

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 2025 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

mgr inż. Magdalena Taciak

Uniwersytet Rolniczy w Krakowie

prof. dr hab. Agnieszka Płażek

prof. dr hab. Marcin Rapacz

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

Koordynacja: inż. Eugeniusz Paszkowski

Grunwald Hodowla Roślin - Grupa IHAR Sp. z o.o.

Koordynacja: mgr inż. Katarzyna Szwarc i mgr inż. Katarzyna Kłodawska-Pęcińska

Cele badań w 2025 r.

1. Selekcja form introgresywnych traw o wysokim stopniu zimotrwałości na podstawie oceny ich przezimowania i energii odrostu.
2. 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. Analiza fizjologiczno-molekularnych wskaźników mrozoodporności u wybranych, wyselekcjonowanych form introgresywnych.
5. Ocena porażenia traw przez patogeny (ocena stopnia podatności na choroby).

Wszystkie cele zrealizowano.

Materiał roślinny i metody badawcze

Formy introgresywne *Lolium perenne*/*Festuca pratensis* i *L. multiflorum*/*F. arundinacea*

- Ocena zimotrwałości form introgresywnych *L. perenne*/*F. pratensis* i *L. multiflorum*/*F. arundinacea* 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* - 2 lokalizacje (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 zielonej i suchej masy w warunkach suszy oraz odrost po powtórным 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) - 2 lokalizacje (temat badawczy nr 3).
- Analiza fizjologiczno-molekularnych wskaźników mrozoodporności u wybranych, wyselekcjonowanych form introgresywnych: temperatura powodująca 50% wyciek elektrolitów (T_{EL50}), fluorescencja chlorofilu (Fv/Fm), poziom akumulacji transkryptu genu *cor14b* (RT-qPCR w czasie rzeczywistym) i poziom akumulacji białka *cor14b* (Western blot) (temat badawczy nr 4).
- Stopień porażenia form *L. perenne*/*F. pratensis* i form *L. multiflorum*/*F. arundinacea* przez patogeny 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 - 2 lokalizacje. Oceniona została także (iv) zdolność wybranych roślin do zawiązywania nasion w trakcie wolnego przepylecia w warunkach polowych - 1 lokalizacja (temat badawczy nr 6).

Analiza stopnia zimotrwałości form introgresywnych traw

Materiałem badawczym były diploidalne (2x) (populacje PB, BC2 i x-7) i tetraploidalne (4x) (populacje BC3, PA i 173) formy introgresywne *L. perenne*/*F. pratensis* oraz tetraploidalne (4x) (populacja 185) formy *L. multiflorum*/*F. arundinacea* – doświadczenia prowadzono w GRUNWALD Hodowla Roślin w Mielnie (woj. warmińsko-mazurskie) i w DANKO Hodowla Roślin w Szelejewie (woj. wielkopolskie). Wyselekcjonowano 20 mieszańców o stosunkowo wysokim poziomie zimotrwałości (po 10 dla każdej z lokalizacji) (Tabela 1).

Tabela 1. 20 form introgresywnych o stosunkowo wysokim poziomie zimotrwałości	
DANKO HR	GRUNWALD HR
BC2-2/4Z	7-7 BC3/5Arka
BC3-26/4Z	6-7/ BC3/5Arka
PA2-25/4Z	173/11-23/A4/4p4
BC2-9/1Z	173/11-23/D2/2p3
PB2-1/1Z	173/11-49/A6/6p3
PB1-4/1Z	185/6/7 3-6 A7p6
PB1-12/1Z	185/4/4 7-8 B7p5
PB1-14/1Z	185/4/2 1-8 B1p5
PB1-12/2Z	185/4/7 8-8 B9p4
PA1/7/1Z	185/4/7 2-8 B2p2

Podsumowanie/Wnioski

- 20 wyselekcjonowanych mieszańców introgresywnych *L. perenne*/*F. pratensis* oraz *L. multiflorum*/*F. arundinacea* charakteryzowało się stosunkowo wysokim stopniem zimotrwałości, przy uwzględnieniu zarówno oceny ich przezimowania, jak i oceny energii odrostu wiosennego. Wyższy stopień zimotrwałości obserwowano u traw w woj. warmińsko-mazurskim.
- istotnym komponentem zimotrwałości wyselekcjonowanych form introgresywnych była mrozoodporność.
- w woj. wielkopolskim nie stwierdzono porażenia traw przez *Microdochium nivale*; natomiast było ono stosunkowo wysokie w woj. warmińsko-mazurskim.

