

## WYNIKI

z realizacji zadania na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej w 2023 roku

### **Genetyczne podłoże efektu heterozji oraz przywracania męskiej płodności u mieszańców żyta z cytoplazmą Pampa**

#### **Temat badawczy 1**

#### **Mapowanie genów odpowiedzialnych za wybrane cechy użytkowe.**

Cel tematu badawczego: Reprodukacja 90 linii introgresyjnych, wytworzenie mieszańców z męskosterylnymi testerami i wstępna ocena zmienności fenotypowej mieszańców F1

#### Wyniki

Na przeważającej liczbie poletek (każde z 90 poletek składało się z 3 rzędów, na których wysiane były na brzegach dwie linie męskosterylne i w środku jeden zapylacz) uzyskano nasiona mieszańców. W kombinacjach mieszańcowych z udziałem linii S82P/05 w pięciu przypadkach nie otrzymano żadnych nasion mieszańcowych, a gdy linią mateczną był genotyp NS1P, tylko dwie próby krzyżowań zakończyły się całkowitym niepowodzeniem. Liczebności uzyskanych nasion były bardzo zróżnicowane. Dla sześciu kombinacji (trzech z linią S82P/05 i tylu samo dla NS1P) otrzymano nie więcej niż 10 ziaren. W krzyżowaniach linii S82P/09 z dziewięćdziesięcioma liniami introgresyjnymi w 41 przypadkach uzyskano powyżej 100 nasion (w 11 kombinacjach uzyskano powyżej 250 ziaren). Największa liczba nasion (451) została uzyskana w krzyżowaniu S82P/05 z linią InA002b. Kontrola męskosterylności linii S82P/09 potwierdziła, że linia ta nie wytwarza pyłku. Wszystkie rośliny w czasie wzrokowej obserwacji pylenia zostały ocenione na 2-3 w skali Geigera-Morgensterna. W kilku przypadkach odnotowano zawiązanie pojedynczych ziaren w izolowanym kłosie, ale były to wartości marginalne (1-3 ziaren w kłosie) nie podważające w istotny sposób mieszańcowego charakteru większości nasion otrzymanych w trakcie wykonanych prac badawczych.

Nasiona mieszańcowe z udziałem linii NS1P jako formy matecznej z liniami tworzącymi zestaw form introgresyjnych otrzymano dla prawie wszystkich kombinacji. Liczebności uzyskanych ziaren mieszańców z udziałem linii NS1P były mocno zróżnicowane – od 1 do 608. Dla 73 kombinacji liczba uzyskanych nasion była większa niż 100 (dla 55 większa niż 250). Linia NS1P była w roku 2023 reprezentowana wyłącznie przez męskosterylne rośliny – ocena wzrokowa w skali Geigera-Morgensterna mieściła się w granicach 2-3, a zawiązanie ziaren pod izolatorem zaobserwowano tylko na jednym poletku, gdzie w dwóch zaizolowanych kontrolnie kłosach pojawiło się pojedyncze ziarno.

Uzyskane liczebności ziaren (w bieżącym roku i w roku 2022) pozwoliły na założenie mikropoletkowego doświadczenia w 3 powtórzeniach z udziałem 132 mieszańców (wynik krzyżowań 2 hodowlanych linii metecznych z 66 liniami introgresyjnymi) – doświadczenie wysiano w ZUT w Szczecinie w październiku 2023.

W doświadczeniu wazonowym wykonano oznaczenia sześciu cech o znaczeniu praktycznym: określono początek kwitnienia roślin (wynik przedstawiono jako liczba dni od 1 czerwca), wysokość roślin, długość kłosa, liczbę kłosków w kłosie, zbitość kłosa oraz liczbę ziaren zawiązanych w izolowanych kłosach (cecha związana z męską płodnością roślin, co dokładniej opisano w sprawozdaniu z tematu badawczego nr 2).

