

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

Cele zadania w 2016 roku:

1. Ocena efektywności wykorzystania azotu, fosforu i wody w wyjaśnianiu genetycznego determinowania cech nasion i plonu.
2. Ocena aktywności fotosyntetycznej liści grochu w warunkach optymalnych i niedoboru zaopatrzenia w azot.
3. Ocena zależności pomiędzy zawartością lignin w łodygach grochu, a wyleganiem.
4. 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); NUEveg, NUEgen, rolniczy index efektywności azotowej (NUEg) g²/g. Wykonano pomiary efektywności wykorzystania wody (WUE) w całych wazonach. Pomierzono ilość wytranspirowanej wody [mol/wazon] w sezonie wegetacyjnym i określono komponenty efektywności wykorzystania wody WUE. Oceniono aktywność fotosyntetyczną liści grochu w warunkach optymalnego zaopatrzenia w azot i skorelowano z aktywnością nitrogenazy, jako wskaźnika aktywności bakterii *Rhizobium*.

Wyniki w warunkach kontrolowanych sugerują, że odmiana Carneval gorzej zareagowała na stres niedoboru azotu, bo aktywność nitrogenazy u tej odmiany malała w warunkach stresowych (NA 415 nMC₂H₄/roślinę/godzinę, warunki optymalne, 277 nMC₂H₄/roślinę/godzinę, warunki stresowe) (plon 3,55 g/ rośliny w warunkach optymalnych; 3.62 g/ rośliny w warunkach niedoboru azotu). W linii MP1401 deficyt azotu w podłożu prawdopodobnie rekompensowała zwiększona aktywność nitrogenazy (420 nMC₂H₄/roślinę/godzinę w warunkach stresowych) oraz wyższa o 18% efektywność wiązania azotu, która warunkowała wyższe o 14% niż w linii Carneval plonowanie w zastosowanym stresie azotu (4.23 g z rośliny w warunkach optymalnych; 4.21 g/ rośliny w warunkach stresowych). W warunkach polowych zaobserwowane zależności dotyczyły drugiej populacji mapującej (Wt10245 50% obniżenie plonu w Wiatrowie słabym, przy NA 60% wzroście aktywności nitrogenazy, Wt11238 55% obniżenie plonu, przy 57% obniżeniu aktywności nitrogenazy). W warunkach polowych widoczny jest wzrost aktywności nitrogenazy w porównaniu z warunkami szklarniowymi (744 wobec 185 nMC₂H₄/roślinę/godzinę w warunkach optymalnych; 386 wobec 374 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). Obie linie rodzicielskie Carneval i MP1401 wykazały zbliżoną wartość współczynnika tolerancji w doświadczeniu szklarniowym. W doświadczeniu polowym linia rodzicielska Wt10245 była linią lepiej radzącą sobie w środowisku stresowym. Doświadczenie szklarniowe pozwoliło na wyznaczenie współczynnika tolerancji na niedobór azotu (warunki kontrolowane). Natomiast współczynniki tolerancji wyznaczone z doświadczeń polowych wskazywały na tolerancję nie tylko na niedobór azotu, ale również na nadmiar fosforu, potasu, niedobór magnezu i innych mikroelementów.

Stwierdzono istotne korelacje pomiędzy plonem z rośliny, a całkowita ilością pobranego fosforu (0.88), % całkowitej ilości fosforu translokowanego do nasion PHI (0.51), efektywnością wykorzystania fosforu w formowaniu masy nasion (0.36) i rolniczym indeksem efektywności fosforowej (0.92). Zaobserwowano również silną korelację pomiędzy fizjologiczną efektywnością wykorzystania fosforu i azotu.

Pozytywną korelację pomiędzy parametrami fotosyntetycznymi i aktywnością nitrogenazy stwierdzono dla koniczyny (0,8-0,9) i dla lucerny (0,6-0,8) (Niewiadomska 2013). Autorzy uważają, że ATP pochodzące z procesu fotosyntezy w roślinie stanowi źródło energii dla mikrosymbiontów, niezbędnej do wiązania azotu. W badaniach własnych stwierdziliśmy negatywną korelację pomiędzy parametrami intensywności fotosyntezy, a aktywnością nitrogenazy w warunkach kontrolowanych (-0.44 - -0.48), natomiast pozytywną

dla parametrów efektywności fotosyntezy i aktywnością nitrogenazy (0.23 – 0.37). Najsilniejsze korelacje (choć nieistotne statystycznie) wystąpiły pomiędzy plonem nasion, a powierzchnią liścia LA i efektywnością wymiany gazowej Pn/Ci. Były silniejsze w warunkach optymalnych niż niedoboru azotu.

