

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:

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

dr hab. inż. Krzysztof Mikołajczak, prof. IGR PAN

dr hab. Piotr Ogrodowicz

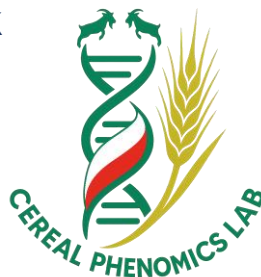
dr Michał Kempa

mgr Martyna Michałek

mgr Renata Trzeciak

Alina Anioła

Renata Holewińska



Zakład Biometrii i Bioinformatyki:

prof. dr hab. Paweł Krajewski

dr inż. Monika Mokrzycka

ALSIA-Metapontum Agrobios Research Center, Metaponto, Włochy

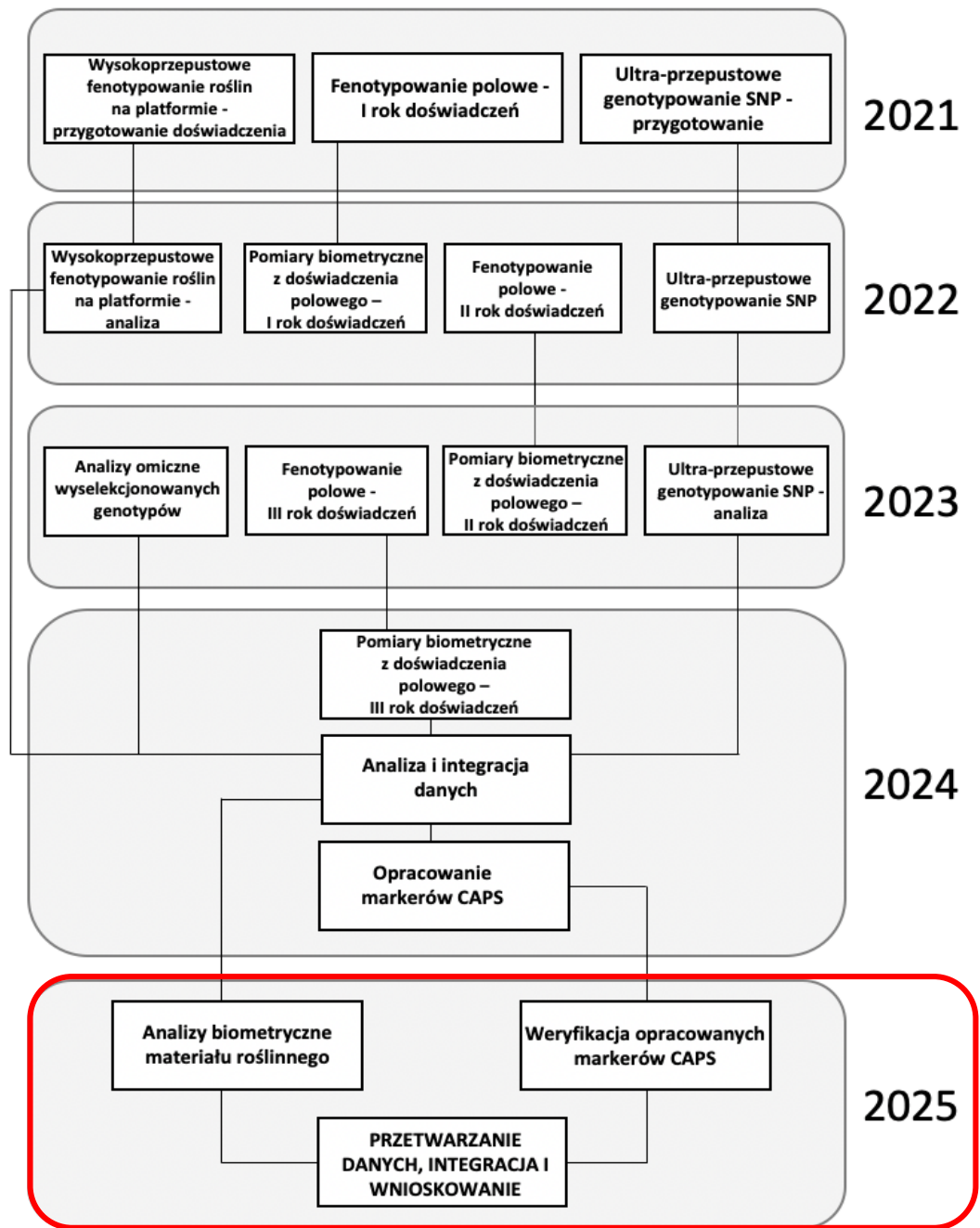
dr Francesco Cellini - Director of Research and Development

dr Angelo Petrozza

dr Stephan Summerer

Angelo Mossuto





Cele projektu w 2025 roku:

1. Analizy biometryczne materiału roślinnego z doświadczenia polowego - w pełni wykonane.
2. Weryfikacja opracowanych markerów CAPS - w pełni wykonane.
3. Przetwarzanie danych, integracja i wnioskowanie - w pełni wykonane.

