

Badania asocjacyjne oraz molekularne uwarunkowania odporności jęczmienia jarego na stresy środowiskowe

Zadanie 14

Okres realizacji: 2021-2025



Zespół wykonawców:

Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu

Zakład Fenomiki Zbóż:

dr hab. Anetta Kuczyńska, prof. IGR PAN; e-mail: akuc@igr.poznan.pl

dr inż. Krzysztof Mikołajczak

dr Piotr Ogrodowicz

mgr Michał Kempa

mgr Renata Trzeciak

Alina Anioła

Renata Holewińska

Zakład Biometrii i Bioinformatyki:

prof. dr hab. Paweł Krajewski

dr Monika Mokrzycka

ALSIA-Metapontum Agrobios Research Center, Metaponto, Włochy

dr Francesco Cellini - Director of Research and Development

dr Angelo Petrozza

dr Stephan Summerer

Angelo Mossuto



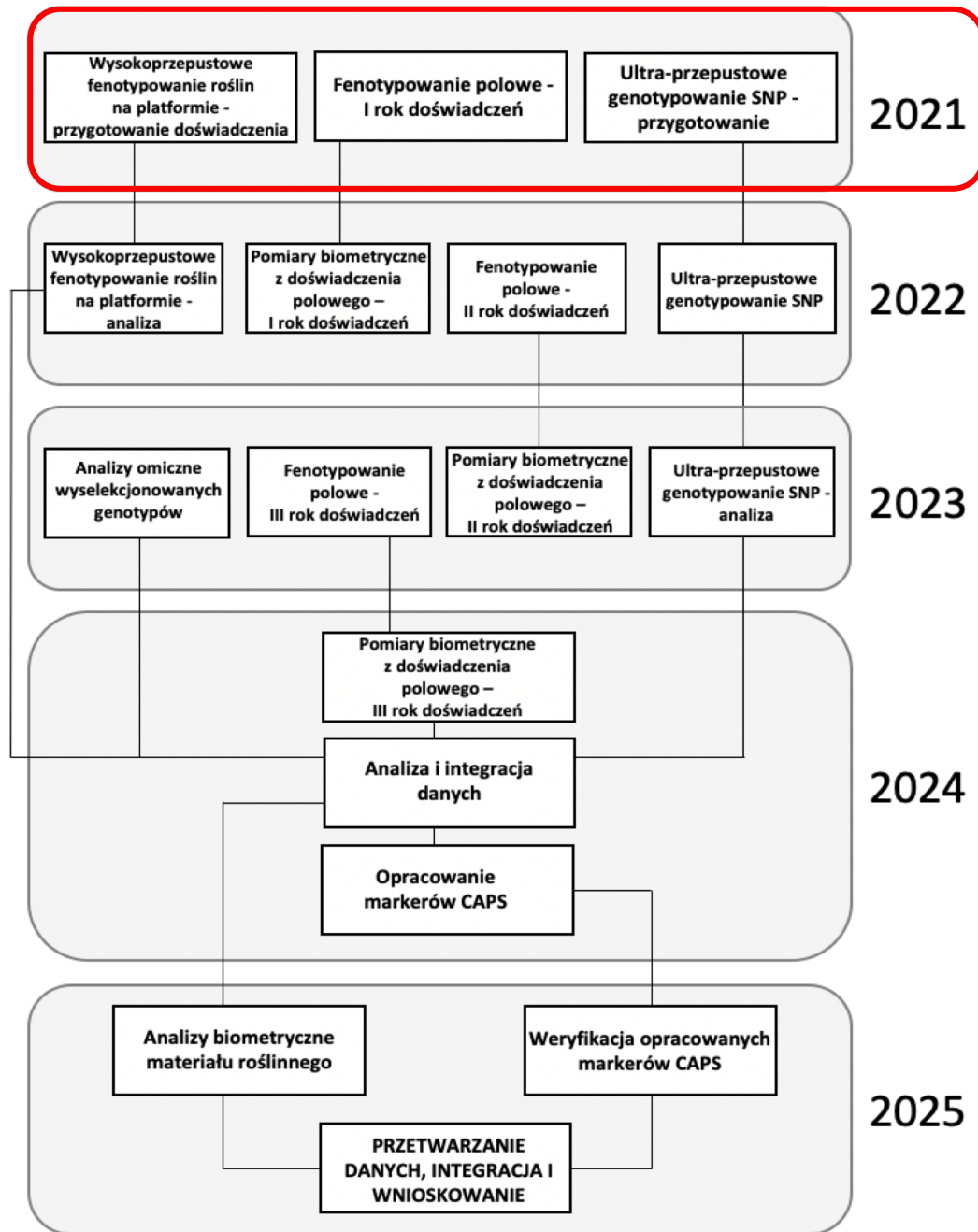


Figura 1. Schemat projektu

Cele projektu w 2021 roku:

1. Charakterystyka badanych genotypów jęczmienia jarego w doświadczeniu polowym z zastosowaniem inokulacji zarodnikami grzybów – I rok doświadczeń.
2. Uzyskanie danych genotypowych 60 form jęczmienia jarego - ultra-przepustowe genotypowanie SNP (przygotowanie)*.
3. Odpowiednie przygotowanie materiału roślinnego do wysokoprzepustowego fenotypowania automatycznego.

