

**Tytuł zadania:**

**Analiza genetycznych uwarunkowań związanych z efektem heterozji oraz odpornością na fuzarium u kukurydzy (*Zea mays* L.).**

**Numer zadania:**

**16** (w załączniku nr 8 do rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 29 lipca 2015 w sprawie stawek dotacji przedmiotowych dla różnych podmiotów wykonujących zadania na rzecz rolnictwa Dz. U. z 2015 r. poz. 1170 oraz Dz. U. z 2016 r. poz. 1614)

**Okres realizacji zadania:**

**01 stycznia 2022 r. – 31 grudnia 2022 r.**

**Planowane nakłady w zł:**

**492 000,00**

**Zespół Badawczy:**

**Kierownik:**

Prof. UPP dr hab. Agnieszka Tomkowiak

**Wykonawcy:**

Prof. UPP dr hab. Michał Kwiatek

Prof. UPP dr hab. Jan Bocianowski

Prof. UPP dr hab. Łukasz Wolko

Prof. UPP dr hab. Janetta Niemann

Prof. UPP dr hab. Danuta Kurasiak - Popowska

dr hab. Dorota Weigt

dr inż. Sylwia Mikołajczyk

dr Sandra Rychel – Bielska

mgr Aleksandra Sobiech



**Kontakt:**

**Prof. UPP dr hab. Agnieszka Tomkowiak**

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Katedra Genetyki i Hodowli Roślin

ul. Dojazd 11, 60-632 Poznań

**Tel.** 61 848 76 80

**e-mail:** agnieszka.tomkowiak@up.poznan.pl

**Osoba do kontaktu w razie nieobecności kierownika:**

**Prof. UPP dr hab. Kurasiak - Popowska**

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Katedra Genetyki i Hodowli Roślin

ul. Dojazd 11, 60-632 Poznań

**Tel.** 61 848 76 70

**e-mail:** danuta.kurasiak-popowska@up.poznan.p



Prace zostały wykonane w ramach badań podstawowych na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej na podstawie decyzji Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi nr HOR.hn.803.5.202



## Cele zadania w 2022 roku

**Hipoteza badawcza:** Identyfikacja nowych markerów molekularnych (związanych z cechami struktury plonu i odpornością roślin na fuzarium) w oparciu o wyniki mapowania asocjacyjnego i fizycznego może wpłynąć na skrócenie cyklu hodowlanego i obniżenie kosztów hodowli

| Temat badawczy | Cel badań   | Termin rozpoczęcia – zakończenia realizacji tematu badawczego w miesiącach od rozpoczęcia realizacji zadania | Koszty realizacji tematu badawczego | Czy cel został zrealizowany (tak/nie/częściowo <sup>1</sup> ) |
|----------------|---|--|-------------------------------------|---|
| 1.             | Identyfikacja nowych markerów sprzężonych z genami warunkującymi plon ziarna dzięki wykorzystaniu sekwencjonowania nowej generacji, mapowania asocjacyjnego i fizycznego oraz optymalizacja procedur diagnostycznych, służących do identyfikacji 16 markerów molekularnych wytypowanych w 2021 roku sprzężonych z cechami struktury plonu     | 1 - 12   | 360 000, 00                         | Częściowo*  |
| 2.             | Identyfikacja nowych markerów sprzężonych z odpornością roślin na fuzarium dzięki wykorzystaniu sekwencjonowania nowej generacji, mapowania asocjacyjnego i fizycznego oraz optymalizacja procedur diagnostycznych, służących do identyfikacji 7 markerów molekularnych wytypowanych w 2021 roku sprzężonych z odpornością roślin na fuzarium | 1 - 12   | 132 000,00                          | Częściowo*  |

\* Zaplanowany cel w temacie nr 1 i nr 2 nie został w pełni zrealizowany na dzień 7.12.2022r. ponieważ w oparciu o wyniki sekwencjonowania i obserwacji polowych prowadzone są analizy statystyczne i bioinformatyczne. Opóźnienie wynika z faktu, że zbiór kukurydzy jest późny i pod koniec listopada dopiero otrzymano wyniki z doświadczeń polowych i można było przystąpić do analiz statystycznych. Całościowe wyniki wraz z dyskusją i wnioskami przedstawione zostaną w sprawozdaniu rocznym.



