

Określenie fizjologicznych i genetycznych podstaw odporności pszenicy i jęczmienia na rozhartowywanie

Okres realizacji: 2021 -2026 (72 miesiące)

Kierownik: dr inż. Magdalena Wójcik-Jagła

magdalena.wojcik-jagla@urk.edu.pl

Wykonawcy: Prof. dr hab. Marcin Rapacz

Dr hab. inż. Barbara Jurczyk, prof. URK

Dr inż. Monika Sasal



Cele projektu w 2023 roku

1. Temat badawczy „fenotypowanie aktywnego rozhartowywania”: określenie mrozoodporności całych roślin oraz mrozoodporności na poziomie komórkowym po rozhartowaniu aktywnym pszenicy i jęczmienia. Cel zrealizowano
2. Temat badawczy „Typowanie genów kandydujących związanych z aktywnym rozhartowywaniem u pszenicy”: wybór czterech linii pszenicy tolerancyjnych oraz czterech wrażliwych na aktywne rozhartowywanie; pobór prób liści do izolacji RNA oraz pomiarów integralności membran komórkowych. Cel zrealizowano
3. Temat badawczy „Mapowanie asocjacyjne aktywnego rozhartowywania”: analiza struktury populacji mapującej. Cel zrealizowano



Materiały i metody

- Materiał roślinny: 100 zaawansowanych rodów hodowlanych i odmian pszenicy ozimej pochodzących z 5 spółek hodowlanych oraz 100 zaawansowanych rodów hodowlanych jęczmienia ozimego z 3 spółek + 2 własne wzorce. Wzrost roślin, rozhartowywanie i mrożenie przeprowadzano w warunkach kontrolowanych. Dodatkowo w zadaniu 2: 5 linii i odmian pszenicy ozimej z 5 spółek fenotypowanych w 2021 i 2022 roku
- Metody:
 - 1) Polowo-laboratoryjna ocena mrozoodporności (wg. Kocha i Lehmana, 1969)
 - 2) Fluorescencyjna ocena mrozoodporności na poziomie komórkowym
 - 3) Analiza struktury populacji – program STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard i in. 2000)



Fenotypowanie aktywnego rozhartowywania

Wyniki

Tabela 1. Współczynniki korelacji sprawdzające wiarygodność wykonanych pomiarów fluorescencyjnych.

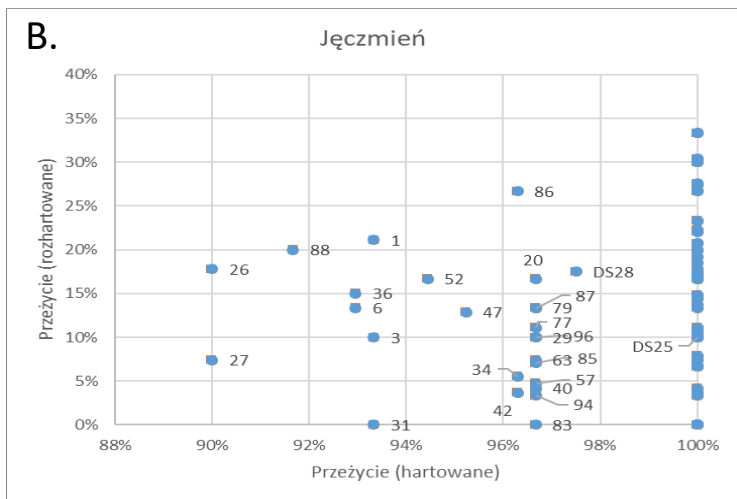
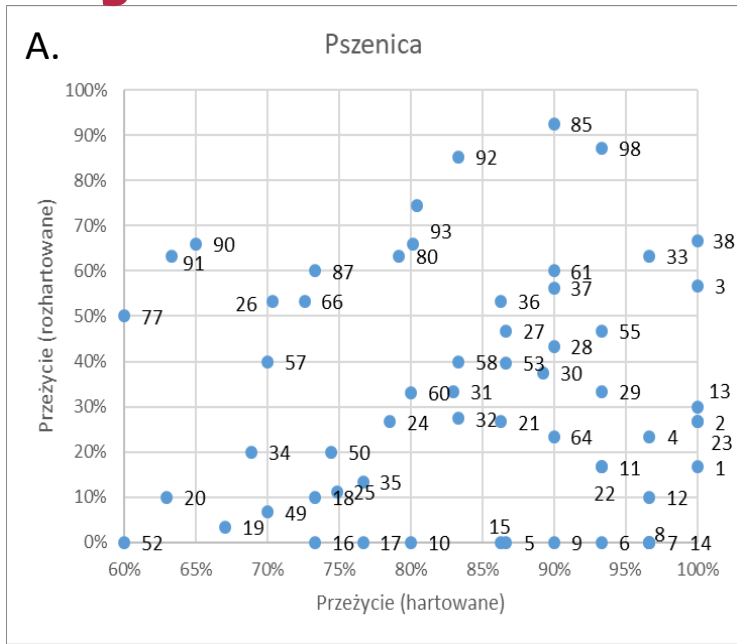
Hartowane	Pszenica		Jęczmień	
	Dlo/CS	ETo/RC	Dlo/CS	ETo/RC
TRo/CS	-0,057	0,825	-0,186	0,321
ETo/CS	-0,175	0,945	-0,276	0,612
RC/CSo	0,056	0,557	0,358	-0,167
RC/CSm	-0,472	0,856	-0,528	0,541
Rozhartowane	Dlo/CS	ETo/RC	Dlo/CS	ETo/RC
TRo/CS	-0,424	0,030	-0,386	-0,409
ETo/CS	-0,578	0,553	-0,116	0,749
RC/CSo	-0,367	-0,044	0,104	-0,806
RC/CSm	-0,821	-0,162	-0,806	0,337

