem Wyższej Szkoły Rolniczej w Szczecinie w latach 1954–1962. Akademia Rolnicza w Szczecinie w 1974 roku przyznała Prof. Marianowi Lityńskiemu doktorat honoris causa. Prace w Instytucie prowadził nad nasiennictwem; jest autorem książki „Biologia i przechowywanie nasion”, której ostatnie wydanie w 1982 roku nosiło tytuł: „Biologiczne podstawy nasiennictwa”. W latach 1951–1971 był członkiem Rady Naukowej IHAR. Mieszkał w Warszawie, gdzie zmarł w 1984 roku, pochowany został na Cmentarzu Powązkowskim Wojskowym. Pomnik nagrobny staraniem Zakładu Metodyki i moim, dr Mariana Górskiego z KCRZG i dyrektora Instytutu — profesora dr hab. Henryka J. Czembora, ufundował Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Radzikowie.

Pani mgr Stanisława Świrska była niezwykle interesującą osobą. Ukończyła studia rolnicze na Uniwersytecie im. Stefana Batorego w Wilnie w 1938 roku. Była studentką profesora Jagmina. W czasie wojny pracowała jako inspektor rolny lub nasienny na terenie Wileńszczyzny, działała tam także jako łączniczka Armii Krajowej ps. „Marta” między zgrupowaniami wojskowymi, stacjonującymi głównie w majątkach ziemskich. „Marta” przenosiła tam wiedzę rolniczą i wieści patriotyczne. Profesor Jagmin pracował po wojnie w Poznaniu na Akademii Rolniczej, a pani mgr Świrska osiadła w Warszawie z bratem i dwiema siostrami. Mgr Stanisława Świrska po objęciu kierownictwa stacji doświadczalnej ZBiPN w Warszawie, na Okęciu, bardzo szybko zaczęła rozbudowywać laboratorium, odpowiednio je urządziła i wyposażyła. Zatrudniła mgr Krystynę Golik, absolwentkę SGGW, a niebawem rozpoczęła także pracę mgr Janina Budzyńska. Przychodziły także kolejno do pracy laborantki i technicy — Elżbieta Rudawska, Janina Kwiatkowska, Maria Trakul, Maria Kozińska, Janina Chodorowska i Alina Mateblewska.

Pani mgr Stanisława Świrską skierowała mnie na staż naukowy do Instytutu Ochrony Roślin w Regulach koło Warszawy; dojeżdżałam tam codziennie przez pół roku do laboratorium fitopatologii roślin, pracowałam nad zdrowotnością nasion, co było przedmiotem zainteresowania naszego laboratorium. Poznałam tam dr Sabinę Czyżewską, obecną prof. dr Hannę Zarzycką, pana mgr Adama Iłakowicza. Cały czas współpracowałam w Katedrze Fitopatologii SGGW z profesorem dr Józefem Kochmanem, uczestnicząc w jego seminariach mikologicznych. Studiowałam także na Wydziale Rolnym SGGW, wykonując pracę magisterską u profesor dr Jadwigi Lekczyńskiej w Katedrze Hodowli Roślin i Nasiennictwa nad biologią i zdrowotnością nasion.

Wkrótce przestała pracować mgr Krystyna Golik, przenosząc się z mężem wojskowym, późniejszym generałem Wojska Polskiego do innego miasta. Niedługo potem odeszła od nas do pracy w CNOS mgr Kamila Ostoj-Chyżyńska, z którą przyjaźnię się do dzisiaj.

Prowadziliśmy pierwsze prace naukowo-badawcze, pobieraliśmy próby nasion do badań, prowadziliśmy obserwacje wielu partii nasion w magazynie nasiennym. Zgodnie procesami technologicznymi czyszczenia i suszenia materiałów przygotowywaliśmy nasiona do siewu, głównie nasiona traw i motylkowych. Pracy było tego ogromnie dużo. Wykonywaliśmy analizy laboratoryjne. Powstawały pierwsze nasze publikacje, drukowane w Biuletynie Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin. Pracowaliśmy w miłej atmosferze sprzyjającej twórczej pracy, gdyż nasz zakład stanowił zaplecze merytoryczne Inspekcji Nasiennej.

