

Tytuł zadania nr 40: **Identyfikacja rejonów w genomie grochu, warunkujących wybrane parametry sprawności fizjologicznej, jako istotnego elementu odporności na stresy abiotyczne.**

Cele zadania w 2017 roku:

1. Ocena efektywności wykorzystania azotu i fosforu w wyjaśnianiu genetycznego determinowania cech nasion i plonu.
2. Ocena zależności pomiędzy zawartością lignin w łodygach grochu, a wyleganiem.
3. Uzupełnianie map genetycznych populacji mapujących o nowe markery, w celu dokładniejszej identyfikacji loci wybranych cech. Określenie rejonów w genomie odpowiedzialnych za gospodarkę azotową grochu.

Materiał badawczy stanowił zestaw wybranych linii RIL i formy rodzicielskie dwóch populacji mapujących [Wt10245×Wt11238] i [Carneval×MP1401] (Tar'an i in. 2003). Rośliny z populacji [Carneval×MP1401] badano w doświadczeniu wazonowym, do pełnej dojrzałości (szklarnia, optymalny i niski poziom zawartości azotu w podłożu), natomiast rośliny z populacji [Wt10245×Wt11238] w doświadczeniu polowym (Wiatrowo - 2 lokalizacje; Przebędowo - 1 lokalizacja).

Obserwowano: wagę (sucha masa) części wegetatywnych i nasion. Analizowano zawartość azotu (%; metodą spalania Dumasa; analizator VarioMax) w wysuszonych (65°C, 72h) i zmielonych częściach roślin oraz fosforu przy pomocy analizy przepływowej (CFA). Określono poziom tolerancji stresu na niedobór azotu i komponenty efektywności wykorzystania azotu oraz fosforu: %Nveg, %Pveg (słoma) i %Nzia, %Pzia (nasiona), NHI - azotowy indeks plonu (% całkowitej ilości N translokowanego do nasion), PHI – fosforowy indeks plonu, NAC - ilość pobranego azotu, NERveg, NERgen - fizjologiczny współczynnik efektywności wykorzystania azotu w formowaniu masy wegetatywnej (veg) i nasion (gen), PERveg, PERgen - fizjologiczny współczynnik efektywności wykorzystania fosforu w formowaniu masy wegetatywnej (veg) i nasion (gen). Wykonano pomiary aktywności nitrogenazy, jako wskaźnika aktywności bakterii *Rhizobium* w warunkach optymalnego zaopatrzenia w azot i jego niedoboru, w warunkach szklarniowych i polowych.

Wyniki w warunkach kontrolowanych sugerują, że odmiana Carneval lepiej zareagowała na stres niedoboru azotu (plon zmalał o 6%, podczas gdy w linii MP1401 o 14%) Aktywność nitrogenazy u tej odmiany wzrastała o 90% w warunkach stresowych (NA 11.7 nMC₂H₄/roślinę/godzinę, warunki optymalne, 116,8 nMC₂H₄/roślinę/godzinę, warunki stresowe). W linii MP1401 aktywność nitrogenazy wzrastała w warunkach stresowych o 12%. Odmiana Carneval wykazywała w warunkach stresowych wyższą efektywność wykorzystania azotu. Wyniki 2014 sugerowały, że odmiana Carneval gorzej zareagowała na

