

Mechanizmy odporności na abiotyczne i biotyczne stresy środowiskowe u form introgresywnych życicy wielokwiatowej i życicy trwałej z genami kostrzewy łąkowej lub kostrzewy trzcinowej

Zadanie nr 17 realizowane w latach 2021-2026

Wykonawcy w 2021 r.

Instytut Genetyki Roślin PAN

prof. dr hab. Arkadiusz Kosmala (kierownik, e-mail: akos@igr.poznan.pl)

dr hab. Izabela Pawłowicz

dr Dawid Perlikowski

mgr Włodzimierz Zwierzykowski

Uniwersytet Rolniczy w Krakowie

prof. dr hab. Agnieszka Płażek

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin-Państwowy Instytut Badawczy

prof. dr hab. Grzegorz Żurek

DANKO Hodowla Roślin Sp. z o.o. (oddział Szelejewo)

inż. Eugeniusz Paszkowski

Grunwald Hodowla Roślin Sp. z o.o.

mgr inż. Katarzyna Szwarc

Cele badań w 2021 r.

1. Analiza stopnia przezimowania traw; ocena wpływu wybranych komponentów zimotrwałości na stopień przezimowania traw - mrozoodporność, odporność na rozhartowywanie, zdolność do ponownego hartowania oraz odporność na patogeny zimowe; selekcja form introgresywnych o wysokim stopniu przezimowania.
2. Analiza stopnia tolerancji traw na suszę i ich regeneracji w symulowanych warunkach polowych; selekcja form introgresywnych traw o wysokim stopniu tolerancji suszy i/lub regeneracji po ustąpieniu stresu.
3. Analiza trwałości traw w warunkach naturalnej wegetacji w polu; analiza zdolności roślin do kwitnienia i zawiązywania nasion w warunkach naturalnych.
4. Ocena porażenia traw przez patogeny (ocena stopnia podatności na choroby).
5. Analiza fizjologiczno-molekularnych markerów tolerancji suszy w symulowanych warunkach deficytu wodnego (warunki kontrolowane w fitotronie/szklarni) u wybranych wyselekcjonowanych form introgresywnych.

Wszystkie cele zrealizowano.

Materiał roślinny i metody badawcze

Formy introgresywne *Lolium perenne*/*Festuca pratensis* i *Lolium multiflorum*/*Festuca arundinacea*

- Ocena zimotrwałości form introgresywnych *L. perenne*/*F. pratensis* została dokonana na podstawie potencjału odrostu roślin po zimie (uwzględniono ocenę przezimowania i ocenę energii odrostu wiosennego). Wizualnie oceniono podatność badanych form introgresywnych na porażenie *Microdochium nivale* - 1 lokalizacja (*temat badawczy nr 1*).
- Ocena stopnia tolerancji suszy i/lub regeneracji po ustąpieniu stresu form introgresywnych *L. perenne*/*F. pratensis* prowadzona była w eksperymencie „pod daszkami”. Oceniano plon suchej i zielonej masy w warunkach suszy oraz odrost po powtórny nawodnieniu - 1 lokalizacja (*temat badawczy nr 2*).
- Ocena trwałości form *L. perenne*/*F. pratensis* i form *L. multiflorum*/*F. arundinacea* w warunkach naturalnej wegetacji w polu prowadzona była na podstawie bonitacji oszacowanej w dwóch terminach (bonitacja wiosenno-letnia i jesienno-zimowa w skali 0-9; 9 - ocena najwyższa) - 2 lokalizacje (*temat badawczy nr 3*).
- Analiza markerów fizjologiczno-molekularnych u form *L. perenne*/*F. pratensis* różniących się poziomem tolerancji suszy i/lub regeneracji po ustąpieniu stresu: zawartość wody, relatywna zawartość wody, wymiana gazowa, wyciek elektrolitów, fluorescencja chlorofilu, poziom akumulacji transkryptu (RT-qPCR) oraz poziom akumulacji białka (Western blot) chloroplastowej aldolazy (*temat badawczy nr 4*).
- Wizualna ocena porażenia form *L. perenne*/*F. pratensis* i form *L. multiflorum*/*F. arundinacea* przez patogeny. Stopień porażenia określono w sześciostopniowej skali: 0-5 gdzie: 0 – rośliny zdrowe; 1 – ślad infekcji; 2 – nieliczne plamy lub objawy; 3 – połowa liści z widocznymi objawami; 4 – $\frac{3}{4}$ liści porażonych; 5 – cała roślina porażona - 2 lokalizacje (*temat badawczy nr 5*).
- Ocenę zdolności roślin do kwitnienia i zawiązywania nasion prowadzono w oparciu o analizę: (i) zdolności roślin do kłoszenia, (ii) terminu kłoszenia oraz (iii) zdolności pylników do pęknięcia. Oceniona została także (iv) zdolność roślin do zawiązywania nasion w trakcie wolnego przepylecia w warunkach polowych. Dla każdej rośliny określono wagę osadzonych nasion [g] - 2 lokalizacje (*temat badawczy nr 6*).