Termin początku kwitnienia był cechą charakteryzującą się największą zmiennością - współczynnik zmienności oszacowano na prawie 15%. Pierwsze mieszańce zakwitły 4 czerwca, ostatnie dopiero 9 czerwca, ale większość 6 lub 7. W przypadku pozostałych cech (z wyłączeniem liczby ziaren w kłosie) współczynniki zmienności wynosiły około 5%, chociaż zakresy zmienności (różnice między skrajnymi wartościami) bywały dość znaczące. Na przykład wysokość roślin mieszańca o najkrótszej słomie (PHR NS1P x InA\_080) wynosiła tylko 111cm, a najwyższy mieszańiec (S82P/05 x InB\_037) miał aż 152cm. Średnia długość kłosów u badanych mieszańców mieściła się w granicach od 8,76cm do 11,38cm (ponad 1,5cm różnicy między skrajnymi genotypami). Liczba kłosków w kłosie oraz zbitość kłosa charakteryzowały się podobnym zakresem zmienności – od około 34 do ponad 44.

W wyniku analizy DArTseq otrzymano 102602 markery SilicoDArT pozwalające na ocenę zmienności genetycznej w obrębie zestawu linii introgressyjnych oraz testerów użytych do założenia powyżej opisanego doświadczenia polowego. Obie linie męskosterylne użyte w czasie krzyżowań jako testery oraz jedna z linii rodzicielskich populacji form introgressyjnych były reprezentowane (każda z nich) przez trzy oddzielne rośliny. Wyniki analiz wskazują na wysoki poziom homogeniczności tych linii. W przypadku najbardziej zaawansowanej w chowie wsobnym linii 541N (poziom wsobności powyżej S30) poziom podobieństwa genetycznego oszacowano w granicach od 99,7 do 99,9%. Nieznaczne różnice, znacznie poniżej 1%, prawdopodobnie wynikają z niedoskonałości samej metody, która generuje bardzo dużą liczbę markerów. Wyniki analiz dla roślin reprezentujących dwie linie hodowlane: S82P/05 (z HR Danko) oraz NS1P (z Poznańskiej Hodowli Roślin) w nieznacznym stopniu odbiegają od tych dla linii 541N. Pojedyncze rośliny linii S82P/05 charakteryzowały się współczynnikami podobieństwa w zakresie od 0,993 do 0,997, a rośliny z linii NS1P – od 0,994 do 0,995. Biorąc pod uwagę możliwe błędy techniczne metody genotypowania per se, można przyjąć, że użyte do badań linie wykazują bardzo wysoki poziom wyrównania genetycznego.

Analiza zróżnicowania genetycznego pełnego zestawu linii introgressyjnych oraz linii wsobnych uczestniczących w doświadczeniu pozwoliła na oszacowanie zakresu zmienności genetycznej w badanym materiale. Podobieństwo genetyczne badanych genotypów było dość mocno zróżnicowane – najmniejszym podobieństwem charakteryzowały się linie InA026 i linia hodowlana S82P/05 (podobieństwo oszacowane na 0,645), a najbardziej podobne okazały się dwie linie introgressyjne: InA083 i InA084 (współczynnik podobieństwa równy 0,994, zbliżony do poziomu prawdopodobnego błędu wynikającego z zastosowanej metody genotypowania).

## **Temat badawczy 2**

### **Mapowanie genów przywracających męską płodność u żyta z cytoplazmą P**

Cel tematu badawczego: Ocena męskiej płodności roślin pokolenia F2 pochodzących z 4 odmian mieszańcowych żyta oraz ocena polimorfizmu genetycznego w 1 z badanych populacji F2

#### **Wyniki**

Każda z czterech badanych populacji F2 wywodziła się od jednej heterozygotycznej rośliny wybranej w obrębie odmian mieszańcowych Dolaro F1, Gulden F1, RPD1273 F1 i SMH604 F1.

W populacji F2 z odmiany Dolaro najliczniej występowały rośliny silnie pyłące. Niemal połowę ocenionych roślin stanowiły formy ocenione w skali bonitacyjnej na 9. Bardzo liczne

były też osobniki, którym przyznano w czasie obserwacji wzrokowych wartość 8. Formy częściowo płodne prawie nie były obecne w badanej populacji – 10 roślin zakwalifikowanych do trzech klas fenotypowych od 4 do 6 stanowiło niespełna 5% całej badanej populacji. Grupa 50 roślin Dolaro F2 wykazywała objawy męskiej sterility (rośliny zaliczone do klas fenotypowych od 1 do 3). Wyniki oceny wzrokowej zostały w pełni potwierdzone w czasie analizy osadzania ziaren w izolowanych kłosach.

