

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

Cele zadania w 2015 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 populacji mapującej [Carneval×MP1401] (Tar'an i in. 2003). Rośliny badano w doświadczeniu wazonowym, do pełnej dojrzałości (szklarnia, optymalny i niski poziom zawartości azotu w podłożu) oraz 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 była mocno

zredukowana (NA 98 nMC₂H₄/roślinę/godzinę) (plon 3,28 g/ rośliny w warunkach optymalnych; 2,88 g/ rośliny w warunkach niedoboru azotu, 13% obniżenie plonu). W linii MP1401 deficyt azotu w podłożu prawdopodobnie rekompensowała zwiększona aktywność nitrogenazy (196,25 nMC₂H₄/roślinę/godzinę), która umożliwiła niezmiennie plonowanie w zastosowanym stresie azotu (2,66 g z rośliny w warunkach optymalnych; 2,59 g/ rośliny w warunkach stresowych, 3% obniżenie plonu). Efektywność wiązania azotu Nfix w linii Carneval była tym razem wyższa niż w linii MP1401. W warunkach polowych zaobserwowane zależności nie były tak klarowne (Carneval 70% obniżenie plonu w Przebądowie, przy NA 220 nMC₂H₄/roślinę/godzinę, MP1401 83% obniżenie plonu, przy NA 0,01 nMC₂H₄/roślinę/godzinę). W warunkach polowych widoczny jest wzrost aktywności nitrogenazy w porównaniu z warunkami szklarniowymi. 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). Stwierdzono istotne korelacje pomiędzy plonem z rośliny, a % całkowitej ilości fosforu translokowanego do nasion PHI, jak również pomiędzy indeksem plonu i % zawartością fosforu w nasionach, fosforowym indeksem plonu i efektywnością wykorzystania fosforu w formowaniu masy wegetatywnej.

Stwierdziliśmy negatywną korelację pomiędzy parametrami efektywności fotosyntezy, a aktywnością nitrogenazy w warunkach kontrolowanych, natomiast pozytywną dla parametrów intensywności fotosyntezy i aktywnością nitrogenazy. Pozytywną korelację pomiędzy parametrami fotosyntetycznymi i aktywnością nitrogenazy stwierdzono również 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.

Plon z doświadczenia szklarniowego był ok. 54% niższy w warunkach optymalnych i 35% większy w warunkach stresowych niż plon z doświadczenia polowego w Przebądowie. Linia MP1401 wytwarzała niższy plon niż linia Carneval (warunki szklarniowe, Wiatrowo, oba stanowiska, Przebądowo, warunki stresowe) i charakteryzowała się lepszymi lub podobnymi do drugiej linii parametrami gospodarki azotowej. Niższy był również indeks plonowania z warunków szklarniowych. W warunkach niedoboru azotu plon malał o ok.15%, natomiast stresowe warunki polowe redukowały plon o ok. 75% w Przebądowie. Malał również indeks plonu od 5% (warunki szklarniowe) do 51% (warunki stresowe, Przebądowo). W doświadczeniu polowym wyższe wartości niż w warunkach kontrolowanych wykazywały parametry takie, jak efektywność wykorzystania azotu w formowaniu masy wegetatywnej (NERveg), azotowy indeks plonu NHI. Niższe wartości w doświadczeniu polowym niż szklarniowym wykazywał azotowy indeks plonu NHI (azot zakumulowany w ziarnie/ ilość

pobranego azotu) i efektywność wykorzystania azotu w formowaniu masy nasion NER_{GEN} . W warunkach stresu azotowego malały parametry wykorzystania azotu – Gw/Ng, NHI i NER_{GEN} . Wartości efektywności wykorzystania azotu w formowaniu masy wegetatywnej (NER_{veg}) wahały się (rosły w doświadczeniu polowym, malały w doświadczeniu szklarniowym). Stwierdzone wartości azotowego indexu plonu (NHI), plonu wykształconego na jednostkę pobranego azotu (Gw/Ng), efektywności wykorzystania azotu w formowaniu ziarna (NER_{gen}) i formowaniu masy wegetatywnej (NER_{veg}) u grochu były porównywalne do tych, stwierdzonych u pszenicy (Ratajczak i Górny 2012). W warunkach kontrolowanych zaobserwowano istotną, pozytywną korelację ($p < 0.05$) pomiędzy plonem z rośliny, a efektywnością wykorzystania azotu w kształtowaniu masy nasion (NER_{gen}). W doświadczeniu polowym istotne korelacje ($p < 0.01$) pomiędzy plonem z rośliny, a efektywnością wykorzystania azotu w kształtowaniu masy nasion (NER_{gen}) były pozytywne (Wiatrowo warunki optymalne 0.95, Wiatrowo niska zawartość azotu 0.50, Przebudowo warunki stresowe 0.65). Parametry gospodarki azotowej u grochu znacząco wpływają na wysokość plonu. Im bardziej stresogenne środowisko, tym wyższy udział parametrów fizjologicznych w kształtowaniu plonu.

Linia rodzicielska Carneval wykazała większą wartość współczynnika tolerancji w porównaniu do linii MP1401 dla obydwu polowych lokalizacji stresowych w odniesieniu do lokalizacji optymalnej. W doświadczeniu szklarniowym linia Carneval wykazała mniejszą wartość współczynnika. 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.