Tabela 2. Spadek wartości mierzonych parametrów określających mrozoodporność roślin po rozhartowaniu.

Parametr	Pszenica			Jęczmień		
	hartowany	rozhartowany	rozhartowany vs hartowany [%]	hartowany	rozhartowany	rozhartowany vs hartowany [%]
Fv/Fm	0,746	0,644	86%	0,713	0,599	84%
Φ_{Eo}	0,376	0,335	89%	0,383	0,378	
Ψ_0	0,283	0,218	77%	0,274	0,226	82%
PI _{CSO}	257,9	139,6	54%	163,6	122,0	75%
PI _{CSm}	1212,0	445,6	37%	655,9	344,5	53%
PIABS	0,682	0,357	52%	0,509	0,308	60%
ABS/CS	376,1	409,5	109%	325,9	410,8	126%
TRo/CS	280,7	259,1	92%	231,7	243,3	105%
ETo/CS	107,0	87,2	81%	88,8	91,8	103%
Dlo/CS	95,4	150,4	158%	94,3	167,5	178%
RC/CSo	120,7	129,8	108%	92,8	120,0	129%
RC/CSm	519,4	391,8	75%	347,6	315,9	91%
ETo/RC	0,877	0,670	76%	0,957	0,770	80%
TRo/RC	2,314	2,009	87%	2,505	2,057	82%
Dlo/RC	0,825	1,270	154%	1,033	1,457	141%
PI _{total}	0,378	0,419		0,355	0,378	
REo/RC	0,315	0,345	110%	0,402	0,411	
Φ_{Ro}	0,101	0,112	110%	0,114	0,119	104%
% 10	0,985	0,238	24%	0,988	0,127	13%
% 21	0,614	0,264	43%	0,913	0,006	1%

Fenotypowanie aktywnego rozhartowywania

Wyniki



Ryc. 1. . Przeżywalność zahartowanych i rozhartowanych roślin pszenicy (A) i jęczmienia (B). W przypadku jęczmienia numery rodów podane obok ryciny odnoszą się do rodów o przeżywalności 0 po rozhartowaniu w kolejności od najgorszej przeżywalności w stanie pełnego zahartowania (od lewej do prawej na osi rzędnych).