Porażenie traw przez *Microdochium nivale* (pleśń śniegowa) w **GRUNWALD Hodowla Roślin (Bartążek)**.

Analiza stopnia przezimowania traw; ocena wpływu wybranych komponentów zimotrwałości na stopień przezimowania traw - mrozoodporność, odporność na rozhartowywanie, zdolność do ponownego hartowania oraz odporność na patogeny zimowe; selekcja form introgresywnych o wysokim stopniu przezimowania.

Materiałem badawczym były diploidalne i tetraploidalne formy introgresywne *L. perenne*/*F. pratensis* – 50 genotypów uprawianych w warunkach polowych GRUNWALD Hodowla Roślin w Bartążku (woj. warmińsko-mazurskie).

Zaobserwowano stosunkowo wysoki stopień przezimowania i energii odrostu u wszystkich analizowanych form introgresywnych, chociaż występowały różnice pomiędzy poszczególnymi formami w zakresie wartości od 4 do 8 (w skali 0-9; 9 - ocena najwyższa), zarówno w ocenie przezimowania, jak i w ocenie energii odrostu. Różnice te umożliwiły selekcję 20 roślin o stosunkowo wysokim poziomie zimotrwałości (Tabela 1).

Tabela 1. Formy introgresywne o wysokim poziomie zimotrwałości.

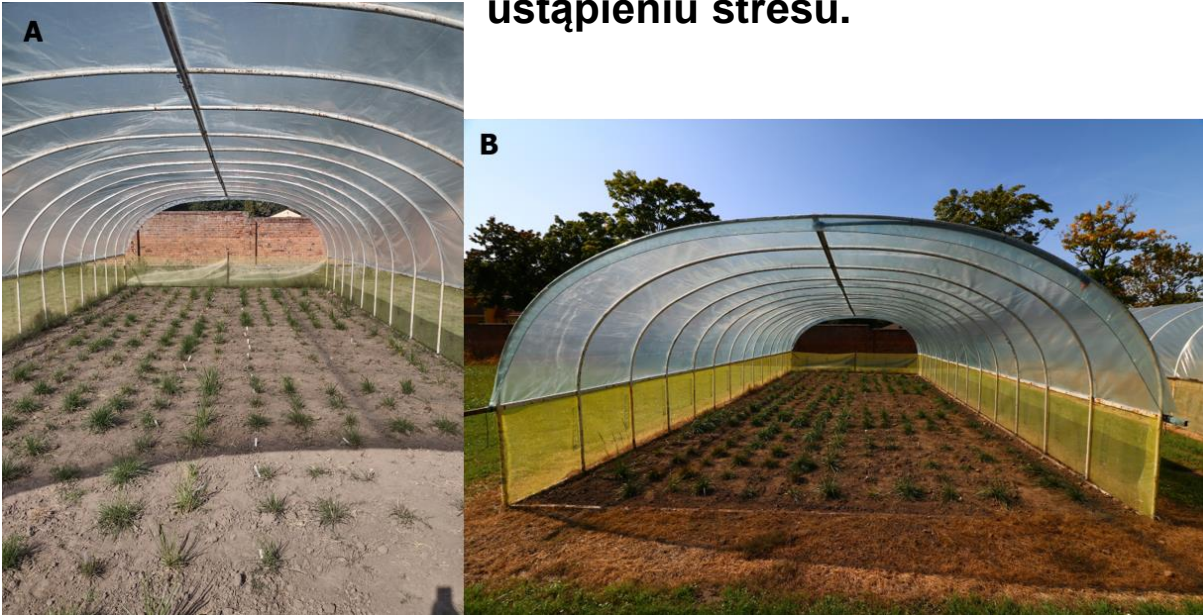
| | |
|--------------------|------------------|
| 3-7-1/ BC3/6Bajka+ | 173/4-11/A1/1p5 |
| 4-7/ BC3/5Arka | 173/4-28/A2/2p4 |
| 5-7/ BC3/5Arka | 173/4-28/A2/2p5 |
| 6-7/ BC3/5Arka | 173/11-23/B4/4p5 |
| 7-7 BC3/5Arka | 173/4-28/C2/2p1 |
| 1-7/ KL/5Arka | 173/4-11/B1/1p4 |
| 3-7-2/ BC3/6Bajka+ | 173/11-23/B4/4p3 |
| 4-7 BC3/6Bajka+ | 173/4-11/A1/1p1 |
| 173/11-23/D2/2p3 | 173/4-28/A2/2p2 |
| 173/4-48/A3/3p5 | 173/4-11/A1/1p4 |