Stresowe warunki polowe redukowały plon o ok. 66% w Przebędowie. Miał również indeks plonu od 21% (warunki stresowe, Wiatrowo) do 27% (warunki stresowe, Przebędowo). W doświadczeniu polowym istotne korelacje ($p < 0.01$) pomiędzy plonem z rośliny, a efektywnością wykorzystania azotu w kształtowaniu masy nasion (NERgen) były pozytywne (Wiatrowo warunki optymalne 0.66, Wiatrowo niska zawartość azotu 0.79, Przebędowo warunki stresowe 0.69). 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 2 lat doświadczenia polowego oraz z 3 lat z warunków kontrolowanych, z optymalnych warunków, w populacji mapującej [Carneval×MP1401]. Powtarzalnym locus był locus warunkujący plon nasion w VIIB grupie sprzężeń, w pobliżu markera AD56. W tym samym locus został zlokalizowany QTL, warunkujący %Nzia i NERgen.

W populacji mapującej grochu [Wt 10245×Wt 11238] badano zależność pomiędzy zawartością lignin w łodygach grochu, a wyleganiem.

Linia Wt11238 była linią mniej wylegającą niż Wt10245. Obie linie nie różniły się istotnie pod względem zawartości lignin w łodydze. Średnia zawartość lignin była wyższa od notowanej w zeszłym roku o 1%. Analiza korelacji pomiędzy %-ową zawartością lignin w łodydze, a wyleganiem i wysokością roślin wykazała istotne korelacje ($p < 0,01$) pomiędzy zawartością lignin w łodydze, a wyleganiem w I terminie oraz wysokością roślin. Łączy się to z wcześniejszymi wynikami uzyskanymi w ramach Postępu Biologicznego. Stwierdzono wówczas ujemną korelację wylegania w 1 i 2 terminie z z wysokością rośliny.

LITERATURA:

Niewiadomska A. 2013: Ocena wpływu nawozu PRP SOL i koinokulacji bakteriami na proces diazotrofii, aktywność biologiczną i właściwości fizykochemiczne gleby oraz kondycję i plon koniczyny i lucerny. Poznań: Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu; 106.

Tar'an B., Warkentin T., Somers D.J., Miranda D., Vandenberg A., Blade S., Woods S., Bing D., Xue A., Dekoeyer D., Penner G. 2003. Quantitative trait loci for lodging resistance, plant height and partial resistance to mycosphaerella blight in field pea (*Pisum sativum* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 107 (8): 1482-1491.

Prezentacja wyników na konferencji: Second International Legume Society Conference, Troia k.

Lisbony, Portugalia, 11.10 – 14.10.2016, 1 osoba, wyniki sprawozdanie 2014, str. 35-41; wyniki sprawozdanie 2015 str. 9-21, 22-25.

Gawłowska M., Górny A., Ratajczak D., Niewiadomska A., Święcicki W., Beczek K., Knopkiewicz M. (2016). Nitrogen and phosphorus utilization efficiency in the recombinant *afila* lines of a mapping population of field pea (*Pisum sativum* L.). Second International Legume Society Conference, Troia k. Lisbony, Portugalia, 11.10 – 14.10.2016. Abstract Book, 297.

In European countries productivity of field pea is considerably affected by instabilities in water and nutrient accessibility. In these conditions, yield potential depends on plant physiological capacities to an efficient utilization of environmental resources (water, nutrients). In field experiments, variance and co-variance between components of nitrogen and phosphorus efficiency was evaluated among lines of the Canadian mapping population [Carneval×MP1401] during the whole growth season under varied nitrogen nutrition. The pea yield and nitrogen utilization efficiency (NERgen) were positively correlated in optimal and stress localizations (Wiatrowo, optimal conditions $r=0.95$, stress conditions: Wiatrowo $r=0.50$, Przeb_dowo $r=0.65$). The seed yield and phosphorus utilization efficiency (PERgen) were positively correlated only in optimal condition (Wiatrowo, $r=0.58$). Soil treatment effects (E) were significant for all characters, although genotype-treatment (G-E) interactions were significant only for nitrogen content in seeds (%Ngen). Noteworthy, relationships between GY and nitrogen efficiency were stronger in nitrogen-limited conditions (optimal conditions $r=0.31$, stress conditions: Wi, $r=0.50$, P, $r=0.65$). The results indicate that the importance of components of physiological efficiency for pea yielding increases in the sub-optimal conditions. Broad variability of all physiological traits gives a high probability of QTL mapping with success.