56, 71, 97, 74, 22, 25, 84, 70, 95, 69, 24, 4, 73, 2, 53, 59, 90, 5, 65, 13, 30, 67, 82, 66, 64, 9, 23, 58, 91, 93, 55, 72, 75, 98, 7, 76, 28, 38, 100, 68, 61, 8, 14, 17, 32, 62, 80, 99, DS25, 37, 78, 44, 15, 16, 18, 89, 10, 12, 81, 19, 43, 50, 60, 11, 54, 21, 33, 35, 39, 41, 45, 46, 48, 49, 51, 92



Fenotypowanie aktywnego rozhartowywania

Podsumowanie i wnioski

- Zarówno w przypadku roślin dobrze zahartowanych, jak i rozhartowanych wyniki pomiarów fluorescencji chlorofilu wykonywane po mrożeniu odciętych liści były na ogół zgodne z wynikami oceny przeżywalności roślin
- Wyniki tegoroczne potwierdziły po raz kolejny, że dla porównywania mrozoodporności roślin w stanie pełnego zahartowania i rozhartowanych najbardziej przydatne są parametry PI_{CSm} i RC/CSm . Jednakże w przypadku zbyt silnego rozhartowania roślin, obserwowanego w tym roku w przypadku jęczmienia, bardziej wiarygodnym parametrem może okazać się F_v/F_m
- Uzyskane wyniki potwierdzają poprzednie obserwacje, że tolerancja rozhartowania jest cechą odmienną od mrozoodporności w stanie zahartowanym
- Wyniki tegoroczne potwierdziły, że zróżnicowanie tolerancji rozhartowywania w grupie najbardziej mrozoodpornych rodów obserwuje się zarówno u jęczmienia, jak u pszenicy. Wskazuje to na konieczność zastosowania podobnej strategii selekcji u obydwu gatunków, gdzie powinna być ona skierowana na eliminowanie z hodowli genotypów najsilniej reagujących na rozhartowywanie z puli rodów najsilniej mrozoodpornych w stanie pełnego rozhartowania
- Stosowana w badaniach rejestrowych ocena mrozoodporności pszenicy może w coraz większym stopniu uwzględniać mrozoodporność roślin rozhartowanych co rodzi potencjalne niebezpieczeństwo wymarzania w warunkach ostrej zimy



Wybór rodów i odmian pszenicy tolerancyjnych i wrażliwych wobec aktywnego rozhartowywania

Wyniki i podsumowanie

Tabela 3. Zestawienie rodów i odmian pszenicy ozimej zidentyfikowanych jako najbardziej tolerancyjne i najbardziej wrażliwe wobec rozhartowywania aktywnego w latach 2021-2023 wraz z uzyskanymi wynikami. W – wrażliwy, T – tolerancyjny, Rok F – rok fenotypowania, FR-T – przeżywalność [%], Fluo – wynik pomiaru fluorescencji chlorofilu (parametr najbardziej informatywny w roku badania).

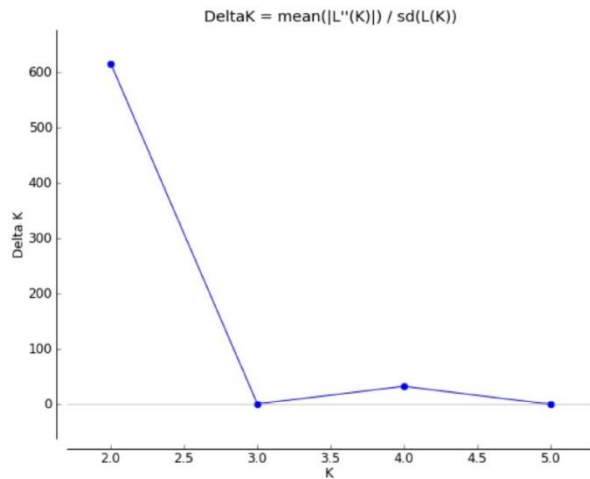
Ród / odmiana	W / T	Rok F	FR-T	Średnia FT-R w roku F	Fluo	Średnia Fluo w roku F
STH97	T	2022	73%	16%	228 (PI)	204,91 (PI)
STH 14222	T	2023	93%	27%	451 (PI)	444,57 (PI)
Plejada	T	2023	87%	27%	463 (PI)	444,57 (PI)
Wilejka	T	2023	85%	27%	192 (PI)	444,57 (PI)
DC 17 1216	W	2021	0%	28,78%	332 (RC/CSm)	604 (RC/CSm)
POB 47817	W	2021	0%	28,78%	261 (RC/CSm)	604 (RC/CSm)
PHR 2022/6	W	2022	0%	16%	55 (PI)	204,91 (PI)
SMH 334	W	2022	0%	16%	58 (PI)	204,91 (PI)