## Temat badawczy 1



### Materiał i Metody Materiał roślinny

W skład materiału roślinnego zaplanowanego w doświadczeniach polowych wchodzi 250 linii matecznych, 2 linie ojcowskie, 500 mieszańców  $F_1$  oraz 30 genotypów referencyjnych pochodzących z Hodowli Roślin Smolice Sp. z o. o. Grupa IHAR oraz Małopolskiej Hodowli Roślin Sp. z o.o. W 2022 roku do sekwencjonowania nowej generacji zostało przesłanych 65 linii, które nie były analizowane w 2021 roku, dwie linie, których analizy wymagały powtórzenia oraz 121 losowo wybranych mieszańców  $F_1$ . Pozostałe 378 mieszańców będzie analizowane pod kątem molekularnym w kolejnych latach. Jest to podyktowane wymogami dotyczącymi równomiernego rozłożenia środków finansowych w poszczególnych latach badań.



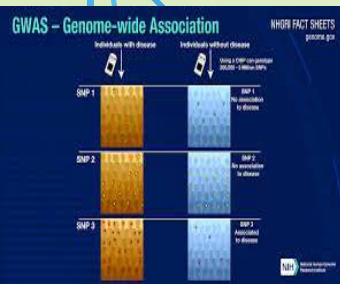
## Temat badawczy 2

### Materiał i Metody Materiał roślinny

W obu zadaniach badawczych (1 i 2) będzie analizowany ten sam materiał roślinny pod kątem różnych cech, w różnych terminach. W temacie pierwszym analizowane będą cechy struktury plonu oraz plon, natomiast w temacie 2 odporność roślin kukurydzy na fuzarium.

### Metody wspólne dla obu tematów badawczych

1. **Doświadczenie polowe** – założone w dwóch miejscowościach (Smolice, Kobierzyce) na poletkach 10m<sup>2</sup>
2. **Izolacja DNA** – wykonana przy użyciu aparatu Maxwell i kitu z firmy Promega
3. **Genotypowanie** – z wykorzystaniem techniki DArTseq. Usługa wykonana w Diversity Arrays Technology
4. **Mapowanie asocjacyjne** – z wykorzystaniem analizy GWAS
5. **Mapowanie fizyczne** – z wykorzystaniem narzędzia bioinformatycznego Basic Local Alignment Search Tool
6. **Analiza funkcjonalna sekwencji genów** – z wykorzystaniem narzędzia Blast2Go
7. **Projektowanie starterów** – z wykorzystaniem programu Primer 3 Plus



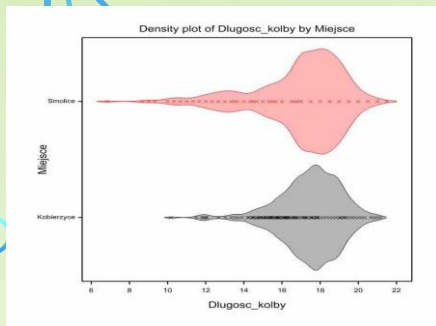
### Pozostałe metody dla tematu badawczego 2

8. **Łańcuchowa reakcja polimerazy** – identyfikacja genów odporności na fuzarium oraz genów związanych z wielkością plonu u 15 odpornych i wrażliwych oraz 15 dobrze i słabo plonujących genotypów kukurydzy została przeprowadzona z wykorzystaniem zaprojektowanych, specyficznych starterów
9. **Elektroforeza** – prowadzona była w 2% żelu agarozowym, w buforze 1x TBE, pod napięciem 120 V przez – 1,5h

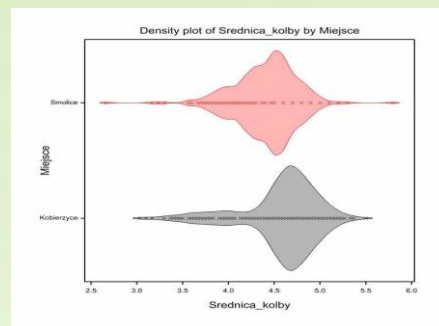


# Wyniki – temat badawczy 1 Zadanie nr 16. Analiza genetycznych uwarunkowań związanych z efektem heterozji oraz odpornością na fuzarium u kukurydzy (*Zea mays* L.).

