

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 2022 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 „Fenotypowanie biernego rozhartowywania”: określenie tolerancji przymrozków wiosennych u badanych rodów (tolerancja rozhartowywania biernego). Cel zrealizowano
3. Temat badawczy „Genotypowanie aktywnego rozhartowywania”: uzyskanie danych na temat obecności markerów DArTseq u wybranych linii jęczmienia ozimego. 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 4 spółek + 2 własne wzorce. Wzrost roślin, rozhartowywanie i mrożenie przeprowadzano w warunkach kontrolowanych. Dodatkowo w zadaniu 3: 96 linii jęczmienia ozimego z 4 spółek fenotypowanego w 2021 roku
- Metody:
 - 1) Polowo-laboratoryjna ocena mrozoodporności (wg. Kocha i Lehmana, 1969)
 - 2) Fluorescencyjna ocena mrozoodporności na poziomie komórkowym
 - 3) Ocena parametrów plonu
 - 4) Izolacja DNA
 - 5) Genotypowanie metodą DArTseq



Wyniki

Fenotypowanie aktywnego rozhartowywania

Tabela 1. Współczynniki korelacji sprawdzające wiarygodność wykonanych pomiarów fluorescencyjnych.

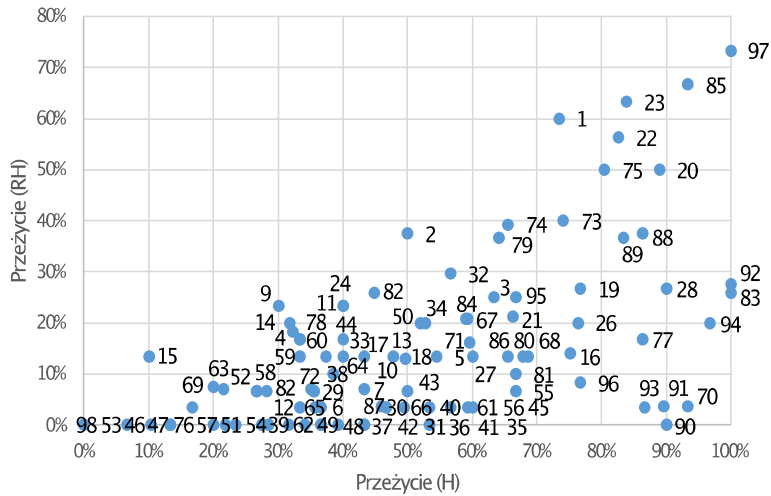
Hartowane	Pszenica		Jęczmień	
	Dlo/CS	ETo/RC	Dlo/CS	ETo/RC
TRo/CS	-0,049	0,468	-0,156	0,365
ETo/CS	-0,238	0,862	0,064	0,654
RC/CSo	-0,308	0,319	0,349	-0,125
RC/CSm	-0,808	0,351	-0,615	0,332
Rozhartowane	Dlo/CS	ETo/RC	Dlo/CS	ETo/RC
TRo/CS	-0,519	0,030	-0,508	-0,140
ETo/CS	-0,386	0,553	-0,103	0,282
RC/CSo	-0,633	-0,044	-0,002	-0,421
RC/CSm	-0,822	-0,162	-0,612	-0,281

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	0,60	0,56	94%	0,66	0,53	81%
ABS/RC	4,11	4,13		3,56	3,65	102%
Φ_{Eo}	0,31	0,32	102%	0,36	0,44	123%
Ψ_0	0,19	0,18	94%	0,24	0,23	97%
PI _{CSO}	90,31	75,09	83%	116,10	109,09	94%
PI _{CSM}	276,35	205,73	74%	374,19	242,38	65%
PIABS	0,25	0,19	79%	0,34	0,28	82%
ABS/CS	397,06	408,63	103%	344,28	393,41	114%
TRo/CS	230,76	224,28	97%	224,39	205,32	91%
ETo/CS	72,86	71,16		80,81	89,48	111%
Dlo/CS	166,29	184,35	111%	119,89	188,10	157%
RC/CSo	103,04	104,46		98,56	112,44	114%
RC/CSm	281,97	260,63	92%	300,51	245,51	82%
ETo/RC	0,69	0,68	98%	0,82	0,81	98%
TRo/RC	2,27	2,16	95%	2,30	1,90	82%
Dlo/RC	1,85	1,97		1,26	1,75	139%
PI _{total}	0,21	0,21		0,30	0,57	190%
REo/RC	0,33	0,35	107%	0,38	0,50	133%
Φ_{Ro}	0,09	0,09		0,11	0,14	129%