Materiałem badawczym były formy introgresywne *L. perenne*/*F. pratensis* - diploidalne (2x): populacja PB1 i BC2 oraz tetraploidalne (4x): populacja PA i BC3. Testy prowadzono w DANKO Hodowla Roślin w Szelejewie (Wielkopolska).

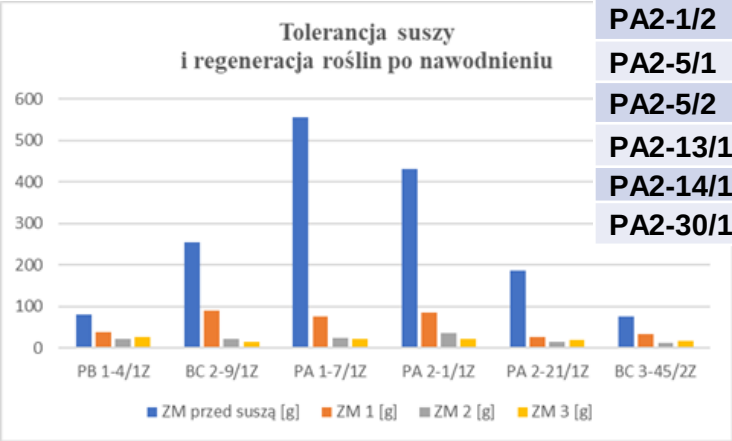
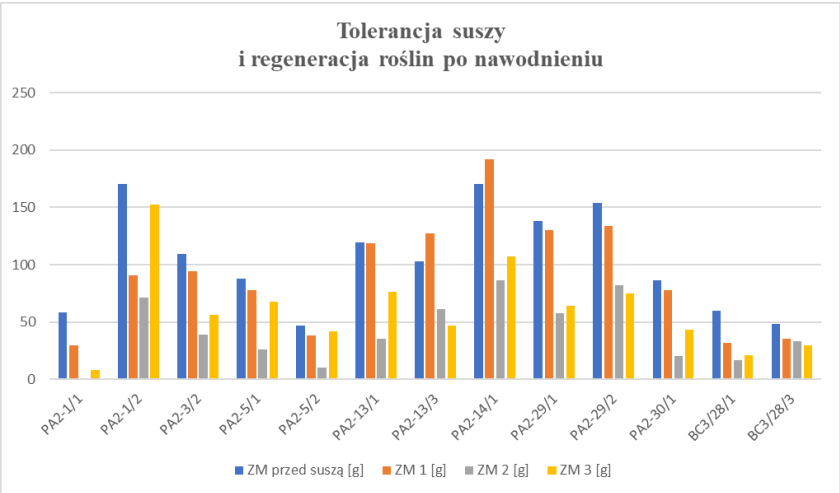
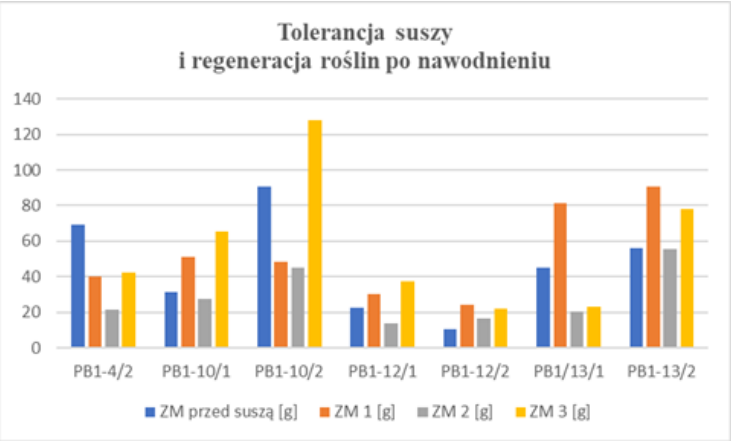
Pomiary plonu wykonywano w roku 2025 w 6 terminach, gdzie jako kontrolę przed rozpoczęciem suszy przyjęto pomiar z 2 czerwca (ZM), jako pomiar z okresu umiarkowanej suszy – 27 czerwca tj. po 25 dniach bez nawadniania (ZM1) oraz jako pomiar z okresu długotrwałej suszy – 6 sierpnia tj. po 65 dniach bez nawadniania (ZM2). Pomiar dokonany 23 września br. dotyczył fazy regeneracji po suszy, którą przerwano 15 września (początek podlewania) (ZM3). Poniżej przedstawiono wyniki (wykresy) zielonej masy [g] dla wybranych roślin, zarówno nowodosadzonych (Z), jak i z doświadczenia wieloletniego.