Wnioski

- wyselekcjonowane formy introgresywne *L. perenne*/*F. pratensis* charakteryzowały się stosunkowo wysokim stopniem zimotrwałości, przy uwzględnieniu zarówno oceny ich przezimowania, jak i oceny energii odrostu wiosennego.
- istotnym komponentem zimotrwałości wyselekcjonowanych form introgresywnych była mrozoodporność. Nie można wykluczyć tego, że przynajmniej niektóre z tych form były również odporne na rozhartowywanie i/lub wykazywały zdolność do ponownego hartowania.
- wyselekcjonowane mieszańce *L. perenne*/*F. pratensis* charakteryzowały się także stosunkowo wysokim stopniem odporności na *M. nivale*.

Temat badawczy nr 2

Analiza stopnia tolerancji traw na suszę i ich regeneracji w symulowanych warunkach polowych; selekcja form introgressywnych traw o wysokim stopniu tolerancji suszy i/lub regeneracji po ustąpieniu stresu.



↑ Selekcja roślin 'pod daszkami' w **DANKO Hodowla Roślin (Szelejewo)**.

Materiałem badawczym były formy introgressywne *L. perenne*/*F. pratensis* - diploidalne (2x): populacja PB i BC2 oraz tetraploidalne (4x): populacja PA1, PA 2 i BC3 – 90 genotypów dla każdego poziomu ploidalności. Testy prowadzono w DANKO Hodowla Roślin w Szelejewie (Wielkopolska).

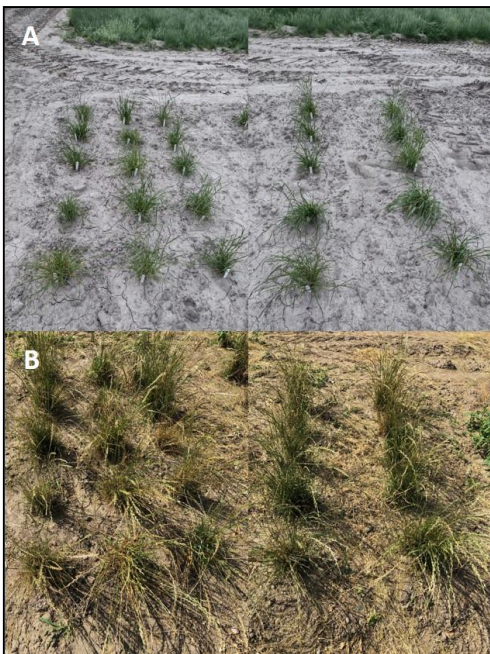
Wyselekcjonowano 40 form *L. perenne*/*F. pratensis* o najwyższej tolerancji suszy i/lub regeneracji po powtórnym nawodnieniu: 20 form diploidalnych i 20 form tetraploidalnych. Zarówno najlepsze diploidalne, jak i najlepsze tetraploidalne formy introgressywne, w większości (29/40 roślin) wykazywały wysoki stopień tolerancji suszy i regeneracji po ustąpieniu czynników stresowych. Tylko 11 form wykazało niski poziom tolerancji suszy, ale stosunkowo wysoki poziom regeneracji po powtórnym nawodnieniu.

Wnioski

- w obrębie badanych populacji form introgressywnych *L. perenne*/*F. pratensis* zaobserwowano dużą zmienność w przeżywalności roślin w warunkach suszy. Szczególnie dużą zmiennością charakteryzowały się rośliny populacji tetraploidalnych (Tabela 2).
- większość wyselekcjonowanych form introgressywnych wykazywała zarówno wysoki stopień tolerancji suszy, jak i regeneracji po ustąpieniu czynników stresowych.