- Wyniki RNAseq oraz pomiaru integralności błon komórkowych zostaną przedstawione po ukończeniu całości analiz w sprawozdaniu za rok 2024.
- Dyskusja wyników RNAseq oraz integralności błon komórkowych wybranych rodów będzie możliwa dopiero po analizie wyników otrzymanych od zewnętrznej firmy wykonującej sekwencjonowanie oraz wyników uzyskanych z pomiarów wpływu elektrolitów z komórek liści pszenicy, która planowana jest w 2024 roku.

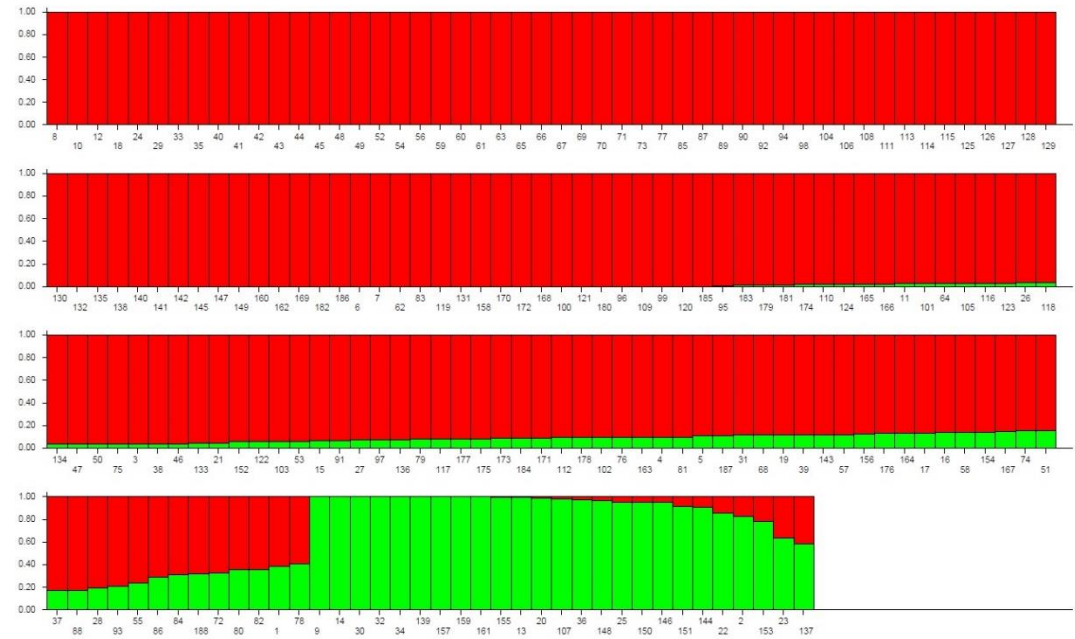


Analiza struktury populacji mapującej jęczmienia

Wyniki



Ryc. 3 Wykres przedstawiający zależność wartości tzw. Delta K (Evanno i in. 2005) od liczby testowanych subpopulacji, gdzie najwyższa wartość parametru Delta K odpowiada prawdziwej liczbie subpopulacji w badanej grupie obiektów.



Ryc. 2 Przynależność genotypowanych w 2022 roku rodów jęczmienia do dwóch subpopulacji wyszczególnionych w oparciu o dane na temat obecności markerów silicoDArT oraz SNP.