Wyniki

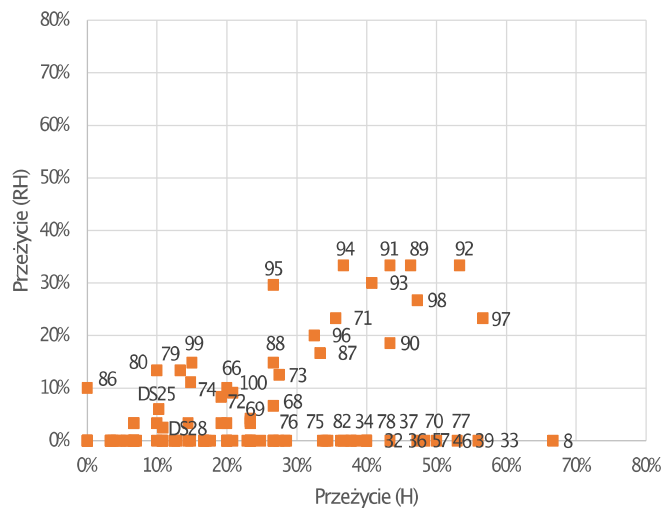
A. Pszenica



Fenotypowanie aktywnego rozhartowywania

Ryc. 1. . Przeżywalność zahartowanych i rozhartowanych roślin pszenicy (A) i jęczmienia (B). W przypadku jęczmienia numery rodów podane pod ryciną 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).

B. Jęczmień



30 31 22 23 19 20 21 18 17 84 15 13 1 81 59 58 35 27 56 54 40 4 3 16 14 2 28 9 64 62
53 50 12 11 85 67 61 26 83 25 24 63 60 41 38 55 57 48 49 52 47 65 45 29 6 10 51 44 42



Podsumowanie i wnioski

Fenotypowanie aktywnego rozhartowywania

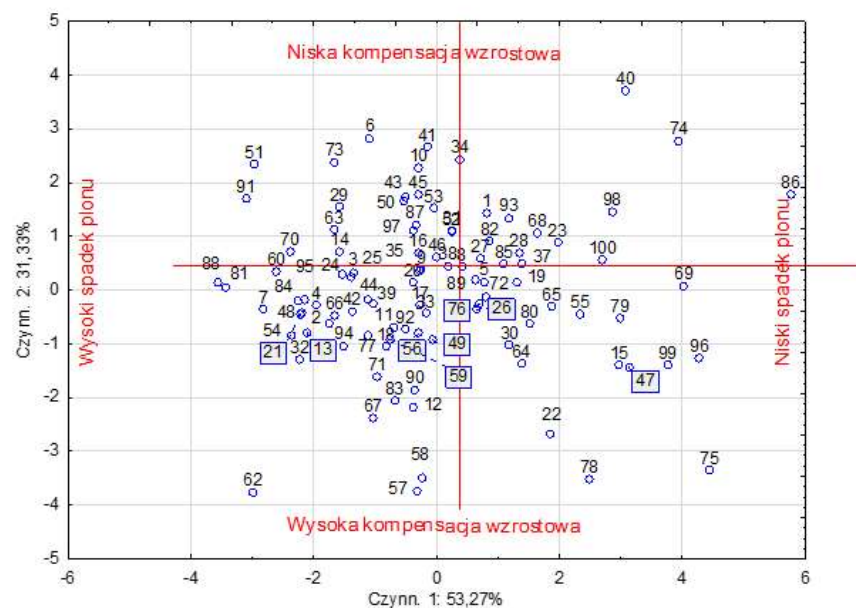
- Zarówno w przypadku roślin dobrze zahartowanych, jak i rozhartowanych wyniki pomiarów fluorescencji chlorofilu wykonywane po mrożeniu odciętych liści były zgodne z wynikami oceny przeżywalności roślin.
- Wyniki tegoroczne potwierdziły dodatkowo, że dla porównywania mrozoodporności roślin w stanie pełnego zahartowania i rozhartowanych najbardziej przydatne są parametry PI_{CSm} i RC/CSm , których zmiany (spadek) towarzyszy rozhartowaniu roślin. Potwierdza to możliwość zastosowania pomiarów fluorescencji chlorofilu do określania stopnia zahartowania roślin (względny wobec roślin w pełni zahartowanych)
- Uzyskane wyniki potwierdzają poprzednie obserwacje, że tolerancja rozhartowania jest cechą odmienną od mrozoodporności w stanie zahartowanym.
- Wyniki tegoroczne nie potwierdziły zeszłorocznej obserwacji, że zróżnicowanie tolerancji rozhartowywania w grupie najbardziej mrozoodpornych rodów jest większe u jęczmienia niż u pszenicy. Wynikała ona prawdopodobnie z zastosowania w zeszłym roku odmiennych dla gatunków warunków mrożenia. 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 w puli rodów najsilniej mrozoodpornych w stanie pełnego rozhartowania.