Tabela 2. Średnia przeżywalność roślin.

| Populacja | Tabela 2. Średnia przeżywalność roślin. | |
|--------------------|---|----------------------------------|
| | w warunkach suszy | w warunkach nawadnianej kontroli |
| Populacja (2x) PB | 76,5 | 94,1 |
| Populacja (2x) BC2 | 60,0 | 100,0 |
| Populacja (4x) PA1 | 17,7 | 47,0 |
| Populacja (4x) PA2 | 75,0 | 100,0 |
| Populacja (4x) BC3 | 79,6 | 80,7 |



Materiałem badawczym były diploidalne i tetraploidalne formy introgresywne *L. perenne*/*F. pratensis* (**Lp/Fp**) – 50 genotypów dla każdej lokalizacji oraz formy *L. multiflorum*/*F. arundinacea* (**Lm/Fa**) – 25 genotypów dla każdej lokalizacji. Testy prowadzono w DANKO Hodowla Roślin w Szelejewie (Wielkopolska) oraz w GRUNWALD Hodowla Roślin w Bartążku (woj. warmińsko-mazurskie).

W Wielkopolsce bonitacja poszczególnych form **Lp/Fp** zarówno w okresie wiosenno-letnim, jak i w okresie jesienno-zimowym wahała się w przedziale 2-9. Natomiast w woj. warmińsko-mazurskim w okresie wiosenno-letnim bonitacja badanych form wynosiła 5-9, a w okresie jesienno-zimowym 2-9. Średnia bonitacja wiosenno-letnia dla roślin w Wielkopolsce wyniosła – 4,82, a dla roślin w woj. warmińsko-mazurskim – 7,06. Z kolei średnia bonitacja jesienno-zimowa dla roślin w Wielkopolsce to – 4,2, a dla roślin w woj. warmińsko-mazurskim – 5,52.

W Wielkopolsce bonitacja form **Lm/Fa** zarówno w okresie wiosenno-letnim, jak i jesienno-zimowym wahała się w przedziale 1-7. Natomiast w woj. warmińsko-mazurskim w okresie wiosenno-letnim bonitacja analizowanych form wynosiła 3-9, a w okresie jesienno-zimowym 1-8. Średnia bonitacja wiosenno-letnia dla roślin w Wielkopolsce wyniosła – 4,92, a dla roślin w woj. warmińsko-mazurskim – 5,4. Z kolei średnia bonitacja jesienno-zimowa dla roślin w Wielkopolsce to – 4,16, a dla roślin w woj. warmińsko-mazurskim – 4,6.

Analiza trwałości form *L. multiflorum*/*F. arundinacea* w DANKO Hodowla Roślin (Szelejewo).

Tabela 3. Formy introgresywne o stosunkowo najwyższej trwałości.

| Lm/Fa | Lp/Fp | Lp/Fp |
|--------------|--------------|------------------|
| 185/4/40 | PA 1-1 | 173/11-23/D2/2p3 |
| 185/6/6 | PA 1-6 | 173/4-11/B1/1p1 |
| 185/6/7 | PA 1-7 | 173/4-11/B1/1p5 |
| 185/6/9 | PA 1-8 | 173/11-49/B6/6p3 |
| 185/6/17 | PA 2-9 | 173/11-23/D6/6p4 |
| 185/10/3 | PA 2-21 | 173/4-28/B2/2p1 |
| 185/10/20 | PA 2-29 | 173/4-28/F2/2p5 |
| 185/10/24 | BC 3-23 | 173/4-11/B1/1p4 |
| 185/10/46 | BC 3-25 | 173/11-23/F1/1p4 |
| 185/10/58 | BC 3-28 | 173/11-27/A5/5p2 |