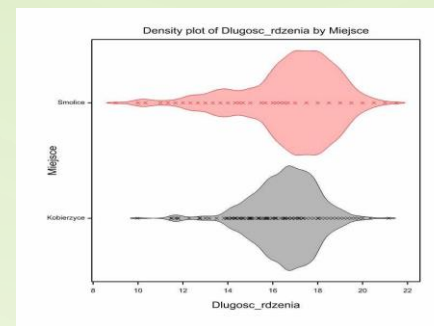
Doświadczenie polowe założone było w dwóch miejscowościach: Smolice 51° 42' 58.904" N 17° 13' 29.13" E oraz Kobierzyce 50° 58' 19.411" N 16° 55' 47.323" E, umożliwiło ono wykonanie i analizę pomiarów biometrycznych 252 linii wsobnych oraz 500 mieszańców F<sub>1</sub>. Pomiarów te zostały wykorzystane do mapowania asocjacyjnego. Po zbiorach prowadzone były obserwacje następujących cech struktury plonu: dł. kolby (Rys. 1), średnica kolby (Rys. 2), dł. rdzenia (Rys. 3), średnica rdzenia (Rys. 4), liczba rzędów (Rys. 5), liczba ziarna w rzędzie (Rys. 6), masa ziarna z kolby (Rys. 7), MTN (Rys. 8), plon z poletka (Rys. 9). W celu zbadania rozkładu wszystkich analizowanych zmiennych w obu miejscowościach wykonano wykresy gęstości (Rys.1 – Rys. 9). Piki na zamieszczonych wykresach gęstości pokazują, w jakich przedziałach skoncentrowane są wartości analizowanych cech np. długość kolby u większości analizowanych genotypów, w obu miejscowościach (Smolice, Kobierzyce) znajduje się w przedziale 17cm – 19cm (Rys. 1). Jak widać na załączonych wykresach rozkład analizowanych zmiennych różnił się pomiędzy miejscowościami dla: średnicy rdzenia (Rys. 4), Liczby rzędów (Rys. 5), liczby ziarna w rzędzie (Rys. 6), masy ziarna z kolby (Rys. 7) i plonu z poletka (Rys. 9).



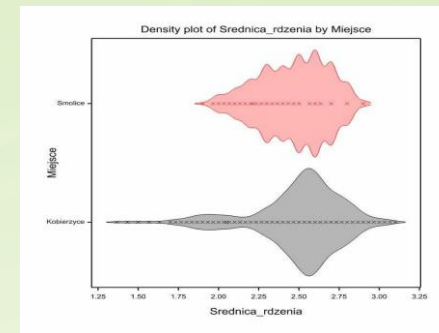
Rys. 1



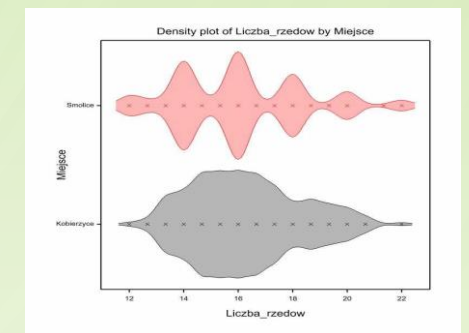
Rys. 2



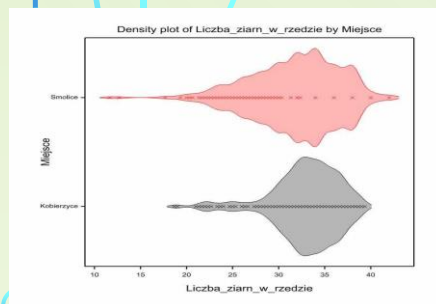
Rys. 3



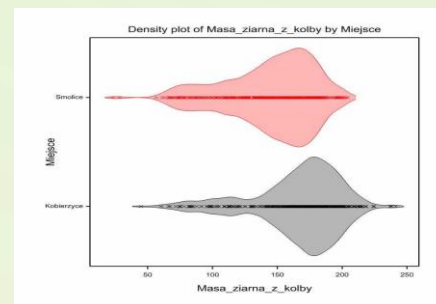
Rys. 4



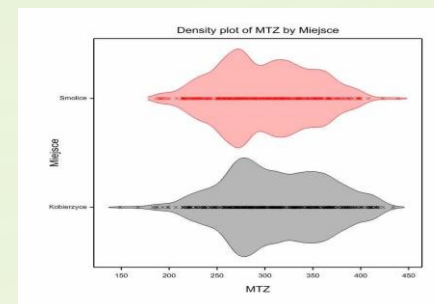
Rys. 5



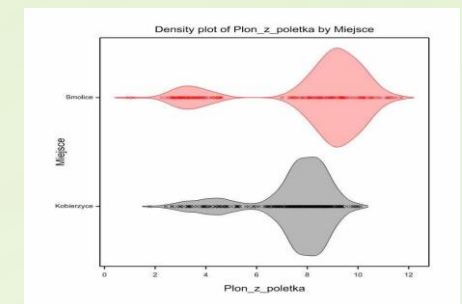
Rys. 6



Rys. 7



Rys. 8



Rys. 9

# Wyniki – temat badawczy 1 Zadanie nr 16. Analiza genetycznych uwarunkowań związanych z efektem heterozji oraz odpornością na fuzarium u kukurydzy (*Zea mays* L.).