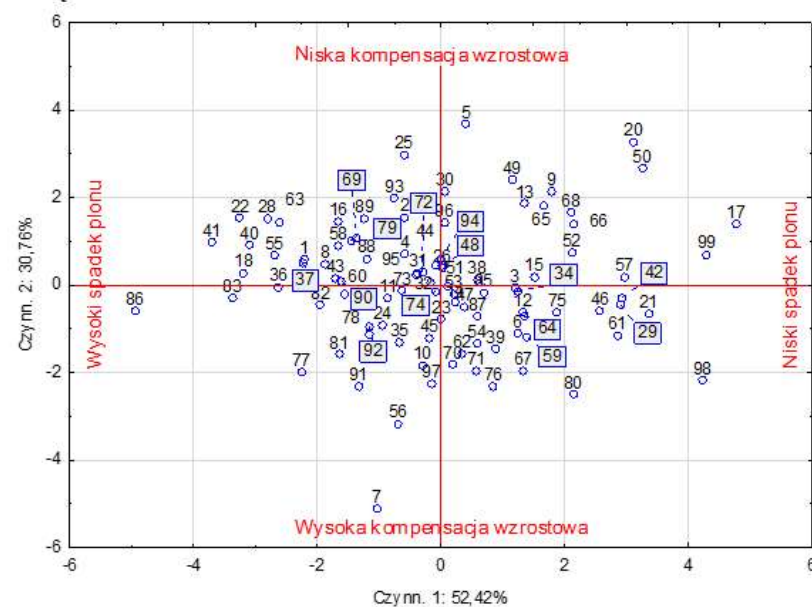
Wyniki

Fenotypowanie biernego rozhartowywania

A. Pszenica



B. Jęczmień



Ryc. 2. Wyniki analizy PCA dla zmian badanych komponentów struktury plonu będących efektem działania przymrozka (trzykrotnie -5°C przez 2 godziny w fazie kłoszenia BBCH51).

Tabela 3. Wpływ przymrozków (trzykrotnie -4°C przez 2 godziny w fazie kłoszenia BBCH51) na plonowanie pszenicy ozimej i jęczmienia ozimego. Wartości średnie dla wszystkich badanych rodów. Różnice statystycznie istotne zaznaczono gwiazdkami dla $P=0,05$ *, $P=0,01$ ** i $P=0,001$ ***.

Gatunek	obsada źdźbeł / m^2		obsada kłosów / m^2		liczba ziaren w kłosie		MTZ (g)		plon (t/ha)	
	kontrol a	przymr ozek	kontrol a	przymr ozek	kontrol a	przymr ozek	kontrol a	przymr ozek	kontrol a	przymr ozek
pszenica	1242	1723***	579	777***	17,3	11,5***	34,1	29,2**	35,2	25,9***
jęczmień	1887	2005**	843	742**	11,2	9,3*	41,6	40,7	41,0	28,5***



Podsumowanie i wnioski

Fenotypowanie biernego rozhartowywania

- Pszenica jest bardziej wrażliwa na przymrozki występujące w fazie generatywnej niż jęczmień.
- U obydwu gatunków przymrozki mogą doprowadzić do znacznej utraty plonu, chociaż u jęczmienia jest to mniej prawdopodobne ze względu na niższą temperaturę krytyczną.
- U obydwu gatunków tolerancja przymrozków w fazie generatywnej (tolerancja rozhartowywania biernego) jest genotypowo zróżnicowana.
- Tolerancja rozhartowywania biernego (tolerancja przymrozków wiosennych) ma najprawdopodobniej inne podłoże genetyczne niż tolerancja rozhartowywania aktywnego (w ciągu zimy).
- Cechy tolerancji rozhartowywania biernego i aktywnego mogą występować jednocześnie, również u genotypów mrozoodpornych po zahartowaniu.
- Selekcja linii tolerujących przymrozki wiosenne powinna być ukierunkowana na linie wykazujące niski spadek plonu po zadziałaniu przymrozka przy jednoczesnym niskim poziomie kompensacji wzrostowej, czyli takie u których tolerancja nie wynika ze stymulacji wytwarzania nowych pędów i kłosów po zadziałaniu przymrozka ale z odporności kwiatów.



Wyniki i podsumowanie

Genotypowanie aktywnego rozhartowywania

- Wykorzystane w toku projektu zestawy do izolacji i oczyszczania genomowego DNA z jęczmienia pozwoliły na wyizolowanie DNA w wystarczającej ilości oraz o odpowiedniej czystości.
- Wyniki z analizy DArTseq otrzymano w formie surowych danych w połowie listopada 2022 roku (Ryc. 3).
- Dyskusja wyników z genotypowania oraz wyciągnięcie wniosków będą możliwe dopiero po analizie wyników otrzymanych od firmy Diversity Arrays i połączeniu ich z wynikami fenotypowania z dwóch lat (2021 i 2022) w trakcie mapowania asocjacyjnego, które jest planowane na rok 2023 i 2024.