W populacji F2 z odmiany Gulden (DC2424) przebadano tylko 63 rośliny – najmniej ze wszystkich czterech analizowanych obiektów. Niewielka liczba badanych roślin wynikała z przyjętego założenia, że ocena F2 będzie obejmowała potomstwa pojedynczych roślin, a odmiana Gulden F1 w roku 2022 bardzo słabo wiązała nasiona w warunkach wymuszonego samozapylenia. W badanej populacji F2 najliczniej reprezentowane były kategorie fenotypowe roślin sterylnych – od 1 do 3 w skali Geigera i Morgensterna. Do każdej z tych kategorii zakwalifikowano po 12 roślin, co daje w sumie 36 roślin męskosterylnych. Tym samym rośliny niepyłące stanowiły około 57% całej badanej populacji. Bardzo podobne wyniki uzyskano przy ocenie zawiązywania ziaren pod izolatorami: 31 roślin nie zawiązało żadnego ziarna w izolowanych kłosach, a kolejnych 6 roślin zawiązało pojedyncze ziarna. Kategorie roślin częściowo płodnych (4-6) oraz męskopłodnych (7-9) liczyły po kilka osobników populacji. Najmniej liczebna była kategoria najsilniej pyłących roślin – tylko 2 genotypy zostały ocenione na 9. Wyniki analizy osadzania ziaren pod izolatorami potwierdziły poprawność oceny wzrokowej – współczynnik korelacji był wysoce istotny statystycznie i osiągnął wartość 0,876. Średni poziom osadzania ziaren w całej populacji Gulden F2 był znacząco niższy niż w Dolaro F2 i wynosił 23,18%.

W populacji RPD1272 F2, która była reprezentowana przez 179 roślin obserwowano znaczący udział roślin męskosterylnych. Najliczniej reprezentowana była kategoria 2 (50 roślin), a suma roślin z klas od 1 do 3 (męskosterylnych) to 102, co stanowi około 57% całej populacji. W pozostałych kategoriach fenotypowych (od 4 do 9) obejmujących rośliny częściowo lub w pełni męskopłodne odnotowano od kilku do kilkunastu roślin, przy czym najmniej w klasie najsilniej pyłących – tylko 5 roślin otrzymało ocenę 9. Ocena zawiązywania ziaren w izolowanych kłosach potwierdziła wysoki udział roślin męskosterylnych w badanej populacji. Średni poziom zawiązywania ziaren w mieszańcu RPD1272 F2 wynosił niespełna 29% i był dość podobny do tego co odnotowano dla populacji Gulden F2. Współczynnik korelacji między wynikami obserwacji wzrokowych, a danymi o osadzaniu ziaren w kłosach był bardzo wysoki (0,903) i oczywiście był wysoce istotny statystycznie.

Odmiana SMH604 F1 w 2022 roku składała się w większości z roślin bardzo dobrze pyłących i w związku z tym bardzo dobrze zawiązujących ziarna w izolowanych kłosach. W rezultacie w bieżącym roku możliwa była ocena aż 263 osobników F2 otrzymanych z pojedynczej rośliny F1. W pokoleniu F2, podobnie jak rok wcześniej w pokoleniu F1, najliczniej reprezentowaną kategorią fenotypową były rośliny silnie pyłące: 124 rośliny oceniono w skali 9-stopniowej na wartość maksymalną, a kolejne 79 zakwalifikowano do klasy 8. W sumie ponad 200 roślin z liczącej 263 osobniki populacji to były rośliny bardzo dobrze pyłące. Rośliny częściowo męskopłodne (kategorie od 4 do 6) pojawiały się wyłącznie sporadycznie, a około 50 osobników badanej populacji to były formy męskosterylne. Wyniki oceny zawiązywania ziaren w izolowanych kłosach były wysoce zgodne z rezultatami obserwacji wzrokowych: współczynnik korelacji wynosił 0,944. Średni poziom zawiązywania ziaren dla całej populacji był najwyższy wśród czterech badanych odmian w pokoleniu F2: wynosił 66,70%.