Wnioski

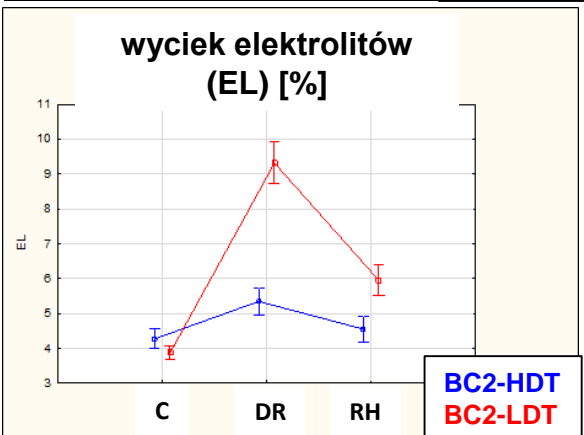
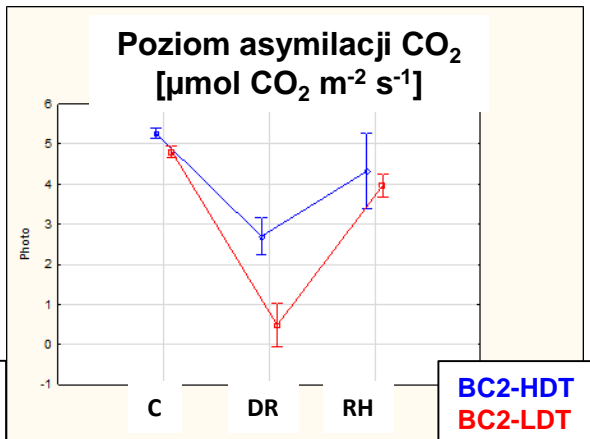
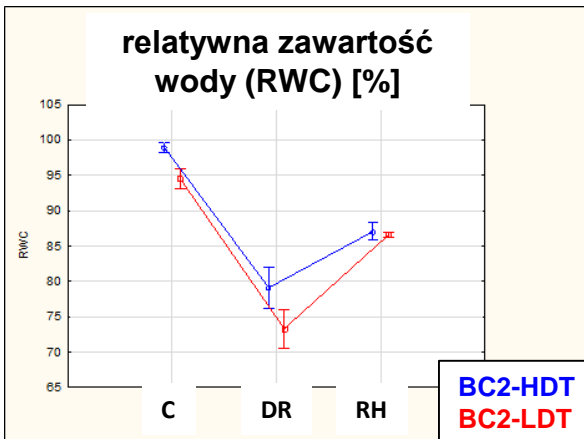
- trwałość analizowanych form introgresywnych *L. multiflorum*/*F. arundinacea* (**Lm/Fa**) była uzależniona od lokalizacji doświadczenia polowego. Dziesięć wyselekcjonowanych najlepszych form introgresywnych charakteryzowało się stosunkowo wysoką trwałością w co najmniej jednej lokalizacji (Tabela 3).
- wyselekcjonowano 10 najlepszych form introgresywnych *L. perenne*/*F. pratensis* (**Lp/Fp**) o stosunkowo najwyższej trwałości w woj. warmińsko-mazurskim (Bartążek) i 10 – o stosunkowo najwyższej trwałości w Wielkopolsce (Szelejewo) (Tabela 3).

Temat badawczy nr 4

Analiza fizjologiczno-molekularnych markerów tolerancji suszy w symulowanych warunkach deficytu wodnego (warunki kontrolowane w fitotronie/szklarni) u wybranych wyselekcjonowanych form introgressywnych.

W badaniach uwzględniono 8 form introgressywnych *L. perenne*/*F. pratensis* (Tabela 4) i 9 wskaźników fizjologiczno-molekularnych.

| Tabela 4. | diploidalne (2x) formy introgressywne | tetraploidalne (4x) formy introgressywne |
|--|---------------------------------------|--|
| stosunkowo <u>wysoki</u> poziom tolerancji suszy | PB-HDT BC2-HDT | PA-HDT BC3-HDT |
| stosunkowo <u>niski</u> poziom tolerancji suszy | PB-LDT BC2-LDT | PA-LDT BC3-LDT |



HDT – roślina o wysokim stopniu tolerancji suszy (ang. high drought tolerant)

LDT – roślina o niskim stopniu tolerancji suszy (ang. low drought tolerant)