	C	D	E	F	G	H	J	K	L	M	N	O
	TrimmedSequence	CallRate	OneRatio	PIC	AvgReadDepth	StDevReadDepth	Reproducibility	1_2021	2_2021	3_2021	4_2021	5_2021
1	TGCAGTGATGAAGCCAAAGGCCCTCTCTCCTTGATGCCTCCTTTTGTGTACTCTTATCCG	0.946809	0.5	0.5	41.85496	15.07595	1	1	1	1	1	1
1	TGCAGATCATCCTTCTCTCTCTAGGCAATGGCTTTTCGTGTTCTGTCTGACCG	0.957447	0.5	0.5	25.77778	14.9404	1	1	0	0	0	1
0	TGCAGCCTCATCTCAGCTGTCTAATTTATTCTGCCATGGTCTCGAGATCGACCG	0.93617	0.5	0.5	46.93525	14.28598	1	0	0	1	0	0
1	TGCAGGCAGGTTCTTCACTTCGATTCGTGCTGCTGATCGACGCCCTTCATGTAGACGTCCTCG	0.946809	0.5	0.5	24.32877	8.00009	1	0	1	1	1	1
2	TGCAGTGTGTTGATGTGGGTCATAAACTGCTCCCGCTCCCGCCG	0.925532	0.5	0.5	30.71533	18.31196	1	1	0	1	1	1
3	TGCAGCCGCTGGATGGCCTGCTGGAAGGTGAGCGCGCCCGCTTTTCGCGG	0.914894	0.5	0.5	14.18182	6.28107	1	1	0	0	0	0
4	TGCAGTATACAGCTATTTCTCCTTGATAAGCTCCGCCACACCAAAAAATTTCCG	0.925532	0.5	0.5	21.20438	12.69527	1	0	0	0	0	1
5	TGCAGTAAATTCGAGGAGACCG	0.914894	0.5	0.5	25.2029	13.58236	1	1	0	1	1	1
7	TGCAGTTATCATAAAGATTTCCATGACATATTCGGCTGATTCATACGGGATACGGGGGAGGACACAG	0.957447	0.5	0.5	19.59524	9.00457	1	1	0	1	0	0
6	TGCAGGGATCGAAACATGTCATCCTTCCGTGACATGCCGCTCCCGCTCGAGGTCGCCCGCTTTGCTT	0.904255	0.5	0.5	37.40146	17.18447	1	0	1	1	0	0
8	TGCAGGCCTCCCTCGCGCAATCTCTCCGTCTCTCCCGCTCGCGG	0.914894	0.5	0.5	18.42969	7.81093	1	1	1	0	1	1
9	TGCAGCAGCACATAGTTAGAGCGAGTGCCATGATAGCAGGTGCCGTTCTCTGACGTTTGACCTC	0.914894	0.5	0.5	14.90984	6.41081	1	0	0	1	0	0
0	TGCAGTGAGACAGAGAGGGGGGGGGCGGCTCCCTCCCTCCCTCCACCTCGGCCAAGGGAGACGACCTATT	0.914894	0.5	0.5	7.27206	3.28425	1	0	0	0	0	1
1	TGCAGTTGACTCCGACGTGGTTCGCTGTGTGCACGCCGTCATGACGCCGTCGGAGGAGAGCTCAGATCC	0.946809	0.5	0.5	36.02963	11.25393	1	0	0	0	0	0
2	TGCAGCGACGAAGGAGCCGAGTTCGCTCCACGCCGTGGCTCCCG	0.904255	0.5	0.5	10.29078	5.34158	1	0	1	0	1	1
3	TGCAGCTTTTGTCTTTTCTCTCTCTCGCTTTTTCACGAGGGAGGGGAGGGGCGATGGAGGGGTCGC	0.946809	0.5	0.5	23.368	7.99353	1	1	0	1	0	0
4	TGCAGCTGGTTCAAAGAACAAGCTAGGACCG	0.925532	0.5	0.5	29.9542	11.58959	1	0	0	1	1	1
4	TGCAGGATGCTGATGATCCG	0.925532	0.5	0.5	10.41135	6.47088	1	0	0	0	0	1

Ryc. 3. Fragment arkusza danych otrzymanych po analizie DArT; „0” oznacza brak testowanego markera u danego osobnika, „1” oznacza jego obecność.