Wyniki rozkładów fenotypowych w czterech badanych populacjach F2 posłużyły do wykonania klasycznej analizy polegającej na przetestowaniu możliwych hipotez genetycznych tłumaczących sposób dziedziczenia cechy. Przeanalizowano teoretyczne modele jedno-, dwu- i trójgenowe, a zgodność wyników hipotetycznych rozszczepeń fenotypowych z danymi otrzymanymi w doświadczeniu polowym weryfikowano przy użyciu testu Chi-kwadrat.

W populacji Dolaro F2 najlepiej dopasowanym modelem genetycznym okazał się ten najprostszy, w którym założono, że przywracanie męskiej płodności znajduje się pod kontrolą pojedynczego genu restorerowego wykazującego pełną dominację. Weryfikacja tego modelu przy zastosowaniu testu Chi-kwadrat dała wynik zgodny z prawdopodobieństwem w zakresie 0,5-0,75.

Analiza rozkładu fenotypowego w obrębie populacji Gulden F2 nie pozwalała na wytłumaczenie uzyskanych danych przy pomocy żadnego z modeli zakładających działanie 1 lub 2 genów restorerowych. Dopiero model 3-genowy, w którym założono komplementarny charakter współdziałania genów (do przywrócenia męskiej płodności niezbędna jest obecność co najmniej 1 allelu dominującego w każdym z 3 postulowanych loci) pozwolił na uzyskanie zgodności między hipotezą genetyczną, a wynikami oceny fenotypowej roślin. Poziom zgodności sugerowanego modelu teoretycznego z danymi empirycznymi jest bardzo wysoki (wartość P w przedziale 0,9-0,95).

Próby dopasowania modelu genetycznego do wyników otrzymanych w doświadczeniu z populacją RPD1273 F2 zakończyły się sformulowaniem hipotezy identycznej jak dla populacji Gulden F2 (wszystkie inne modele z udziałem 1 lub 2 genów nie wyjaśniały uzyskanych wyników). Model 3-genowy charakteryzujący się komplementarnym działaniem alleli dominujących w 3 niezależnych loci najlepiej tłumaczy otrzymane rozszczepeń fenotypowe, przy prawdopodobieństwie na poziomie 0,75-0,9.

Najwięcej trudności napotkano przy poszukiwaniu modelu genetycznego tłumaczącego rozszczepeń fenotypowe zaobserwowane w populacji SMH604 F2. Żaden z modeli teoretycznych opartych klasycznie o działanie jednej, dwóch lub trzech par genów nie wykazywał pełnej zgodności z danymi empirycznymi. Testowanie hipotez z większą liczbą genów uznano za nieuzasadnione ze względu na bardzo mały udział roślin o pośrednich fenotypach (częściowo płodnych). Wraz ze zwiększaniem liczby genów zaangażowanych w determinację cechy zazwyczaj wzrasta częstotliwość form pośrednich, a w populacji SMH604F2 tego nie odnotowano. Ostatecznie przyjęto, że najbardziej wiarygodny jest model zakładający działanie pojedynczego allelu głównego (model 1-genowy), podobnie jak w populacji Dolaro F2, ale w przypadku SMH604 F2 szacowana w teście statystycznym zgodność założeń teoretycznych z wynikami doświadczalnymi jest stosunkowo niska (prawdopodobieństwo w przedziale 0,025-0,05). Dlatego nie można wykluczyć, że poza postulowanym pojedynczym genem głównym, są w tej populacji aktywne dodatkowe geny poboczne lub modyfikatory.