* Zachowanie ustalonych kwot projektu na poszczególne lata wiązało się z koniecznością wykonania jednej części usługi (60 genotypów) w 2021 roku oraz drugiej (60 genotypów) w 2023 roku. Podział ten nie będzie miał jakiegokolwiek wpływu na końcowy rezultat projektu.

Wszystkie cele projektu w 2021 roku zostały w pełni osiągnięte.

Materiały

Materiałem badawczym są odmiany jęczmienia jarego oraz rody/linie hodowlane o różnym pochodzeniu – łącznie 120 form. Dobór materiału roślinnego został skonsultowany ze specjalistami z Firm Hodowlanych.

Metody

- 1. Fenotypowanie badanych form w doświadczeniach polowych (I rok)** – doświadczenia prowadzono na poletkach doświadczalnych trzech Firm Hodowlanych współpracujących bezpośrednio w ramach Projektu: Danko Hodowla Roślin Sp. z o.o., Poznańska Hodowla Roślin Sp. z o.o. oraz Hodowla Roślin Strzelce Sp. z o.o. Grupa IHAR, w trzech warunkach środowiska: warunki naturalne (bez inokulacji), z zastosowaniem inokulacji *Fusarium culmorum* i z zastosowaniem inokulacji *Pyrenophora teres*. Obserwacje fenotypowe prowadzono w zakresie cech określających reakcję badanych genotypów na infekcję grzybami z rodzaju *Fusarium* oraz *P. teres*, jak również głównych cech struktury plonu oraz faz fenologicznych. Pomiary biometryczne cech plonotwórczych będą kontynuowane w roku 2022 i zostaną przedstawione w sprawozdaniu w przyszłym roku. Doświadczenia w warunkach polowych powtórzone zostaną w kolejnych dwóch latach trwania projektu.
- 2. Ultra-przepustowe genotypowanie SNP** – izolacja genomowego DNA analizowanych form jęczmienia wraz z oceną jakościową przeprowadzona została przez wykonawców projektu. Analizę ultra-przepustowego genotypowania SNP zlecono firmie zewnętrznej.
- 3. Wysokoprzepustowe fenotypowanie automatyczne (przygotowanie doświadczenia)** – wykonawca usługi we Włoszech przeprowadził standaryzację doświadczenia i optymalizację warunków. W 2022 roku przeprowadzone zostanie doświadczenie główne obejmujące obrazowanie pełnej puli badanego materiału roślinnego - 120 genotypów jęczmienia jarego - na platformie do wysokoprzepustowego fenotypowania.

Wyniki i wnioski

1. Fenotypowanie badanych form w doświadczeniach polowych (I rok)

Rośliny zostały wysiane w zbliżonych terminach (Poznańska Hodowla Roślin Sp. z o.o. – 31 marca 2021 r.; Hodowla Roślin Strzelce Sp. z o.o. Grupa IHAR – 30 marca 2021 r.; Danko Hodowla Roślin Sp. z o.o. – 1 kwietnia 2021 r.) (zdjęcie 1). Niewielkie różnice w terminie wysiewu były związane z warunkami pogodowymi jakie panowały na polach doświadczalnych danej stacji. Podczas uprawy roślin stosowano standardowe warunki agrotechniczne dla uprawy jęczmienia.



Zdjęcie 1. Wschody roślin wysianych na polach doświadczalnych Poznańskiej Hodowli Roślin Sp. z o.o. (fot. Dorota Jasińska)

Wyniki i wnioski

1. Fenotypowanie badanych form w doświadczeniach polowych (I rok)

W trakcie wykonywania oprysków kontrolowano jakość stosowanych roztworów infekcyjnych za pomocą mikroskopów biologicznych znajdujących się w Instytucie Genetyki Roślin PAN w Poznaniu (zdjęcie 2). Obserwowano zróżnicowanie porażenia badanych genotypów jęczmienia na infekcję grzybami *F. culmorum* oraz *P. teres* zarówno w warunkach kontrolnych, jak i w przypadku traktowania roślin opryskiem infekcyjnym.