C (control) kontrola

DR (drought) susza

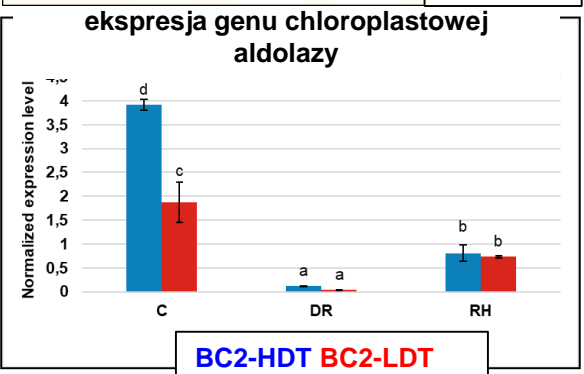
RH (rehydration) nawodnienie

wybrane wskaźniki dla roślin populacji BC2

U wszystkich form obserwowano obniżenie wartości parametrów wymiany gazowej (przewodność szparkowa, transpiracja i asymilacja CO₂) w suszy, a następnie ich wzrost po nawodnieniu. Parametr RWC obniżał, a parametr EL zwiększał swoją wartość w suszy u wszystkich form. Wykazano spadek ekspresji genu chloroplastowej aldolazy w suszy u wszystkich form i brak różnic pomiędzy HDT i LDT w tych warunkach. Akumulacja białka aldolazy była w suszy wyższa u tetraploidalnych form HDT (PA i BC3), w odniesieniu do form LDT.

Wnioski

- dynamika analizowanych wskaźników fizjologiczno-molekularnych była ściśle związana z warunkami środowiskowymi, w których uprawiane były rośliny w laboratorium, w układzie: kontrola/susza/ponowne nawodnienie.
- profile niektórych analizowanych w warunkach laboratoryjnych wskaźników fizjologiczno-molekularnych odzwierciedlały, do pewnego stopnia, poziom tolerancji suszy i/lub regeneracji po ustąpieniu stresu u badanych roślin w warunkach polowych. Obserwowano jednak zróżnicowanie pod względem wagi konkretnych wskaźników w poszczególnych populacjach.



Materiałem badawczym były diploidalne i tetraploidalne formy introgresywne *L. perenne*/ *F. pratensis* (**Lp/Fp**) – 50 genotypów dla każdej lokalizacji oraz formy *L. multiflorum*/*F. arundinacea* (**Lm/Fa**) – 25 genotypów dla każdej lokalizacji. Ocenę prowadzono w DANKO Hodowla Roślin w Szelejewie (Wielkopolska) oraz w GRUNWALD Hodowla Roślin w Bartążku (woj. warmińsko-mazurskie).

W woj. warmińsko-mazurskim rośliny wykazały silny stopień porażenia przez rdzę (*Puccinia graminis*) oraz przez grzyby wywołujące plamistości liści. Ocena mikroskopowa liści wykazała obecność takich grzybów, jak: *Drechslera siccans*, *D. dictyoides*, *Bipolaris sorokiniana* oraz *Alternaria alternata*. Na podstawie objawów wizualnych i mikroskopowej analizy w Wielkopolsce stwierdzono obecność takich patogenów, jak: rdza żdźbłowa (*P. graminis*), patogeny plamistości liści – *D. siccans*, *D. nobleae* i *D. dictyoides*. W Wielkopolsce występowanie plamistości liści i rdzy było jednak dużo słabsze niż w woj. warmińsko-mazurskim. W wyniku prowadzonych doświadczeń w dwóch lokalizacjach wybrano 30 form o najwyższym poziomie odporności na choroby (Tabela 5).



↑ Kłosa i liście traw porażone rdzą w Grunwald Hodowla Roślin (Bartążek).

Tabela 5. Formy introgresywne o najwyższym poziomie odporności na choroby.

| Lm/Fa i Lp/Fp | | |
|---------------|-----------|-----------------|
| 185/4/2 | 185/10/46 | PA 2-16 |
| 185/4/7 | 185/10/58 | PA 2-18 |
| 185/4/11 | PB 1-6 | PA 2-19 |
| 185/4/16 | BC 2-5 | BC 3-13 |
| 185/4/28 | PA 1-6 | BC 3-45 |
| 185/6/6 | PA 2-3 | 9/Ba1/18 |
| 185/6/7 | PA 2-4 | 24/Ba1/18 |
| 185/6/17 | PA 2-6 | 32/Ba1/18 |
| 185/10/3 | PA 2-10 | 173/4-11/B1/1p5 |
| 185/10/20 | PA 2-14 | 173/4-28/A2/P3 |



← Objawy porażenia rdzą i plamistościami liści w Grunwald Hodowla Roślin (Bartążek).

Wnioski

- warunki pogodowe w roku 2021 sprzyjały występowaniu zwłaszcza rdzy żdźbłowej na trawach pastewnych ocenianych w dwóch lokalizacjach (woj. warmińsko-mazurskie i wielkopolskie).
- trawy uprawiane w woj. warmińsko-mazurskim były istotnie bardziej porażone przez rdzę i plamistości liści niż trawy koszone i uprawiane w warunkach stresu okresowego deficytu wody w woj. wielkopolskim.