stres niedoboru azotu, bo efektywność wiązania N_2 i aktywność nitrogenazy u tej odmiany była mocno zredukowana (Nfix 54%, NA 70 nMC₂H₄/roślinę/godzinę). W tym roku odmiana wykazywała wyższą niż MP1401 efektywność wiązania N_2 . W warunkach polowych zaobserwowane zależności dotyczyły drugiej populacji mapującej (Wt10245 20% obniżenie plonu w Wiatrowie słabym, przy NA silnym spadku aktywności nitrogenazy, Wt11238 44% obniżenie plonu, przy obniżeniu aktywności nitrogenazy). W warunkach polowych widoczny jest wzrost aktywności nitrogenazy w porównaniu z warunkami szklarniowymi (441 wobec 140 nMC₂H₄/roślinę/godzinę w warunkach optymalnych; 202 wobec 126 nMC₂H₄/roślinę/godzinę w warunkach stresowych). Być może różnice te wynikają ze specyficznych reakcji linii na naturalne szczepy *Rhizobium* występujące w polu - w odróżnieniu od wazonowych obiektów, które przede wszystkim „zaprawiano” Nitraginą (wg producenta to typowa dla Polski populacja szczepów bakterii). Linia rodzicielska Wt10245 wykazała większą wartość współczynnika tolerancji w porównaniu do linii Wt11238 dla obydwu polowych lokalizacji stresowych w odniesieniu do lokalizacji optymalnej. Doświadczenie szklarniowe pozwoliło na wyznaczenie współczynnika tolerancji na niedobór azotu (warunki kontrolowane). Linia Carneval wykazała wyższą tolerancję na niedobór azotu niż linia MP1401. Natomiast współczynniki tolerancji wyznaczone z doświadczeń polowych wskazywały na tolerancję nie tylko na niedobór azotu, ale również na deficyt boru (mikroskładnika ważnego dla uprawy grochu), nadmiar Fe. Przebudowo uznano za lokalizację stresową ze względu na niedobór zawartości azotu, siarki, Mg oraz nadmiar Fe i niskie pH.

Stwierdzono istotne korelacje pomiędzy plonem z rośliny, a % całkowitej ilości fosforu translokowanego do nasion PHI (0.62) i efektywnością wykorzystania fosforu w formowaniu masy nasion (0.63). Zaobserwowano również silną korelację pomiędzy fizjologiczną efektywnością wykorzystania fosforu i azotu.

Stresowe warunki polowe redukowały plon w populacji [Wt10245×Wt11238] o ok. 73% w Przebudowie i o 36% w Wiatrowie na stanowisku słabym. Mała również indeks plonu o 21% (warunki stresowe, Wiatrowo). W warunkach kontrolowanych zaobserwowano istotną, pozytywną korelację ($p < 0.05$) pomiędzy plonem z rośliny, a azotowym indeksem plonowania i efektywnością wykorzystania azotu w formowaniu masy nasion. W warunkach niedoboru azotu korelacje pomiędzy plonem, a parametrami gospodarki azotowej malały. W warunkach polowych stwierdzono istotne korelacje ($p < 0.01$) pomiędzy plonem z rośliny, a efektywnością wykorzystania azotu w kształtowaniu nasion (NER_{gen}) (Wiatrowo optym. 0.80, Wiatrowo niskie 0.86, Przebudowo stresowe 0.07). Istotna była również negatywna korelacja pomiędzy plonem z rośliny, a efektywnością wykorzystania azotu w formowaniu masy wegetatywnej (NER_{veg}) (Wiatrowo optym. -0.80, Wiatrowo niskie -0.73, Przebudowo stresowe -0.46). Parametry gospodarki azotowej u grochu znacząco wpływają na wysokość

plonu. Im bardziej stresogenne środowisko, tym wyższy udział parametrów fizjologicznych w kształtowaniu plonu.

Wykonane doświadczenia to prace wstępne, zmierzające do uzupełnienia mapy i nałożenia QTL gospodarki azotowej grochu. Obecnie mapa obejmuje 236 markerów, jej długość to 980 cM, średnia odległość pomiędzy markerami pozostała na poziomie 6,2 cM.

Przeanalizowano dane pochodzące z doświadczenia z 2016 z optymalnych warunków polowych, w populacji mapującej [Wt10245×Wt11238] oraz z 4 lat z warunków kontrolowanych, z optymalnych warunków, w populacji mapującej [Carneval×MP1401]. W pierwszym przypadku wykryto 41 QTL. Najbardziej zbliżonym w lokalizacji w obu populacjach mapujących wydaje się być locus % zawartości azotu w masie vegetatywnej %Nveg, w VIIA grupie sprzężeń, w pobliżu markera *Pgd-p*, w pop. [Carneval×MP1401]. W populacji [Wt10245×Wt11238] rejon ten warunkował azotowy indeks plonu oraz efektywność wykorzystania azotu w nasionach. W drugiej populacji wykryto 7 loci. Powtarzalnym locus był locus warunkujący parametry gospodarki azotowej w B grupie sprzężeń.