Genotypowanie 94 osobników populacji SMH604 F2 przy zastosowaniu metody DArTseq zaowocowało uzyskaniem danych segregacyjnych dla 102 602 markerów z grupy „silico DArT”. Po usunięciu ze zbioru markerów, które były najmniej informatywne (zawierały dużą liczbę brakujących wyników lub charakteryzowały się małą frekwencją alleli rzadszych) do dalszych analiz wykorzystano dane segregacyjne z 32 357 loci. Test rangowy Kryuskala-Wallisa wykonany w obrębie tej grupy markerów pozwolił na wytypowanie 651 loci, które wykazywały statystycznie istotny związek (przy poziomie istotności  $P=0,05$ ) z pyleniem roślin badanej populacji. Do obliczeń wykorzystano dane z oceny wzrokowej

pylenia oraz osadzania ziaren w izolowanych kłosach. Z grupy 651 markerów statystycznie istotnie związanych z badaną cechą wyselekcjonowano te, które wykazywały najsilniejszy związek z danymi fenotypowymi otrzymanymi obiema metodami. Było takich markerów 57 – wszystkie wykazywały asocjacje ocenione jako istotne przy poziomie  $p=0,0001$ . Każdy z ujętych w tabeli markerów pozwalał na rozdzielenie populacji na grupę roślin słabo produkujących pyłek i drugą silnie pylącą. Z drugiej jednak strony, pomimo bardzo wysoce istotnego statystycznie związku pomiędzy segregacjami markerów, a badaną cechą, w żadnym przypadku nie zaobserwowano rozdzielenia grup roślin męskopłodnych od męskosterylnych w sposób perfekcyjny. W każdym z 57 analizowanych przypadków w grupie z allelem typu 0 pojawiały się pojedyncze rośliny pylące (choć wyraźnie przeważały formy męskosterylne) i analogicznie: wśród roślin z allelem typu 1 były obecne nieliczne rośliny męskoniepłodne.

Poszukiwania markerów SCAR ujawniających polimorfizm genetyczny w badanych populacjach F2 tylko w nielicznych przypadkach zakończone zostały sukcesem. Ze względu na brak dostępności linii rodzicielskich badanych mieszańców, poszukiwania polimorfizmów odbywały się na drodze próbnych analiz obejmujących 12-24 losowo wybranych osobników z każdej populacji. Większość przetestowanych w ten sposób markerów miała charakter monomorficzny we wszystkich czterech populacjach F2 (tab. 8). Do analiz wybierano markery zlokalizowane na chromosomach, na których Miedaner i in. (2000) mapowali QTLe związane z przywracaniem męskiej płodności u żyta z cytoplazmą Pampa: 1R, 3R, 4R, 5R i 6R. Najwięcej dostępnych markerów typu SCAR pochodziło z chromosomu 4R, w dalszej kolejności 1R i 6R, a tylko pojedyncze markery miały lokalizacje na 3R i 5R. Większość z testowanych markerów ujawniała monomorfizm w badanych materiałach. W przypadku ujawnienia polimorfizmu był on obecny najczęściej w jednej populacji (pozostałe trzy były monomorficzne). Jedynym wyjątkiem jest marker SCSz980L650B z chromosomu 6R, który ujawnił polimorfizm w populacjach RPD1273 i SMH604. W przypadku pozostałych testowanych markerów np. markery SCSz670L900, SCP12M58 i d390763F6R215 ujawniały polimorfizm genetyczny w populacji Dolaro F2, ale w pozostałych trzech były monomorficzne. Analogiczne przypadki zaobserwowano w odniesieniu do markerów: SCP16M58 w odmianie Gulden, SCSz478L280 w RPD1273 oraz SCSz926L550 w SMH604.

Wykorzystując doświadczenie szklarniowe z mieszcami międzyliniowymi żyta, które realizowano w ramach tematu badawczego nr 1 (opisane powyżej) dokonano oceny męskiej sterylności/płodności roślin badanych obiektów. W czasie kwitnienia oceniano wzrokowo pylenie 5 roślin każdego mieszańca, a po zbiorach określono poziom osadzania ziaren w pięciu izolowanych kłosach. Wśród 50 badanych mieszańców z udziałem linii hodowlanej S82P/05 wszystkie były męskosterylne. Pojedyncze ziarniaki znaleziono w kłosach mieszańców z udziałem linii ojcowskich InA\_080 i InB\_045. W serii mieszańców z udziałem linii NS1P wszystkie poza jednym były całkowicie męskosterylne. Wyjątek stanowił mieszańiec NS1P x InA\_002a, którego wszystkie badane rośliny były efektywne w produkcji funkcjonalnego pyłku.