Przeprowadzono analizę wariancji pod kątem obserwowanych cech pomiędzy genotypami. Dla wszystkich cech zaobserwowano istotne zróżnicowanie pomiędzy genotypami. Analiza wariancji wykazała również istotne statystycznie zróżnicowanie dla wszystkich obserwowanych cech pomiędzy miejscowościami, w których było założone doświadczenie polowe. Interakcja linie-miejscowości nie była istotna tylko dla liczby rzędów (Tab. 1).



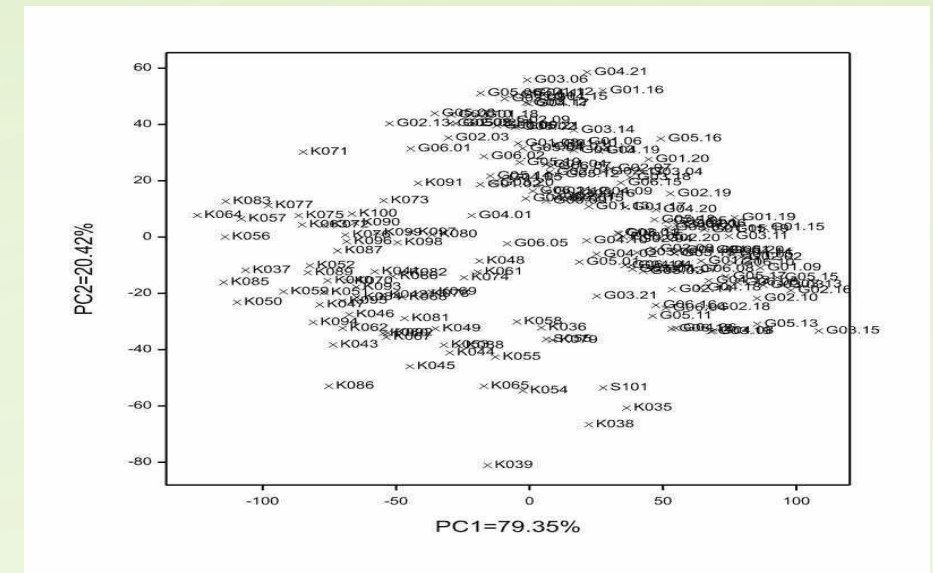
Aby określić relacje pomiędzy grupami zmiennych w zbiorze danych czyli obserwacji wielkości cech struktury plonu w obu miejscowościach zastosowano technikę wielowymiarową czyli analizę zmiennych kanonicznych. Wszystkie obserwowane cechy charakteryzowały się rozkładem normalnym. Można zauważyć pogrupowanie genotypów na linie i mieszańce (Fig. 1)



Tab. 1

| Cecha                   | Analiza wariancji |              |
|-------------------------|-------------------|--------------|
|                         | V r.              | F pr.        |
| Długość kolby           | 20.84             | < .001       |
| Średnice kolby          | 24.10             | < .001       |
| Długość rdzenia         | 21.02             | < .001       |
| Średnica rdzenia        | 22.65             | < .001       |
| Liczba rzędów           | 11.17             | <b>0.569</b> |
| Liczba ziarna w rzędzie | 16.07             | < .001       |
| Masa ziarna z kolby     | 15.78             | < .001       |
| MTN                     | 14.31             | < .001       |
| Plon z poletka          | 50.16             | < .001       |

Fig. 1



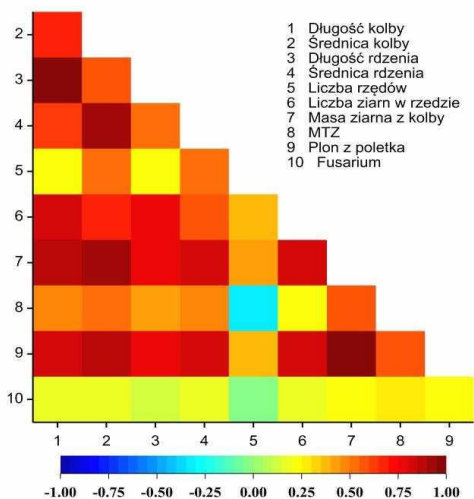
# Wyniki – temat badawczy 1 Zadanie nr 16. Analiza genetycznych uwarunkowań związanych z efektem heterozji oraz odpornością na fuzarium u kukurydzy (*Zea mays* L.).