W populacji mapującej grochu badano zależność pomiędzy zawartością lignin w łodygach grochu, a wyleganiem.

Linia Carneval była linią mniej wylegającą niż MP1401 w III terminie. Średnia zawartość lignin była niższa od notowanej w zeszłym roku o 1.2% (różne populacje mapujące). Analiza korelacji pomiędzy %-ową zawartością lignin w łodydze, a wyleganiem i wysokością roślin wykazała istotne ujemne korelacje ($p < 0,01$) pomiędzy zawartością lignin w łodydze, a wyleganiem w I i II terminie oraz dodatnią z wysokością roślin. Łączy się to z wcześniejszymi wynikami uzyskanymi w ramach Postępu Biologicznego. Stwierdzono wówczas ujemną korelację wylegania w 1 i 2 terminie z wysokością rośliny. Osiągnięto cel, którym było określenie, czy istnieje zależność pomiędzy zawartością lignin w łodygach grochu, a wyleganiem (korelacja ujemna w populacji Carneval×MP1401).

Prezentacja wyników na konferencji: ICNF 2017: 20th International Congress on Nitrogen

Fixation, Granada, Hiszpania, 3 – 7.09.2017 1 osoba, wyniki sprawozdania 2016, str. 37-41.

Gawłowska M., Górny A., Ratajczak D., Niewiadomska A., Święcicki W., Beczek K., Durska A., Knopkiewicz M. Quantitative trait locus for nitrogen utilization efficiency in the recombinant *afila* lines of a mapping population of field pea (*Pisum sativum* L.)

Proceedings 20thICNF-Granada 2017, PAS8-P07, 277.

The breeding progress in field pea was a consequence of correcting the harvest index. Further provisions would come from resistance to abiotic and biotic stresses. Our preliminary research revealed the existence of a genetic variation in the effectiveness of the use of soil resources. We consider that an identification of genome regions associated with the N efficiency in the field pea could help to establish their relationships with the photosynthetic efficiency, lodging and yield performance. In the glasshouse and field experiments, variance of relevant traits was examined in Carneval×MP1401 population during their whole growth season under varied nitrogen nutrition. The indices of N efficiency were determined. The Windows QTL Cartographer 2.0 (2007) software was used for composite interval mapping (CIM).

Yields decreased by 15% under nitrogen deficiency in the glasshouse conditions, and by 75% in the stressful field conditions. The correlations between the plant performance and the efficiency of nitrogen utilization in the development of seed weight (NUtE) were positive in field experiments ($r=0.95$ Wiatrowo optimal conditions, $r=0.50$ Wiatrowo reduced nitrogen supply, $r=0.65$ Przebędowo stress conditions). The more stressful environments, the higher share of the physiological parameters in the performance of the crop.

Three QTL conditioned seed yield, 3 QTL amount for nitrogen uptake (NAC), 1 QTL was associated with the seed yield per unit of accumulated N (Gw/Ng) and 1 QTL with the nitrogen efficiency of in the formation of vegetative mass (NUtEveg) in 2014. One QTL conditioned % N seed content and 1 QTL was responsible for yield per unit of N taken up (Gw/Ng) in 2015. The SSR markers allow for QTL comparison with other authors. Bourion et al. (1) mapped 32 quantitative trait loci for root traits, 24 for nodule traits and 7 for seed N accumulation in similar map locations, highlighting the possibility of breeding new pea cultivars with increased root system size, sustained nodule number, and improved N nutrition. The QTL number in our and their experiments was similar.

(1) Bourion V. et al. (2010) *Theoretical And Applied Genetics* 121 (1): 71-86. Analysis was financed by the National Project of the Polish Ministry of Agriculture and Rural Development (HORhn-801-8/14).