Pani profesor dr Jadwiga Lekczyńska była w tym czasie także kierownikiem Katedry Hodowli Roślin i Nasiennictwa w Szkole Głównej Gospodarstwa Wiejskiego. Kierowała do nas na Okęcie swoich magistrantów do przeprowadzenia doświadczeń laboratoryjnych. Mieliśmy dobrze przygotowane i prowadzone laboratorium nasienne. Pomagaliśmy w opracowaniu około 20 prac magisterskich.

W 1965 roku podniesiono rangę Stacji Doświadczalnej Zakładu Biologii i Przechowywania Nasion, do rangi Zakładu Naukowego IHAR i nadano nazwę **Zakładu Metodyki Oceny Nasion**, określając zakres prac naukowo-badawczych, ale także obowiązku współpracy z powstałym w tym czasie Centralnym Inspektorem Inspekcji Nasiennej z dyrektorem Bernardem Michalikiem.

W naszym zakładzie wzrastała liczba pracowników naukowych. Do pracy w Instytucie Hodowli i Aklimatyzacji Roślin przyszedł z Instytutu Ochrony Roślin pan mgr Adam Iłakowicz, fitopatolog, mgr Grzegorz Rytko, który u nas w Zakładzie robił pracę magisterską. Później staraniem mgr Stanisławy Świrskiej — został zatrudniony doktor Krzysztof Niemyski, fizjolog z Uniwersytetu Łódzkiego, duża indywidualność i poliglota.

W 1970 roku nastąpiła deglomeracja całego Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin z Warszawy do siedziby w Radzikowie. Przeprowadziła się dyrekcja z ulicy Górskiego 7, a potem inne jednostki Instytutu. W Radzikowie koło Błonia istniał już wcześniej Zakład Doświadczalny, powstawały nowe laboratoria Instytutu i gmach przeznaczony dla dyrekcji. Dojeżdżaliśmy z Warszawy autobusem pracowniczym. Niektórzy pracownicy mieszkali w rozwijającym się osiedlu mieszkaniowym w Radzikowie, a również dojeżdżali z pobliskiego Błonia.

Nasz Zakład Metodyki Oceny Nasion przeniósł się dopiero w 1972 roku. Otrzymał w nowej siedzibie nowe, piękne, obszerne lokum, laboratoria na I piętrze i w podziemiach, a także pokój śniadań. Przed naszym zakładem postawiono nowe zadania, rozszerzone o problemy kwalifikacji polowej plantacji nasiennych. W 1970 roku dołączono do Zakładu Metodyki Oceny Nasion w IHAR ekspozyturę stacji oceny nasion w Sandomierzu, jako Laboratorium Technologiczne IHAR — ZMON z kierownikiem mgr Julianem Belottim. Laboratorium Technologiczne stało się bardzo prężnym ośrodkiem szkoleniowym dla pracowników wszystkich laboratoriów w Polsce. Staliśmy się wówczas jako Instytut członkiem ISTA., gdyż ekspozytura stacji oceny nasion pełniła już tę rolę. Zakład otrzymał też nową nazwę — **Zakład Metodyki Oceny Jakości i Kwalifikacji Materiału Siewnego**.

Do Zakładu przyszli nowi pracownicy mgr Krystyna Szczepańska-Kolasińska, nasza magistrantka, mgr Helena Pokojka, mgr Maria Wolińska, mgr Krystyna Desowska, mgr Nowikowska i mgr Tadeusz Trzeciński, technicy — Danuta Radziejewska, Jadwiga Smolińska, Wiesława Kaczorowska, Bożenna Broda, Magda Mikołajczyk. Współpracował z nami wybitny nasionoznawca doc. dr hab. Władysław Kulpa z zakładu Kolekcji Roślin IHAR.

Przez cały czas działał i prowadził prace naukowo-badawcze Zakład Biologii i Przechowalnictwa Nasion we Wrocławiu pod kierunkiem doc. dr hab. Anny Wiłkojć. Prace fitopatologiczne prowadziła dr Małgorzata Narkiewicz-Jodko.