Wybrano 10 stosunkowo najlepszych form tolerujących suszę lub regenerujących po ustąpieniu warunków stresowych (Tabela 2).

Podsumowanie/Wnioski

- w obrębie badanych form introgresywnych *L. perenne*/*F. pratensis* zaobserwowano dużą zmienność w poziomie ich tolerancji suszy i/lub regeneracji po nawodnieniu.
- wyselekcjonowano 10 form introgresywnych o stosunkowo najwyższym stopniu tolerancji suszy i/lub regeneracji po nawodnieniu.

Tabela 2. Wyselekcjonowane mieszance
PB1-10/1
PB1-10/2
PB1-12/1
PB1-13/2
PA2-1/2
PA2-5/1
PA2-5/2
PA2-13/1
PA2-14/1
PA2-30/1



Analiza trwałości form introgresywnych traw w doświadczeniach polowych

Materiałem badawczym były diploidalne (2x) (populacje PB i x-7) i tetraploidalne (4x) (populacje BC3, PA i 173) formy introgresywne *L. perenne*/*F. pratensis* (**Lp/Fp**) – 20 genotypów dla każdej lokalizacji oraz tetraploidalne (4x) (populacja 185) formy *L. multiflorum*/*F. arundinacea* (**Lm/Fa**) – 20 genotypów dla każdej lokalizacji. Testy prowadzono w woj. wielkopolskim oraz w woj. warmińsko-mazurskim.

Bonitacja wiosenno-letnia oraz jesienno-zimowa w woj. wielkopolskim dla form introgresywnych *L. multiflorum*/*F. arundinacea* kształtowała się odpowiednio w przedziale 3-9 i 5-9, a w woj. warmińsko-mazurskim w przedziale 7-9 i 6-9; w skali [0-9; 9 – ocena najwyższa].

Z kolei, w Wielkopolsce bonitacja poszczególnych form introgresywnych *L. perenne*/*F. pratensis* w okresie wiosenno-letnim i w okresie jesienno-zimowym wahała się odpowiednio w przedziale: 2-8 i 2-9. Natomiast w woj. warmińsko-mazurskim w okresie wiosenno-letnim i jesienno-zimowym bonitacja analizowanych form wynosiła odpowiednio: 2-9 i 2-8; w skali [0-9; 9 – ocena najwyższa].