**Tab.2** Zaprojektowane startery służące do identyfikacji potencjalnych genów związanych z plonem

| Marker | Sekwencja                   |                        | Tm[°C] | Długość produktu |
|--------|-----------------------------|------------------------|--------|------------------|
|        | Forward                     | Reverse                |        |                  |
| 17300  | CGCCTTGACCTGATCTGCAG        | AGCCTTCTCAACACACTCGG   | 56     | 329              |
| 18852  | TCCTCAAAAATCGTTTATGCAT      | CTCTCCCTCTGCAACATGAG   | 53     | 230              |
| 1818   | TTTGCAGGCTGAAACTGCAG        | TGGAGGCACGGGAGAAGTAT   | 59     | 186              |
| 16474  | GTGAGGAGAAAAAAGTGCAG        | TGCTTCTTGATAACACCGCA   | 53     | 321              |
| 14506  | TCAGATGATACGATAATTACTGCAG   | TGTCCTGCGTAGAAATCCACA  | 58     | 151              |
| 2317   | AGGAACGAAGAAACCTGCAG        | ACGAGGAATGCTACACACCA   | 58     | 216              |
| 7950   | GTAAAGGTCTGTTTCTGCAG        | CAGCTGTTTGCTGAGTGC     | 55     | 153              |
| 16703  | GTAGTGGTAGTGGCCTGCAG        | TCACTCGAAGAACCAAGCCC   | 56     | 500              |
| 17490  | GCATTTTCTATTAATTATTTACTGCAG | AAGTGGCCGGTTACCATATC   | 55     | 282              |
| 17843  | CCTCAATTATATGGTACTGCAG      | TCAGAAATTATGTCCGACGGT  | 55     | 159              |
| 18664  | GATCCTGTTAGCCTCTGCAG        | AATCAGGAGCAGAAAAGGCTCT | 58     | 385              |
| 3233   | GTACATTTCAATTCTCCTGCAG      | ACGGTGGAAATGTGCTTTTG   | 56     | 388              |
| 4205   | AGCATAGCGAGACCCTGCAG        | GGTGAATCCAGACTGTGGCA   | 60     | 255              |
| 11657  | ATAGGACAGAAGAGCTGCAG        | TTGCTTTGTTAAACGCGGCT   | 58     | 291              |
| 12812  | GTAGAGCAATTGACTGCAGA        | AGGGCCCAACTGGGTG       | 57     | 150              |

Przeprowadzono testowanie zidentyfikowanych w 2021 roku 16 markerów molekularnych sprzężonych z potencjalnymi genami związanymi z cechami struktury plonu i plonem. Jeden z markerów został odrzucony ponieważ nie udało się do niego zaprojektować starterów (Tab. 2). W tym celu wykorzystano łańcuchową reakcję polimerazy (PCR). Markery te testowano na 30 genotypach referencyjnych pochodzących z HR Smolice (genotypy z numerami 1-15) oraz HR Kobierzyce (genotypy z numerami 16-30) (Fot. 1). Poniżej przedstawiono przykładowy elektroforogram przedstawiający identyfikację markera 3233 sprzężonego z genem - polimeraza RNA II koaktywator transkrypcyjny KELP, który może być potencjalnym genem związanym z plonem. W wyniki reakcji PCR marker o wielkości 388pz sprzężony z tym genem zidentyfikowano u genotypów z numerami: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 11, 12, 14, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 i 24 (Fot. 1)

Wyk.1



W przypadku obu miejscowości (Smolice, Kobierzyce) analizowano korelacje pomiędzy obserwowanymi cechami. Wykazano, że najsilniej dodatnio skorelowane były ze sobą długość kolby i długość rdzenia (98%) oraz średnica kolby i średnica rdzenia (91%). Silnie dodatnio skorelowane były również masa ziarna z kolby i plon z poletka (93%) (Wyk.1). Ujemne korelacje zaobserwowano natomiast dla: MTZ i liczby rzędów (Wyk. 1).



**Fot. 1.** Identyfikacja markera 3233 sprzężonego z genem - polimeraza RNA II koaktywator transkrypcyjny KELP

# Wnioski i mierniki – temat badawczy 1 Zadanie nr 16. Analiza genetycznych uwarunkowań związanych z efektem heterozji oraz odpornością na fuzarium u kukurydzy (*Zea mays* L.).