Analiza struktury populacji mapującej jęczmienia

Podsumowanie i wnioski

- Istnienie zaledwie dwóch subpopulacji przy materiałach hodowlanych pochodzących z czterech różnych spółek wskazuje na bliskie spokrewnienie wszystkich badanych rodów jęczmienia ozimego i niewielkie zróżnicowanie genetyczne.
- Nie stwierdzono związku obserwowanego podziału na subpopulacje z mrozoodpornością, czy tolerancją rozhartowywania aktywnego.
- Przynależność do subpopulacji może mieć częściowy związek z pochodzeniem badanych rodów, na co wskazuje obecność wszystkich rodów pochodzących z HR Strzelce w jednej subpopulacji oraz fakt, że w subpopulacji nr 2 znajdują się jedynie rody Danko fenotypowane w 2021 roku.



Wykaz doniesień konferencyjnych

- Rapacz M., Jurczyk B., Wójcik-Jagła M. „Winter wheat response to spring frost and their implications on future breeding goals.” - Plant Biology 2023, 9-12.07.2023, Braga, Portugalia
- Wójcik-Jagła M., Jurczyk B., Rapacz M. “Different patterns of response to spring frost in winter barley and their implications on future breeding goals.” - Plant Biology 2023, 9-12.07.2023, Braga, Portugalia

Winter wheat response to spring frost and their implications on future breeding goals

Marcin Rapacz*, Barbara Jurczyk, Magdalena Wójcik-Jagła,
University of Agriculture in Krakow, Plant Breeding, Physiology and Seed Science
*email: marcin.rapacz@urk.edu.pl

Introduction

With the increasingly noticeable warming of the global climate, it might seem that the problem of winterhardness will lose its importance. However, this is a misconception – although some of the factors impairing overwintering, such as extremely cold winter temperatures, will disappear, new ones will appear. Various models of future climate warming predict higher average temperatures during the winter, which will likely result in early start of spring vegetation. As a consequence, winter plants will be exposed to spring frosts (which, according to the models, will still occur) not only after de-acclimation but also in the generative phase of development, which can be a significant cause of yield reduction.

Plant Material and Methods

The experiments were performed in 2021 and 2022. Each year 100 winter wheat accessions from Polish breeding companies were grown in pots in the field. Half of the plants were exposed to controlled spring frost in the beginning of heading (BBCH-61, Hack et al. 1992). The freezing was applied in three consecutive cycles: the pots were transferred around 12:00 PM to a freezing chamber at -4°C. Then, at 2:00 AM, the temperature started to decrease to -5°C (2021) or -4°C (2022) at a rate of 3°C per 1h. At 7:00 AM, the temperature was raised to 5°C also at a rate of 3°C/h. After repeating the cycle three times, the plants were moved from the vegetation chamber to field conditions in the evening. For the control variant, plants were moved at the same time to a vegetation chamber with a temperature of 5°C and put to field conditions together with the plants after freezing. In the preliminary study performed on three randomly chosen accession different freezing schemes were applied at three growth stages as indicated in Fig. 1.

Freezing tolerance was assessed as the decrease in seed yield relative to control plants. After the end of vegetation, the stems and ears were counted, manually threshed and cleaned with a blower. Then, the kernels were counted and weighed. The weight of 1,000 grains (TGW), the number of grains per ear, the density of ears per m² and the grain yield in t/ha were calculated. For the selection of tolerant plants purpose two different approaches are used as shown in Fig. 3 and 4.

Results and discussion

The study indicated that plants later entering the generative stage will be less sensitive to freezing (Fig. 1). The sensitivity to freezing markedly increase in the beginning of flowering (even 70% yield loss). In some experiments an average about 20% yield loss due to spring frost was observed (Table 1). In general freezing caused irreversible damage to the spikelets, and the growth of extra stems and spikes was observed, which was however not effective for maintaining yield stability (Fig. 2, Table 1). In 2021, when the freezing temperature was lower, the decrease in grain weight was also noted. Freezing tolerance at the generative stage varies between accessions offering prospects for conducting selection of breeding materials (Fig. 3 and 4, Table 2). The different compensatory growth response was also observed between accessions.

Conclusions

- Spring frosts in generative stage can markedly decrease yielding of winter wheat (T. aestivum).
- The selection of tolerant varieties is possible.
- Selection should be based on both maintaining yield stability and avoiding compensatory regrowth.