Tabela 3. Formy introgresywne o stosunkowo najwyższej trwałości

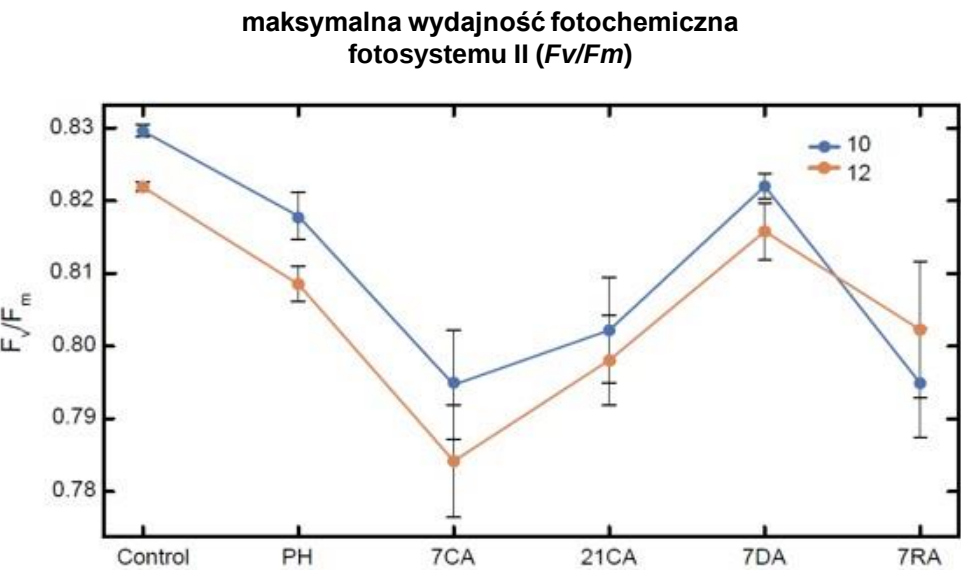
Lm/Fa	Lp/Fp
185/4/7 (7-25)	PA2-1/2
185/4/4 (2-25)	7-7 BC3/5Arka
185/6/7 3-6 A7p1	173/11-49/B6/6p3
185/6/7 3-6 A7p5	173/11-23/F1/1p10
185/4/7 5-8 B10p2	173/11-49/A6/6p3

Podsumowanie/Wnioski

- wyselekcjonowano 10 najlepszych form introgresywnych o stosunkowo najwyższej trwałości (Tabela 3).

Analiza fizjologiczno-molekularnych wskaźników mrozoodporności

W badaniach uwzględniono 2 diploidalne (2x) formy introgresywne *L. perenne*/*F. pratensis* (Tabela 4) i 4 wskaźniki fizjologiczno-molekularne.



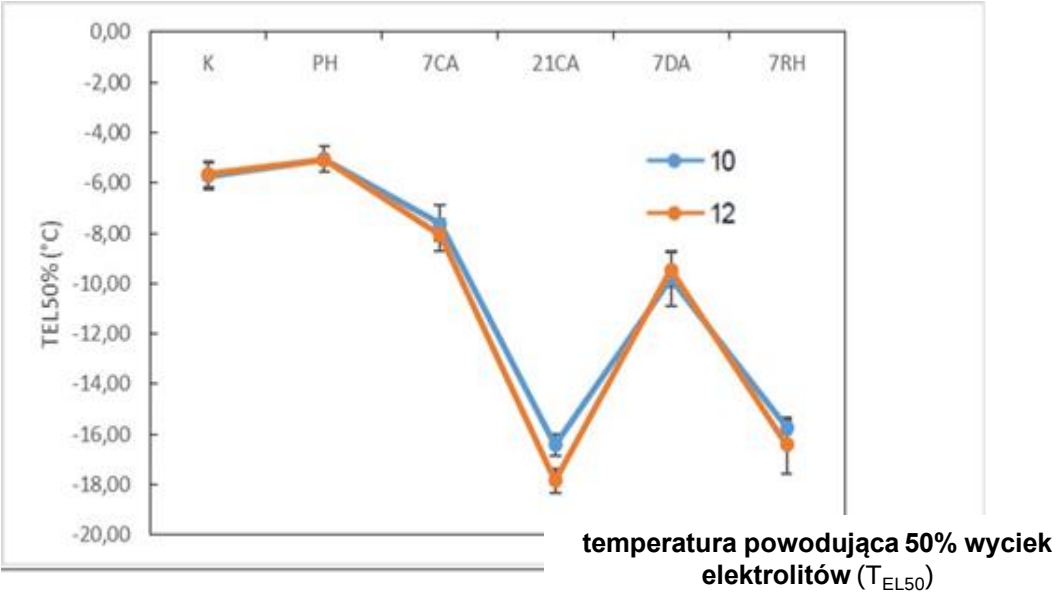
kontrola (Control, K)
pre-hartowanie (PH)
hartowanie (CA, 7 i 21 dni)
rozhartowanie (DA, 7 dni)
ponowne hartowanie (RA/RH, 7 dni)