W 1974 roku odbył się w Warszawie kongres Międzynarodowego Związku Oceny Nasion — ISTA, którego jednym z organizatorów był nasz Instytut. To było wielkie wydarzenie dla nas i całej „seed family”. Otworzył dla nas nowe horyzonty w pracach naukowych i kontaktach międzynarodowych.

W Zakładzie Metodyki Oceny i Kwalifikacji Materiału Siewnego, bazując na dotychczas prowadzonych pracach badawczych zaczęto otwierać przewody doktorskie. Odbyły się obrony dysertacji:

- 1975 rok dr Krystyna Grzelak — promotor prof. dr hab. Stanisław Starzycki, dyrektor IHAR i Kierownik Katedry Hodowli Roślin i Nasiennictwa w SGGW,
- 1975 rok dr Julian Belotti — promotor prof. dr hab. Jerzy Szyrmer,
- 1976 rok dr Grzegorz Rytko — promotor profesor dr hab. Jerzy Szyrmer.

W Zakładzie było zatem czterech pracowników naukowych z tytułem doktora, a nasz zakład śpiewał rymy ułożone przez Anię Gruszkę i Danusie Radziejewską: „A w Zakładzie są cztery doktory — Krzysio, Krysia, Julian i Gregory”. Wstępna zwrotka brzmiała: „na portierni rozlega się dzwonek, już do pracy biegnie cały ZMON-ek”. Było jeszcze więcej okolicznościowych zwrotek, ale nikt ich nie zapisał, a tylko niewiele w zostało w naszej pamięci. Według kontrolującej nas Inspekcji Sanitarno-Epidemiologicznej, czyli Sanepidu, śniadania mogły być spożywane tylko w miejscu wydzielonym, nigdy przy stołach laboratoryjnych. Kierownik Zakładu — pani mgr Stanisława Świrską bardzo przestrzegała tej zasady, dlatego śniadania miały miejsce w pomieszczeniach do tego przeznaczonych, najpierw w „czternastce”, a potem w „dwudziestce”, w podziemiach. Wspólne śniadania zacieśniały nasze więzy koleżeńskie, a także poprawiały atmosferę w pracy.

Do Zakładu dołączyła na wniosek pani mgr Stanisławy Świrskiej, mgr Maria Tulo z Zakładu Fizjologii IHAR, która potem obroniła u nas pracę doktorską, promotorem był prof. Jerzy Szyrmer. Wcześniej pracę doktorską obroniła dr Krystyna Kolasińska także pod kierunkiem profesora dr hab. Jerzego Szyrmera. Dr Krzysztof Niemyski rozpoczął pracę nad tłumaczeniem i wprowadzaniem Międzynarodowych Przepisów Oceny Nasion — ISTA, pierwsze polskie wydanie Przepisów ISTA ukazało się w 1966 roku. Potem włączyli się inni pracownicy, tłumaczono i opracowano następne edycje.

Wyjeżdżaliśmy na zagraniczne staże naukowe i konferencje międzynarodowe. W 1985 roku zorganizowaliśmy międzynarodowe seminarium patologii nasion pod egidą ISTA. Nasz zakład uczestniczył w opracowywaniu norm nasiennych wydawanych przez Polski Komitet Normalizacji. W tamtych latach w IHAR, w naszym Zakładzie Metodyki prowadziłam Pracownię Zdrowotności Nasion. Prowadziłam także Sekcję Chorób Nasion Polskiego Towarzystwa Fitopatologicznego. Byłam również członkiem Komitetu zdrowotności nasion ISTA.



Uczestnicy międzynarodowego seminarium ISTA zorganizowanego przez dr Krystynę Grzelak w 1985 roku w IHAR w Radzikowie

W 1980 roku na emeryturę odeszła pani mgr Stanisława Świrska. Kierownictwo Zakładu objął dr Grzegorz Rytko. Prace badawcze odbywały się w nowej formie. Instytut nasz został koordynatorem ogólnopolskiego problemu badania nasion. Kierownikiem tego Problemu nr 4 został dr Grzegorz Rytko. To było wspaniałe doświadczenie, które umożliwiało spotkanie ludzi z różnych ośrodków naukowych, interesujących się nasionami.