Zdjęcie 2. Obrazy wykonane za pomocą kamery Moticam mikroskopu biologicznego Motic BA410-E przedstawiające konidia *F. culmorum*; powiększenie: fot. a = 40 x, fot. b = 100 x (fot. Piotr Ogrodowicz)

Wyniki i wnioski

2. Ultra-przepustowe genotypowanie SNP

Dane uzyskane z ultra-przepustowego genotypowania SNP (ang. single nucleotide polymorphism) przy użyciu macierzy zawierającej 44040 markerów posłużą do zadań przewidzianych w projekcie, w tym umożliwią szczegółową analizę zróżnicowania genetycznego w obrębie wybranej puli form jęczmienia jarego.

Możliwość identyfikacji olbrzymiej liczby markerów SNP w genomie wydatnie zwiększa poznanie tła genetycznego badanych roślin, a tym samym wpływa na precyzję analizy sprzężeń marker/cecha. Mutacja pojedynczego nukleotydu w genie może być odpowiedzialna za zmiany funkcji tego genu, co w konsekwencji może prowadzić do różnic fenotypowych. Polimorfizm SNP jest warunkiem powiązania tła genetycznego z ważnymi cechami fenotypowymi.

Dane fenotypowe otrzymane w ramach proponowanego projektu zostaną zintegrowane z wynikami genotypowymi celem identyfikacji sprzężeń markerów SNP z obserwowanymi cechami, w tym z podatnością na porażenie zastosowanych czynników biotycznych. Markery takie, o wysokim stopniu sprzężenia z cechą, mogą być użyte w procesie selekcji wspomagananej markerami dając możliwość wyodrębnienia genotypów mogących stanowić odpowiedni materiał wyjściowy do prac nad wytworzeniem odmian o korzystniejszych cechach fenotypowych w warunkach stresu biotycznego.

Wyniki i wnioski

3. Wysokoprzepustowe fenotypowanie automatyczne

Przygotowanie doświadczenia objęło:

- odpowiednie potraktowanie dostarczonego przez IGR PAN materiału roślinnego (wysianie i uprawa materiału roślinnego w warunkach kwarantanny w miejscu wykonawcy usługi) celem uzyskania czystego materiału roślinnego kwalifikującego się do obrazowania na platformie,
- zorganizowanie wymaganej liczby specjalnych doniczek wraz z podpórkami oraz wypełnienie ich odpowiednim, autoklawowanym podłożem doświadczalnym,
- dostosowanie platformy do wysokoprzepustowego fenotypowania (m.in. dezynfekcja),
- przeprowadzenie doświadczenia pilotażowego służące ocenie dynamiki utraty wody w danym podłożu i ustalenia poziomów wilgotności podłoża w doświadczeniu głównym wraz z ustaleniem dawek nawożenia.



Zdjęcie 3. Przygotowanie doświadczenia do wysokoprzepustowego fenotypowania automatycznego (fot. Angelo Mossuto)

Wyniki i wnioski

3. Wysokoprzepustowe fenotypowanie automatyczne

Współpraca międzynarodowa: Doświadczenie zostanie przeprowadzone z wykorzystaniem systemu LemnaTec Scanalyzer3D udostępnionym przez **ALSIA-Metapontum Agrobios Research Center, Metaponto (MT) Włochy**, wyposażonym w kamery RGB, UV i NIR do mierzenia cech w czasie rzeczywistym (m.in. parametry geometryczne rośliny, pokrój i wysokość, powierzchnia liści, biomasa całkowita, ocena dynamiki wzrostu oraz indeksu chlorozy liści, fluorescencja chlorofilu, zawartość wody w roślinie - cecha szczególnie istotna podczas suszy). Oceniane będą również cechy struktury plonu roślin po zbiorze celem określenia potencjału plonowania roślin w suszy i korelacji komponentów plonu z cechami dynamicznymi z platformy.

W efekcie końcowym pozwoli to na uzyskanie informacji na temat zachowania się badanych genotypów jęczmienia w różnych warunkach środowiska poprzez integrację wyników z doświadczenia prowadzonego w warunkach niedoboru wody z platformy do wysokoprzepustowego fenotypowania roślin oraz danymi uzyskanymi z fenotypowania roślin w warunkach naturalnych. Z kolei integracja wyników otrzymanych z poszczególnych zadań projektu (mapowania asocjacyjnego przy użyciu ultra-przepustowego genotypowania, analizy omiczne) pozwoli na głębsze poznanie odpowiedzi roślin jęczmienia na stresy abiotyczne i biotyczne.