### **Temat badawczy 3**

#### **Analiza porównawcza transkryptomów roślin zróżnicowanych pod względem męskiej płodności**

Cel tematu badawczego: Rozmnożenie linii do analiz ekspresji genów.

Wyniki

Pylenie linii 541N, jak również linii blisko-izogenicznych z serii NIL541P i NIL541C było w 2023 roku względnie silne (warunki pogodowe sprzyjały efektywnej produkcji pyłku). Poziom wyrównania badanych linii był wysoki, a drobne różnice w wynikach oceny poszczególnych roślin na poletku nie przekraczały 1 stopnia w używanej skali bonitacyjnej Geigera-Morgensterna. Obie badane linie męskosterylne (541C i 541P) nie produkowały płodnego pyłku i również były w pełni wyrównane.

Całkowity RNA do analiz RNA-seq wyizolowano z pięciu roślin każdego z siedmiu obiektów (próby oznaczone numerami: 1147, 1148, 1149, 1150, 1151, 1152 oraz 1153). Uzyskane preparaty RNA cechowały się prawidłowym obrazem rozdziału elektroforetycznego w żelu agarozowym. Ich stężenia (określone na podstawie analizy spektrofotometrycznej aparatem Nanodrop 2000c) wahały się w zakresie 2,8 – 4,0 µg/µl. Z kolei stosunek A260/A280 zawierał się w przedziale 2,07 – 2,1. Po dostarczeniu próbek do usługodawcy ich stężenie określono ponownie – tym razem przy użyciu analizatora Agilent 5400. W tym pomiarze wartości stężeń wahały się od 1,8 do 8,6 µg/µl. Elektroforeza kapilarna w aparacie Agilent 5400 pozwoliła także określić wartości RIN przesłanych próbek – zawierały się one w przedziale od 7,6 do 9,4. Na bazie tych wartości usługodawca zakwalifikował wszystkie próby do konstrukcji bibliotek sekwencyjnych.

Od usługodawcy (Novogene) otrzymano ogółem 511,5 Gb surowych danych sekwencyjnych. Wartości uzyskane dla pojedynczych roślin zawierały się w zakresie od 11,8 do 19,2 Gb, co wskazuje, iż usługodawca zapewnił deklarowaną skalę sekwencjonowania wynoszącą 12 Gb dla pojedynczej próby (rośliny). Surowe odczyty zostały poddane filtracji. Dla pojedynczej rośliny w danym kierunku (forward lub reverse) w zależności od analizowanego obiektu wygenerowano średnio od 37,6 do 54,6 mln przefiltrowanych odczytów. Odpowiadało to zakresowi 5,6 – 8,2 mld zsekwencjonowanych nukleotydów, co jest zgodne z założoną długością niesparowanych (pojedynczych) odczytów wynoszącą 150 nt (użyty wariant sekwencjonowania to PE150). Zarówno parametr N50 jak i N95 były równe długości odczytu (150 nt) – co znaczy, że odpowiednio 50 i 95% całkowitej długości (wszystkich) odczytów znajduje się w odczytach o długości równej 150 nt (zgodnie z definicją N50 i N95 mogłyby to być też odczyty dłuższe, ale w tym eksperymencie takich nie generowano (sekwencjonowanie typu PE150). W odczytach uzyskanych dla poszczególnych obiektów procent nukleotydów G i C był wyrównany i zawierał się w przedziale 52,6 – 54,7. Udział nukleotydów ze współczynnikami jakości Q20 i Q30 wyniósł odpowiednio 97,1 – 97,2 % oraz 92,5 – 92,8 %. Inny współczynnik jakości – Phred – zawierał się w przedziale od 35 do 70 ze średnią 68,7.