Kierownikiem Zakładu zostałam w 1986 roku, po odejściu z pracy dr Grzegorza Rytko. Zostałam także kierownikiem ogólnokrajowego Problemu nr 4 z zakresu nasiennictwa. Do pracy do naszego zespołu dołączyła mgr Elżbieta Małuszyńska, która zrobiła doktorat w IHAR, a obroniła dysertację w Akademii Rolniczej w Lublinie oraz mgr Jerzy Drzewiecki z Zakładu Genetyki IHAR, który doktoryzował się w Leningradzie. Do pracy przyszła mgr Joanna Jabłonowska, a z Ministerstwa Rolnictwa dołączył do nas mgr Zbigniew Traczyk. Pracował także mgr Marek Czuba, wspomagając działalność standaryzacyjną Zakładu. Kierownictwo Laboratorium Technologicznego w Sandomierzu objął dr Krzysztof Klimont, po odejściu na emeryturę dr Juliana Belottiego.



Pracownicy Zakładu Metodyki Oceny i Produkcji Materiału Siewnego z kierownikiem dr Krystyną Grzelak z okazji 25-lecia istnienia zakładu

Do Zakładu Metodyki włączono organizacyjnie Samodzielną Pracownię Ekonomiki Produkcji Nasiennej, kiedyś kierowaną przez dr Annę Bydlińską, później przez profesora Jerzego Krzymuskiego, a obecnie przez dr Tadeusza Oleksiaka. Do tej pracowni dołączył prof. dr Zbigniew Laudański, który współpracował z nami uprzednio w problemie nasiennym. W 1992 roku zakład otrzymał nową nazwę w związku z rozszerzeniem zakresu prac badawczych — **Zakład Metodyki Oceny i Produkcji Materiału Siewnego**.

Zlikwidowany został natomiast w 1990 roku, po 40 latach istnienia Zakład Biologii i Przechowywania Nasion we Wrocławiu, który uprzednio zmienił swoją siedzibę.

Kierował nim ostatnio dr Wiesław Strzelecki. Profesor dr hab. Małgorzata Narkiewicz-Jodko, fitopatolog, przeszła do pracy na Akademię Rolniczą we Wrocławiu.

W 2005 roku zlikwidowano Laboratorium Technologiczne w Sandomierzu, a dr Krzysztof Klimont został pracownikiem KCRZG w IHAR w Radzikowie.

Do roku 1992 byłam kierownikiem Zakładu Metodyki Oceny i Produkcji Materiału Siewnego IHAR w Radzikowie i również kierownikiem Problemu nr 4, który nazwałam „Nasiennictwo i Nasionoznawstwo”. Tytuł ten stanowi obecnie nazwę Zakładu. Pracę w Instytucie Hodowli i Aklimatyzacji Roślin zakończyłam w 1995 roku, przechodząc na emeryturę. Kierownictwo Zakładu po mnie objął profesor dr hab. Jerzy Szyrmer. W tym czasie w pracowni Zdrowotności Nasion rozpoczęła pracę magister obecnie dr Barbara Wiewióra.

Obecnie zakładem kieruje doktor Lech Boros. W maju 2007 roku przeszła na emeryturę dr Krystyna Kolasińska i nadal zajmowała się prowadzeniem Laboratorium Akredytowanego i tłumaczeniem Przepisów Międzynarodowych ISTA.

Zakład Nasiennictwa i Nasionoznawstwa prowadzi nadal szkolenia i prace normalizacyjne oraz wdrożeniowe dotyczące międzynarodowych przepisów oceny nasion. W zakładzie kontynuowane są prace nad badaniem czynników chorobotwórczych przenoszonych przez nasiona zbóż, traw i roślin strączkowych oraz prace dotyczące tożsamości odmianowej za pomocą elektroforezy białek. Ponadto prowadzone są analizy odnośnie krajowego rynku nasiennego i oceny efektywności hodowli, a także różnorodne programy i projekty badawcze.