Są to prace wstępne, zmierzające do uzupełnienia mapy i nałożenia QTL gospodarki azotowej grochu, gdy zebrane zostaną dane ilościowe dla całej populacji. Mapa obejmuje obecnie 232 markery, jej długość to 966 cM, średnia odległość pomiędzy markerami 6,2 cM.

Cennymi markerami są AB33, AB141, AB83, ponieważ znalazły się na mapie opublikowanej przez Bourion i in. (2010). Autorzy ci przeanalizowali QTL związane z gospodarką azotową roślin grochu i grupy QTL zostały umieszczone w pobliżu tych markerów. W grupie VII (AD56) zlokalizowano QTL warunkujące masę tysiąca nasion, suchą masę nasion, suchą masę brodawek oraz ilość zgromadzonego azotu w nasionach. W grupie V (AB83) odnaleziono QTL warunkujące masę tysiąca nasion, suchą masę słomy, liczbę brodawek i zawartość azotu w nasionach. Umożliwi to odniesienie lokalizacji QTL gospodarki azotowej grochu z badań własnych do innych autorów. W naszych badaniach wykryto 8 QTL dla cech związanych z gospodarką azotową, w tym QTL dla plonu i ilości

pobranego azotu w warunkach polowych w V i VIIB grupie sprzężeń. Nie odnaleziono locus warunkującego efektywność wykorzystania azotu w kształtowaniu nasion (NERgen). Są to dane z jednego roku, które wymagają ponownej analizy w kolejnych latach.

Określenie korelacji wylegania w wybranych liniach populacji mapującej z zawartością lignin.

Celem było określenie, czy istnieje zależność pomiędzy zawartością lignin w łodygach grochu, a wyleganiem.

Populację mapującą grochu [Wt 10245×Wt 11238] – 20 rodzin wysiano w doświadczeniu polowym w dwóch terminach, na poletkach 4 rzędkowych o powierzchni 0,5 m², w rozstawie międzyrzędzi 20 cm, w rzędzie co 5 cm do oceny podatności na wyleganie. Ocenę wylegania prowadzono według metodyki COBORU w trzech terminach tj. początek kwitnienia, koniec kwitnienia i pełna dojrzałość.

Wyleganie w II terminie dla rodzin było nieco mniejsze niż w 2014 r. Wyleganie w III terminie pozostawało na tym samym poziomie, jak w 2014 r. Średnia wysokość roślin była również niższa niż w 2014 r. 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 2%. Analiza korelacji pomiędzy %-ową zawartością lignin w łodydze, a wyleganiem, wysokością roślin i parametrami mechanicznymi łodygi wykazała słabe korelacje ($p < 0,1$) pomiędzy zawartością lignin w łodydze, a wytrzymałością łodygi w dolej części (0,34) oraz negatywną pomiędzy %-ową zawartością lignin i wyleganiem w II i III terminie. Łączy się to z wcześniejszymi wynikami uzyskanymi w ramach Postępu Biologicznego. Stwierdzono wówczas korelację wylegania w I i II terminie z wytrzymałością i średnicą łodygi w dolnej jej części i ujemnie z wysokością rośliny, natomiast wylegania przed zbiorem ze średnicą łodygi w jej dolnej części i grubością ściany łodygi w dolnej i środkowej części.

LITERATURA:

- Bourion V., Rizvi S., Fournier S., Larambergue H., Galmiche F., Marget P., Duc G., Burstin J. 2010. Genetic dissection of nitrogen nutrition in pea through a QTL approach of root, nodule, and shoot variability. *Theoretical and Applied Genetics* 121 (1): 71-86.
- 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.
- Ratajczak D., Górny A.G. 2012. Water- and nitrogen-dependent alterations in the inheritance mode of transpiration efficiency in winter wheat at the leaf and whole-plant level. *J Appl Genet* 53 (4): 377-88.

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: Plant Abiotic Stress Tolerance III, Wiedeń, Austria, 29.06 – 1.07.2015, 1 osoba, wyniki str.42-50 sprawozdania 2014.

Gawłowska M., Górny A., Ratajczak D., Niewiadomska A., Święcicki W., Beczek K., Tomaszewska M. (2015). A response to nitrogen shortages in recombinant *afila* lines of the mapping population of field pea (*Pisum sativum* L.). *Plant Abiotic Stress Tolerance III*, Wiedeń, Austria, 29.06 – 1.07.2015. Abstract Book, 50.

In the study, variation and co-variation in components of pea adaptation to limited nitrogen nutrition were analysed among chosen recombinant lines of the Canadian mapping population [Carneval/MP1401] and their parents (Ps). Using different N-nutrition regimes, grain yield (GY) and various components of physiological efficiency were examined in pot- and field-grown plants.

Although Ps did not show critical diversity in most traits, the RIL-lines of the mapping population exhibited substantial differences indicating transgressive segregation of genes for most traits examined. The studied Ps and RIL-lines exhibited distinct differences in GY and response to N shortage. A broad genotypic variation in stress-induced GY reduction was observed, and those effects were mainly associated with differences in N₂ fixation potential, N uptake efficiency, and water use efficiency, but less with N utilization efficiency and/or photosynthetic capacity of leaves. The complex relationships between GY and components of water and nitrogen efficiency tended to be stronger in N-limited conditions suggesting an increased importance of the examined physiological components for yielding capacity under nutrient limitation.