Tabela 4.	Forma introgresywna
stosunkowo <u>niższy</u> poziom zimotrwałości	PB1-10/1Z (LFT)
stosunkowo <u>wyższy</u> poziom zimotrwałości	PB1-12/1Z (HFT)

Analizowane wskaźniki: (1) temperatura powodująca 50% wyciek elektrolitów (T_{EL50}), (2) fluorescencja chlorofilu (F_v/F_m), (3) poziom akumulacji transkryptu genu *cor14b* (RT-qPCR w czasie rzeczywistym) i (4) poziom akumulacji białka *cor14b* (Western blot).

Wnioski

- dynamika parametru T_{EL50} (i poziomu mrozoodporności) była ściśle związana z warunkami środowiskowymi (temperatura), w których uprawiane były rośliny w fitotronie, w układzie: kontrola, prehartowanie, hartowanie, rozhartowanie i rehartowanie. Poziom mrozoodporności w warunkach hartowania, oznaczony w oparciu o parametr T_{EL50} , odzwierciedlał różnice w poziomie zimotrwałości obu genotypów.
- ekspresja genu *Cor14b* na poziomie transkryptu wzrastała istotnie w warunkach hartowania na mróz u obu form introgresywnych.
- poziom akumulacji transkryptu i białka genu *Cor14b* nie wykazywał związku z poziomem mrozoodporności badanych form introgresywnych PB1-10 i PB1-12.



Analiza stopnia porażenia roślin przez patogeny

Materiałem badawczym były diploidalne (2x) (populacje PB i x-7) i tetraploidalne (4x) (populacje BC3, PA i 173) formy introgresywne *L. perenne*/*F. pratensis* (**Lp/Fp**) – 20 genotypów dla każdej lokalizacji oraz tetraploidalne (4x) (populacja 185) formy *L. multiflorum*/*F. arundinacea* (**Lm/Fa**) – 20 genotypów dla każdej lokalizacji. Ocenę prowadzono w DANKO Hodowla Roślin w Szelejewie (Wielkopolska) oraz w GRUNWALD Hodowla Roślin w Mielnie (woj. warmińsko-mazurskie).

W woj. wielkopolskim na podstawie symptomów chorobowych stwierdzono występowanie rdzy żdźbłowej (*Puccinia graminis*), mączniaka traw (*Erysiphe graminis*) oraz plamistości liści powodowane przez grzyby *Drechslera* sp. Analiza mikroskopowa potwierdziła obserwacje polowe; stwierdzono występowanie licznych zarodników rdzy tzw. uredospor oraz oidiów, zarodników mączniaka. Z grzybów plamistości zidentyfikowano *Drechslera poe*, *D. dictyoides* i *D. siccans*. Ponadto, odnotowano liczne zarodniki grzyba *Alternaria alternata*, który często poraża rośliny wcześniej osłabione przez infekcję innymi patogenami. Głównymi sprawcami objawów chorobowych na liściach roślin w Szelejewie były rdza i mączniak.

Stopień porażenia roślin w woj. warmińsko-mazurskim był istotnie mniejszy niż w Wielkopolsce. W Hodowli Roślin GRUNWALD w Mielnie nie obserwowano występowania na badanych roślinach mączniaka, a tylko w niewielkim stopniu występowanie plamistości i rdzy.

Wyselekcjonowano 15 mieszańców o najwyższym poziomie odporności (Tabela 5).

Tabela 5. Formy introgresywne o najwyższym poziomie odporności na choroby		
Lm/Fa i Lp/Fp		
PB1-10/1	PB1-10/2	PB1-12/1
PA2-3/2	PA2-13/3	BC3/28/1
BC3/28/3	185/4/7 (7-25)	185/4/4 (2-25)
173/11-23/D2/2p3	173/4-48/A3/3p3	173/4-11/B1/1p1
173/4-11/A1/1p1	185/10/58 11-14 A11p8	185/4/7 2-8 B2p2

Podsumowanie/Wnioski

- w 2025 roku w woj. wielkopolskim badane trawy były bardziej podatne na mączniaka traw i rdzę żdźbłową w porównaniu do poprzednich lat realizacji projektu, jak też w porównaniu do traw uprawianych w woj. warmińsko-mazurskim.
- silne porażenie mączniakiem i rdzą w woj. wielkopolskim mogło być związane z cyklicznością występowania chorób na danym obszarze, tzw. epifitozą.