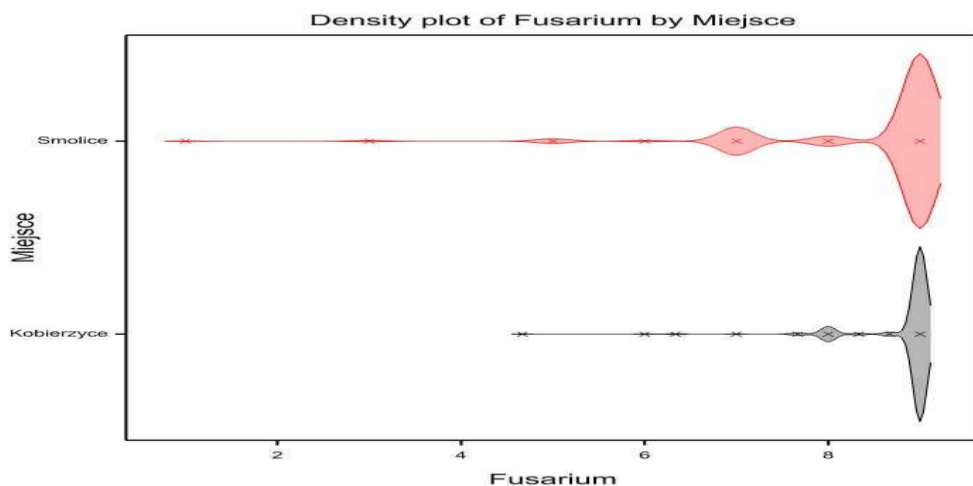
Wykresy gęstości wskazały, w jakich przedziałach skoncentrowane są wartości analizowanych cech. Rozkład analizowanych zmiennych różnił się pomiędzy miejscowościami dla następujących cech: średnica rdzenia, liczba rzędów, liczba ziarna w rzędzie, masa ziarna z kolby i plon z poletka. Analiza wariancji wykazała istotne statystycznie zróżnicowanie dla wszystkich obserwowanych cech pomiędzy miejscowościami, w których było założone doświadczenie polowe. Interakcja linie-miejscowości nie była istotna tylko dla liczby rzędów. Analiza zmiennych kanonicznych wykazała, że wszystkie obserwowane cechy charakteryzowały się rozkładem normalnym. Można zauważyć pogrupowanie genotypów na linie i mieszańce. Analiza korelacji pomiędzy obserwowanymi cechami wykazała, że najsilniej dodatnio skorelowane były ze sobą: długość kolby i długość rdzenia oraz średnica kolby i średnica rdzenia. Silnie dodatnio skorelowane były również masa ziarna z kolby i plon z poletka. Ujemne korelacje zaobserwowano natomiast dla: MTZ i liczby rzędów. W wyniku reakcji PCR marker o wielkości 388pz sprzężony z tym genem zidentyfikowano u genotypów z numerami: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 11, 12, 14, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 i 24

| Lp | Miernik  | Wartość miernika podana w opisie zadania | Wartość miernika zrealizowana |
|----|--|--|-------------------------------|
| 1. | Liczba genotypów, na których będą prowadzone obserwacje polowe dotyczące następujących cech struktury plonu: dł. kolby, średnica kolby, dł. rdzenia, średnica rdzenia, ilość rzędów, ilość ziarniaków w rzędzie, MTN. Analizowany będzie również plon.   | 752                                      | 752                           |
| 2. | Liczba analizowanych cech struktury plonu (dł. kolby, średnica kolby, dł. rdzenia, średnica rdzenia, ilość rzędów, ilość ziarniaków w rzędzie, MTN. Analizowany będzie również plon).  | 8  | 8                             |
| 4. | Liczba genotypów poddanych sekwencjonowaniu nowej generacji, z którego wyniki zostaną wykorzystane do mapowania asocjacyjnego i fizycznego (w roku 2022 do sekwencjonowania i analiz molekularnych wybrano 66 linii rodzicielskich, które nie były analizowane w 2021 roku oraz 122 mieszańce F1 spośród 500, które będą analizowane w warunkach polowych w 2022 roku. Zostało to podyktowane wymogami dotyczącymi równomiernego rozłożenia środków finansowych na poszczególne lata badań. Pozostałe 378 mieszańców analizowane będzie w kolejnych latach badań). | 188                                      | 188                           |
| 5. | Liczba wyselekcjonowanych w 2021 roku markerów związanych z cechami struktury plonu, dla których w 2022 roku będą podjęte próby opracowania warunków PCR i multiplex PCR.  | 16                                       | 16                            |
| 6. | Liczba genotypów referencyjnych, na których będą testowane nowo zidentyfikowane w 2021 roku markery SilicoDArT związane z cechami struktury plonu.   | 30                                       | 30                            |

# Wyniki – temat badawczy 2 Zadanie nr 16. Analiza genetycznych uwarunkowań związanych z efektem heterozji oraz odpornością na fuzarium u kukurydzy (*Zea mays* L.).