Analiza zdolności roślin do kwitnienia i zawiązywania nasion w warunkach naturalnych.

Materiałem badawczym były diploidalne i tetraploidalne formy introgresywne *L. perenne*/*F. pratensis* (**Lp/Fp**) – 50 genotypów dla każdej lokalizacji oraz formy *L. multiflorum*/*F. arundinacea* (**Lm/Fa**) – 25 genotypów dla każdej lokalizacji. Analizy prowadzono w DANKO Hodowla Roślin w Szelejewie (Wielkopolska) oraz w GRUNWALD Hodowla Roślin w Bartążku (woj. warmińsko-mazurskie).

Większą wagę nasion dla poszczególnych form *Lm/Fa* uzyskano w Wielkopolsce, a dużo mniejszą w woj. warmińsko-mazurskim. Było to spowodowane dużym porażeniem przez choroby wszystkich roślin populacji w okresie kłoszenia i zawiązywania nasion w tym województwie. Waga nasion wahała się między 1 g, a 30,4 g w Wielkopolsce oraz między 0,01 g, a 0,5 g w woj. warmińsko-mazurskim. Najlepszą populacją pod względem plonu nasion była populacja 185/10 w Wielkopolsce – średnia waga nasion wynosiła 23,2 g. Wszystkie rośliny w obu lokalizacjach wykazały zdolność do kłoszenia i miały pękające pylniki (jedna forma w Wielkopolsce miała częściowo pękające pylniki).

Wszystkie formy *Lp/Fp* w Wielkopolsce wykazały zdolność do kłoszenia i miały pękające pylniki. Waga osadzonych ziarniaków wahała się pomiędzy 1 g, a 28,1 g. Podobnie, wszystkie formy *Lp/Fp* w woj. warmińsko-mazurskim wykazały zdolność do kłoszenia i miały pękające pylniki. Waga osadzonych ziarniaków wahała się pomiędzy 0,2 g, a 36 g.

Wnioski

- zarówno mieszańce *L. multiflorum*/*F. arundinacea*, jak i *L. perenne*/*F. pratensis* wykazywały zdolność do kłoszenia się i wytwarzania pękających pylników, co wskazuje na ich potencjalnie wysoką płodność męską.
- Mieszańce *L. multiflorum*/*F. arundinacea* charakteryzowały się niższym plonem (waga nasion) w woj. warmińsko-mazurski, a wyższym w Wielkopolsce. Natomiast mieszańce *L. perenne*/*F. pratensis* plonowały na porównywalnym poziomie w obu lokalizacjach.



Kłosa wybranych form *L. multiflorum*/*F. arundinacea* uprawianych w warunkach naturalnych w **DANKO Hodowla Roślin (Szelejewo)**.

Mierniki realizacji tematów badawczych

| Lp. | miernik | wartość miernika podana w opisie zadania | wartość miernika zrealizowana |
|----------------------------|--|---|----------------------------------|
| Temat badawczy nr 1 | | | |
| 1.1 | Liczba wyselekcjonowanych mieszańców o najwyższym stopniu zimotrwałości | 20 | 20 |
| Temat badawczy nr 2 | | | |
| 2.1 | Liczba wyselekcjonowanych mieszańców o najwyższym stopniu tolerancji suszy i/lub regeneracji po nawodnieniu | 40 | 40 |
| Temat badawczy nr 3 | | | |
| 3.1 | Liczba wyselekcjonowanych mieszańców o najwyższej trwałości w naturalnych warunkach polowych | 30 | 30 |
| Temat badawczy nr 4 | | | |
| 4.1 | Liczba punktów czasowych, dla których wyznaczone zostaną fizjologiczno-molekularne markery tolerancji suszy | 3 | 3 |
| 4.2 | Liczba analizowanych parametrów fizjologiczno-molekularnych w warunkach kontrolnych, w suszy i po ponownym nawodnieniu | 9 | 9 |
| Temat badawczy nr 5 | | | |
| 5.1 | Liczba wyselekcjonowanych mieszańców o najwyższym poziomie odporności na choroby | 30 | 30 |
| Temat badawczy nr 6 | | | |
| 6.1 | Liczba grup populacji, dla których określona zostanie zdolność roślin do kwitnienia i zawiązywania nasion | 3 | 3 |