Analiza zdolności roślin do kwitnienia i zawiązywania nasion w warunkach naturalnych

Materiałem badawczym były tetraploidalne (4x) (populacja 185) formy introgresywne *L. multiflorum*/*F. arundinacea* (**Lm/Fa**) – 15 genotypów dla każdej lokalizacji (**I populacja**) oraz diploidalne (2x) (populacje PB i x-7) i tetraploidalne (4x) (populacje BC3, PA i 173) formy introgresywne *L. perenne*/*F. pratensis* (**Lp/Fp**) – 20 genotypów dla każdej lokalizacji (**II populacja**). Analizy prowadzono w DANKO Hodowla Roślin w Szelejewie (Wielkopolska) oraz w GRUNWALD Hodowla Roślin w Mielnie (woj. warmińsko-mazurskie).

Wszystkie badane rośliny I i II populacji w obu lokalizacjach wykazały zdolność do kłoszenia i miały pękające pylniki. Zdolność roślin do zawiązywania nasion w trakcie wolnego przepylenia w warunkach polowych zbadano dla 10 genotypów z woj. wielkopolskiego, po 5 dla każdej analizowanej populacji mieszańców. Wszystkie zbadane mieszańce wytwarzały nasiona (Tabela 6).

Tabela 6. Zdolność roślin do zawiązywania nasion

PB1-10/1	TAK
PB1-12/1	TAK
PB1/13/1	TAK
PA2-1/1	TAK
PA2-29/2	TAK
185/4/2 (6-25)	TAK
185/4/7 (1-25)	TAK
185/4/4 (2-25)	TAK
185/6/17 (18-25)	TAK
185/4/7 (13-25)	TAK

Podsumowanie/Wnioski

- wszystkie badane mieszańce *L. multiflorum*/*F. arundinacea* i *L. perenne*/*F. pratensis* wykazały zdolność do kłoszenia się i wytwarzania pękających pylników, co wskazuje na ich potencjalnie wysoką płodność męską.
- wyselekcjonowane mieszańce wykazały również zdolność do wytwarzania nasion.

Lp.	miernik	wartość miernika podana w opisie zadania	wartość miernika zrealizowana
Temat badawczy nr 1			
1.1	Liczba form introgresywnych traw badanych pod kątem zimotrwałości	100	100
1.2	Liczba wyselekcjonowanych form introgresywnych traw o najwyższym stopniu zimotrwałości	20	20
Temat badawczy nr 2			
2.1	Liczba badanych form introgresywnych pod kątem stopnia tolerancji suszy i/lub regeneracji po nawodnieniu	70	70
2.2	Liczba wyselekcjonowanych form introgresywnych o najwyższym stopniu tolerancji suszy i/lub regeneracji po nawodnieniu	10	10
Temat badawczy nr 3			
3.1	Liczba form introgresywnych traw badanych pod kątem trwałości w naturalnych warunkach polowych	80	80
3.2	Liczba wyselekcjonowanych form introgresywnych traw o najwyższej trwałości w naturalnych warunkach polowych	10	10
Temat badawczy nr 4			
4.1	Liczba zrealizowanych powtórzeń dla wyselekcjonowanych mieszańców w analizie fizjologiczno-molekularnych markerów mrozoodporności	3	3
Temat badawczy nr 5			
5.1	Liczba wyselekcjonowanych mieszańców o najwyższym poziomie odporności na choroby	15	15
Temat badawczy nr 6			
6.1	Liczba badanych genotypów w dwóch lokalizacjach, dla których określona zostanie zdolność roślin do kwitnienia i zawiązywania nasion	70	70
6.2	Liczba genotypów, dla których zbadana zostanie zdolność roślin do zawiązywania nasion	10	10