Doświadczenie polowe założone było w dwóch miejscowościach: Smolice 51° 42' 58.904" N 17° 13' 29.13" E oraz Kobierzyce 50° 58' 19.411" N 16° 55' 47.323" E. W doświadczeniu oceniano stopień porażenia 252 linii wsobnych oraz 500 mieszańców F<sub>1</sub> przez fuzarium. Obserwacje zostały wykorzystane do mapowania asocjacyjnego. W celu zbadania rozkładu analizowanej zmiennej w obu miejscowościach wykonano wykres gęstości (Rys.1). Jak widać na załączonym wykresie rozkład analizowanej zmiennej różnił się pomiędzy miejscowościami Smolice i Kobierzyce. W Smolicach większość roślin była porażona przez fuzarium w zakresie od 6,5 do 9 w skali 9 stopniowej (9-odporne, 1-podatne), natomiast w Kobierzycach od 8 do 9 (Rys. 1).

Rys. 1



Przeprowadzono analizę wariancji pod kątem obserwowanego stopnia porażenia roślin kukurydzy przez fuzarium. Dla cechy tej zaobserwowano istotne różnicowanie pomiędzy genotypami. Analiza wariancji wykazała również istotne statystycznie różnicowanie tej cechy pomiędzy miejscowościami, w których było założone doświadczenie polowe (Tab. 1).

Tab. 1

| Cecha                 | Analiza wariancji |        |
|-----------------------|-------------------|--------|
|                       | V r.              | F pr.  |
| Odporność na fuzarium | 3,9               | < .001 |

Fot. 1 Fuzarioza kolb kukurydzy



AgroFakt

Fot. 2 Fuzarioza kolb kukurydzy

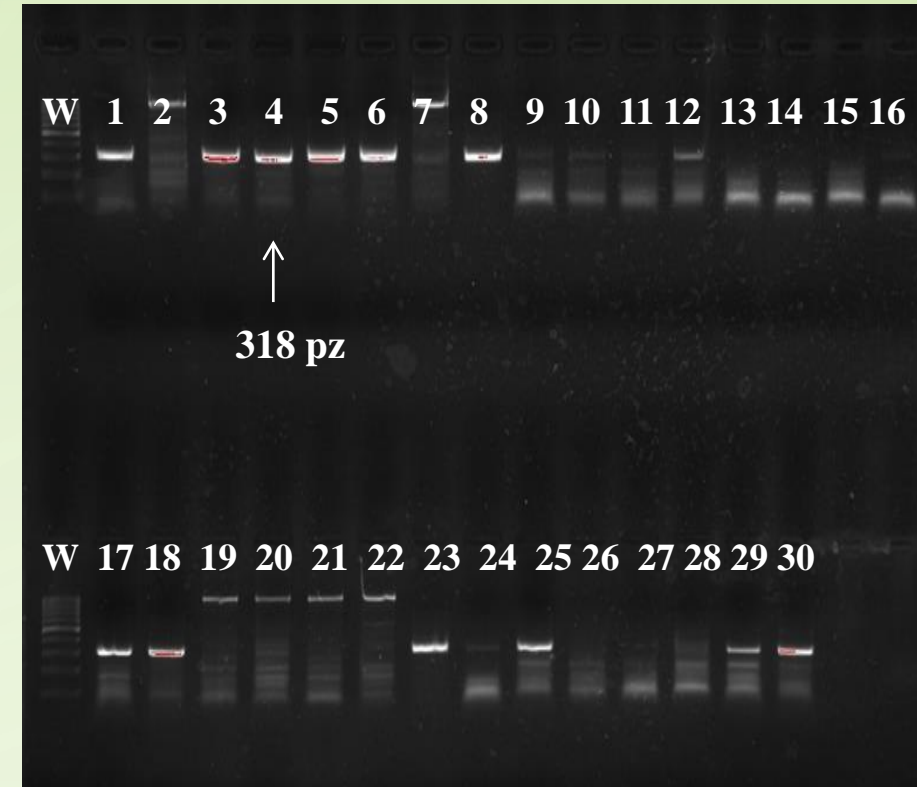


Agrodoradzca



# Wyniki – temat badawczy 2 Zadanie nr 16. Analiza genetycznych uwarunkowań związanych z efektem heterozji oraz odpornością na fuzarium u kukurydzy (*Zea mays* L.).