### **Prezentacja wyników badań na konferencjach:**

7th Conference on Cereal Biotechnology and Breeding/18th EWAC, 6–10 November 2023, Wernigerode

# Genetic homogeneity and heterozygosity of three new Polish hybrid varieties of rye

Stefan Stojałowski<sup>1</sup>, Anna Bienias<sup>1</sup>, Martyna Sobczyk<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Plant Genetics, Breeding and Biotechnology, West Pomeranian University of Technology Szczecin, Poland  
<sup>2</sup>Institute of Technology and Life Sciences - National Research Institute, Division in Szczecin, Poland  
E-mail: [sstojalowski@zut.edu.pl](mailto:sstojalowski@zut.edu.pl)

## Introduction

Rye (*Secale cereale* L.) is a small-grain cereal cultivated mainly in North-eastern part of Europe. Due to its open-pollinated character the effect of heterosis is crucial for yield potential. Hybrid cultivars outperform the traditional population forms and are in recent years the choice of many farmers. Predominance of hybrid cultivars compared to population ones is determined by their genetic structure. Both types of cultivars are in some way populations consisted of genetically different individuals, but hybrids are considered as more uniform and more abundant of heterozygotes.

## Material and methods

We applied the DArTseq markers for assessment of genetic structure of three newly developed hybrid cultivars from Polish breeding companies: DC2424 (last year registered as Guiden), RPD1273 and SMH604. For comparison we included into experiment two registered cultivars: Horyzo (population) and Dolaro (hybrid). Genotyping was performed on 93-94 individuals of each variety. Genetic similarity indexes and the dendrograms illustrating relationships between individual plants of each variety were calculated using NTSys 2.2 software.

## Results

As it was expected the most variable was population cultivar Horyzo (average similarity index 0.74). Three new Polish varieties revealed average similarity between 0.81 and 0.84 (Tab.1, Fig.1). Dolaro cultivar consisted of the most uniform genotypes (mean value of Similarity Index 0.86).

Table 1  
Genetic similarity of individual plants assessed within studied cultivars (data concerning 93-94 individuals of each cultivar)

Cultivar	Average	Min	Max
DC2424 (Guiden)	0.83	0.71	0.91
RPD1273	0.81	0.71	0.88
SMH604	0.84	0.74	0.91
Horyzo	0.74	0.72	0.79
Dolaro	0.86	0.75	0.92

Result of heterozygosity estimation was slightly different than expectations. The average frequency of heterozygous loci in population cultivar Horyzo was 15.06 (Tab.2). The same parameter calculated for three new and one registered hybrid cultivars was only slightly higher. Values were between 16.17 for Dolaro to 17.33 for RPD1273. These preliminary results indicate that the heterozygosity of hybrid cultivars may be not significantly higher than that present within traditional population varieties.

Table 2  
Heterozygosity of individual plants assessed within studied cultivars (data concerning 93-94 individuals of each cultivar)

Cultivar	Average	Min	Max
DC2424 (Guiden)	16.44	13.61	19.26
RPD1273	17.33	15.32	20.01
SMH604	16.95	13.88	18.56
Horyzo	15.06	13.85	16.75
Dolaro	16.17	6.92	17.64

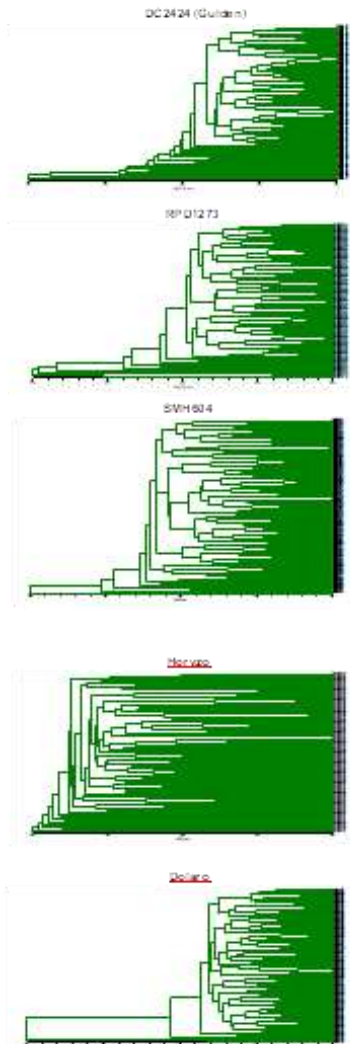


Fig.1. Dendrograms illustrating genetic similarity of individual plants within studied cultivars of rye

## Acknowledgment

This research was supported financially by Polish Ministry of Agriculture and Rural Development under the Programme of Basic Research for Biological Progress in Farm Production (task 70).