SPIS TREŚCI — CONTENTS

Roman Prażak	Cechy morfologiczne i płodność mieszańców niektórych gatunków rodzaju <i>Aegilops</i> sp. z pszenicą heksaploidalną <i>Triticum aestivum</i> L. Morphological traits and fertility of hybrids of some <i>Aegilops</i> species with hexaploid wheat <i>Triticum aestivum</i> L.	3
Damian Gołębiewski Kinga Myszk Janusz Burek Dariusz R. Mańkowski Danuta Boros	Badania zmienności genetycznej i wpływu środowiska na cechy determinujące wartość browarną ziarna rodów jęczmienia jarego włączonych do badań przedrejestracyjnych w 2011 roku Study of genetic variation and environmental impact on traits that determine malting quality of spring barley lines included in preliminary trials in 2011	19
Elżbieta Małuszyńska Anna Szydłowska Danuta Martyniak Szymon Dziamba Joanna Dziamba	Wpływ preparatów zawierających efektywne mikroorganizmy na zdolność kiełkowania nasion z upraw ekologicznych The influence of formulations containing effective microorganisms on germination capacity of organic seeds	33
Tomasz Góral Piotr Ochodźki Zofia Bulińska-Radomska	Odporność na fuzariozę kłosów powodowaną przez <i>Fusarium culmorum</i> i zawartość mikotoksyn fuzaryjnych w ziarnie gatunków zbóż jarych przeznaczonych do upraw ekologicznych Resistance to <i>Fusarium</i> head blight caused by <i>Fusarium culmorum</i> and <i>Fusarium</i> mycotoxins content in grain of spring cereal species intended for organic farming	43
Włodzimierz Majtkowski Gabriela Majtkowska	Fitosanitarna rola szaty roślinnej na zrehabilitowanej hałdzie popiołów w Sowłanach k. Białegostoku Phytosanitary functions of plants used for the reclamation of the heap of ashes in Sowłany near Białystok	55
Milena Pietraszko Dominika Boguszewska-Mańkowska	Wpływ nawadniania w uprawie ziemniaka na porażenie bulw potomnych przez <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>sepedonicus</i> Influence of irrigation on bacterial ring rot infection in potato progeny tubers	65
Zbigniew Laudański Dariusz R. Mańkowski Małgorzata Flaszka	Eksploracyjna analiza czynnikowa w badaniach struktury zespołu zmiennych obserwowanych Exploratory factor analysis in studying the structure of multivariate observations	75
Dariusz R. Mańkowski Zbigniew Laudański Małgorzata Flaszka	Propozycja metody oceny postępu biologicznego i technologicznego w uprawie roślin na przykładzie pszenicy ozimej Proposal of a method for assessment of biological and technological progress in crops cultivation on the example of winter wheat	91
Marcin Studnicki Wiesław Mądry Jan Schmidt	Wielowymiarowa analiza zmienności genotypowej cech rolniczych w kolekcji zasobów genowych kupkówki pospolitej (<i>Dactylis glomerata</i> L.) Multivariate analysis of genotypic diversity of agronomic traits in orchardgrass (<i>Dactylis glomerata</i> L.) germplasm collection	105

Spis treści — Content

Marcin Studnicki Wiesław Mądry	Metodyka statystyczna pobierania próby do tworzenia kolekcji podstawowej roślinnych zasobów genowych: przegląd dorobku Sampling methodology to establish a core collection of plant genetic resources: an overview of research	129
Jakub Paderewski Wiesław Mądry	Zastosowania modelu AMMI do analizy reakcji odmian na środowiska Use of AMMI model in the analysis of cultivar responses to environments	161
Wiesław Mądry Jakub Paderewski Jan Rozbicki Dariusz Gozdowski Jan Golba Mariusz Piechociński Marcin Studnicki Adriana Derejko Krystyna Grzelak	Plonowanie odmian pszenicy ozimej w różnych środowiskach — jednoroczna seria PDOiR Yielding of winter wheat cultivars across environments — one-year multi-environment post-registration trial	189
	Wspomnienia — nasiennictwo i nasionoznawstwo w Instytucie Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — PIB w Radzikowie	205