Przeprowadzono testowanie zidentyfikowanych w 2021 roku 7 markerów molekularnych sprzężonych z potencjalnymi genami odporności na fuzarium (Tab. 2). W tym celu wykorzystano łańcuchową reakcję polimerazy (PCR). Markery te testowano na 30 genotypach referencyjnych pochodzących z HR Smolice (genotypy z numerami 1-15) oraz HR Kobierzyce (genotypy z numerami 16-30) (Fot. 3). Poniżej przedstawiono przykładowy elektroforogram przedstawiający identyfikację markera 58153 sprzężonego z genem – histon h2a, który może być potencjalnym genem odporności na fuzarium. W wyniku reakcji PCR marker o wielkości 318pz sprzężony z tym genem zidentyfikowano u genotypów z numerami: 1, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 17, 18, 23, 24, 25, 28, 29, 30 (Fot. 3).



Tab.2 Zaprojektowane startery służące do identyfikacji potencjalnych genów związanych z odpornością roślin kukurydzy na fuzarium

| Marker | Sekwencja                   |                       | Tm[<br>°C] | Długość<br>produktu |
|--------|-----------------------------|-----------------------|------------|---------------------|
|        | Forward                     | Reverse               |            |                     |
| 553    | AGGTGAGGAAGACGCTGCAG        | TCAGCCCTGTGATGATGAGC  | 56         | 196                 |
| 10382  | GTGCGTCGTGCAGTCTGCAG        | GGACAAAGGGGATCGCAAGC  | 58         | 366                 |
| 13242  | CGTAGAGCAATTGACTGCAG        | CGAACCGGTGGTGACCTATT  | 58         | 171                 |
| 15097  | TCGGCAATACTAGGTGAAGT        | GTCTGCGTGTGGTACGTGG   | 57         | 182                 |
| 15156  | GTTTCATCAACAAAATCTGCAG      | GAAAAGACGATCTCAGCAGTG | 55         | 284                 |
| 58153  | CAATTACTTATAAACGAAAATCTGCAG | AAGCCAGGGACTACTAAGCA  | 53         | 318                 |
| 58771  | GCACAATCTCTCTGCTGCAG        | GGGCGTACCACCAGTATTCA  | 59         | 429                 |

Fot. 3. Identyfikacja markera 58153 sprzężonego z genem - histon h2a

# Wnioski i mierniki – temat badawczy 2 Zadanie nr 16. Analiza genetycznych uwarunkowań związanych z efektem heterozji oraz odpornością na fuzarium u kukurydzy (*Zea mays* L.).

Wykres gęstości wskazał, w jakim przedziałach skoncentrowane są wartości analizowanej cechy. Rozkład analizowanej zmiennej różnił się pomiędzy miejscowościami (Smolice i Kobierzyce). W Smolicach większość roślin była porażona przez fuzarium w zakresie od 6,5 do 9 w skali 9 stopniowej (9-odporne, 1-podatne), natomiast w Kobierzycach od 8 do 9. Analiza wariancji wykazała istotne zróżnicowanie w odporności roślin kukurydzy na fuzarium pomiędzy genotypami. Analiza wariancji wykazała również istotne statystycznie zróżnicowanie tej cechy pomiędzy miejscowościami, w których było założone doświadczenie polowe. W wyniku reakcji PCR marker 58153 sprzężony z genem – histon h2a, zidentyfikowany został u genotypów z numerami: 1, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 17, 18, 23, 24, 25, 28, 29, 30.



| Lp. | Miernik  | Wartość miernika podana w opisie zadania | Wartość miernika zrealizowana |
|-----|--|--|-------------------------------|
| 1.  | Liczba genotypów, na których będą prowadzone obserwacje stopnia porażenia roślin kukurydzy przez fuzarium.   | 752                                      | 752                           |
| 2.  | Liczba genotypów poddanych sekwencjonowaniu nowej generacji, z którego wyniki zostaną wykorzystane do mapowania asocjacyjnego i fizycznego (w roku 2022 do sekwencjonowania i analiz molekularnych wybrano 66 linii rodzicielskich, które nie były analizowane w 2021 roku oraz 122 mieszańce F1 spośród 500, które będą analizowane w warunkach polowych w 2022 roku. Zostało to podyktowane wymogami dotyczącymi równomiernego rozłożenia środków finansowych na poszczególne lata badań. Pozostałe 378 mieszańców analizowane będzie w kolejnych latach badań). | 188                                      | 188                           |
| 3.  | Liczba wyselekcjonowanych w 2021 roku markerów związanych z odpornością roślin kukurydzy na fuzarium, dla których w 2022 roku będą podjęte próby opracowania warunków PCR i multiplex PCR.   | 7  | 7                             |
| 6.  | Liczba genotypów referencyjnych, na których będą testowane nowo zidentyfikowane w 2021 roku markery SilicoDART i SNP związane z odpornością roślin kukurydzy na fuzarium.  | 30                                       | 30                            |