Literature reference

Hack et al. (1992) The extended BBCH-scale, p. 1

Funding

The research was funded by the Ministry of Agriculture and Rural Development (Poland), Decisions no. KJ.20.802.12.2021 and DRR.Hn.802.13.2022.

Different patterns of response to spring frost in winter barley and their implications on future breeding goals

Magdalena Wójcik-Jagła*, Barbara Jurczyk, Marcin Rapacz
University of Agriculture in Krakow, Department of Plant Breeding, Physiology and Seed Science
*email: magdalena.wojcik-jagla@urk.edu.pl

Introduction

There are two types of cold de-acclimation, with potentially different genetic and physiological backgrounds. 1) 'Passive' de-acclimation independent of environmental conditions - the highest level of frost resistance occurs in most plants in the middle of winter and from then on frost resistance gradually decreases. This may be related to the onset of generative development or to the consumption of storage materials accumulated by plants before winter. 2) 'Active' de-acclimation - plants de-acclimate as a result of higher temperatures, such as during warm temperature episodes in winter. In this study a response to passive (spring) de-acclimation and subsequent spring frost was studied in two-years semi-controlled experiment in 200 winter barley accessions.

Plant Material and Methods

The experiment was performed in two years: 2021 and 2022. Each year 100 winter barley accessions obtained from four Polish breeding companies were grown in pots in the field. Half of the plants were exposed to controlled spring frost in the beginning of heading (phase BBCH-51, Hack et al. 1992). The freezing was applied in three consecutive cycles: the pots were transferred around 12:00 to a freezing chamber at +5°C. Then, at 2:00 a.m., the temperature started to decrease to -4°C (2021) or -5°C (2022) at a rate of 3°C per 1h. At 7:00, the temperature was raised to 5°C also at a rate of 3°C/h. After repeating the cycle three times, the plants were moved from the vegetation chamber to field conditions in the evening. For the control variant, plants were moved at the same time to a vegetation chamber with a temperature of 5°C. They were moved to field conditions at the same time as the frozen variant. Frost tolerance was assessed as the decrease in seed yield relative to control plants. After the end of vegetation, the ears were counted and manually threshed, and cleaned with a blower. Then, the kernels were counted, and then weighed. The weight of 1,000 kernels, the number of grains per ear, the density of blades and ears per m², and the grain yield in t/ha were calculated. The selection of tolerant accessions was based on two different strategies, each used in different year of the study (Fig. 3 and 4).

Results and discussion

The results confirm the serious problems that can be associated with the effects of spring frost affecting cereals at the generative growth phase. The study indicated up to 25-30% yield loss in winter barley (Table 1). Barley at frost temperatures higher than critical (causing a decrease in yield) reduces tillering and deformation of ears is observed (Fig. 1), but these disadvantages are compensated for by increasing the number of kernels per ear (at the expense of their weight). As a result, yield losses may be insignificant (year 2021, Table 1). If, on the other hand, the spikelets are damaged, the plants compensate for the damage by forming additional shoots. However, this strategy is not agriculturally advantageous, as the newly formed ears mature later than those that were present on the plant at the time of the frost (Fig. 2).

The direct implication of the observed immense role of growth compensation in barley reaction to spring frost was the change in selection strategy. The selection of tolerant accessions was based on yield in 2021 (Fig. 3), and on multidimensional principal component analysis (PCA) in 2022 (Fig. 4, Table 2). In both cases the accessions grouped in the upper right quarter of the graph are considered the most tolerant to spring frost (Fig. 3 and 4).

Conclusions

1. Spring frost can lead to significant yield loss in winter barley.
2. Spring frost tolerance at the generative stage (passive de-acclimation tolerance) is genotypically diverse in the studied species.
3. The selection of spring frost-tolerant winter barley lines should be aimed at lines showing a low yield loss after a frost event with a low level of growth compensation.

Literature references

Hack et al. (1992) The extended BBCH-scale, p. 1

Funding

The research was funded by the Ministry of Agriculture and Rural Development (Poland), Decisions no. KJ.20.802.12.2021 and DRR.Hn.802.13.2022.