Schemat projektu

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

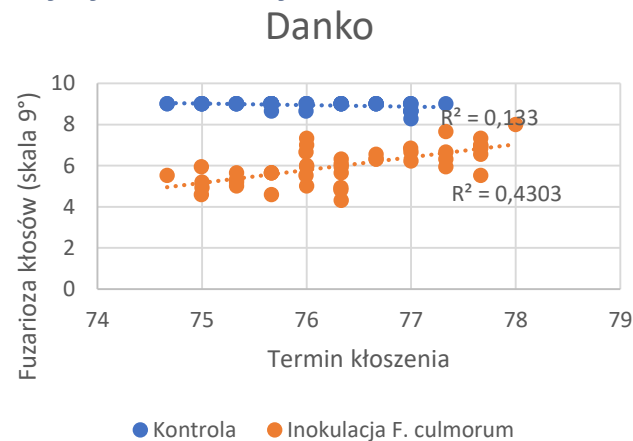
1. **Analizy biometryczne materiału roślinnego z doświadczenia polowego** – pomiary biometryczne cech plonotwórczych doświadczeń z 2023 roku prowadzonych w trzech lokalizacjach: Danko Hodowla Roślin Sp. z o.o. (Danko), Hodowla Roślin Strzelce Sp. z o.o. Grupa IHAR (STH), Poznańska Hodowla Roślin Sp. z o.o. (PHR) oraz w trzech warunkach środowiska: warunki naturalne (bez inokulacji), z zastosowaniem inokulacji *Fusarium culmorum* i z zastosowaniem inokulacji *Pyrenophora teres*.
2. **Weryfikacja opracowanych markerów CAPS** – dla sześciu markerów SNP o najsilniejszych sprzężeniach zidentyfikowanych w mapowaniu asocjacyjnym wykonano analizę *in silico* SNP2CAPS celem ich konwersji do markerów CAPS. Startery zostały opracowane przy użyciu oprogramowania Primer3 (www.primer3.ut.ee) oraz Multiple Primer Analyzer (www.thermofisher.com). Reakcje PCR dla pełnej puli genotypów były przeprowadzone z wykorzystaniem gotowego zestawu odczynników, stosując bufor HF z zestawu Thermo Scientific Phusion Hot Start II High-Fidelity DNA Polymerase kit. W celu wytypowania odpowiedniej endonukleazy zastosowano narzędzie Enzyme Finder (www.enzyme finder.neb.com) oraz NEBcutter (www.nc2.neb.com).
3. **Przetwarzanie danych, integracja i wnioskowanie** – zintegrowane badania, które miały za zadanie scharakteryzować różnice między równoczesnym a oddzielnym wpływem suszy i stresów biotycznych na rośliny.

Wyniki i wnioski

1. Analizy biometryczne materiału roślinnego z doświadczenia polowego

Analiza korelacji wykazała umiarkowaną zależność między terminem kłoszenia a podatnością na fuzariozę kłosów u genotypów Danko, co wskazuje, że wcześniejsze kłoszenie roślin w tej lokalizacji wiąże się z większą podatnością na infekcję przez *F. culmorum*. Obserwowana zależność wyłącznie w Danko może wynikać z większej rozpiętości dni kłoszenia oraz wyraźnego efektu inokulacji, umożliwiającego lepsze uwidocznienie różnic między genotypami. W PHR, pomimo znaczącego działania inokulacji, nie stwierdzono jednoznacznej korelacji, co może wynikać z większej jednorodności puli genotypów pod względem cech fenologicznych. W Strzelcach sztuczna inokulacja miała minimalny wpływ na porażenie roślin, przez co nie stwierdzono zależności między porażeniem a badanymi cechami fenotypowymi.

Analiza wybranych genotypów z Danko wykazała, że rośliny kłoszące w późniejszym terminie były bardziej odporne na porażenie przez *F. culmorum*, przy zbliżonym potencjale plonowania w porównaniu z formami kłoszącymi się wcześniej. Uzyskane wyniki mogą pomóc w doborze odmian jęczmienia do uprawy na terenach zagrożonych fuzariozą kłosów, gdyż w warunkach wysokiego ryzyka infekcji termin kłoszenia może istotnie wpływać na stopień porażenia.



Korelacja między fuzariozą kłosów a terminem kłoszenia roślin jęczmienia

Wyniki i wnioski

2. Weryfikacja opracowanych markerów CAPS

Zmiany w genomowej sekwencji kodującej wywołane polimorfizmem typu SNP mogą prowadzić do substytucji aminokwasu w kodowanym białku, co z kolei może wpływać na jego funkcję i powodować zmiany w fenotypie organizmu. Polimorfizmy SNP oddziałują jednak nie tylko na biologię białek, ale również na funkcjonowanie kwasów nukleinowych, ponieważ mogą powodować powstawanie lub zanik specyficznych miejsc w sekwencjach genomowych - zarówno kodujących, jak i niekodujących - rozpoznawanych przez enzymy restrykcyjne. Wykorzystuje to technika CAPS, która dzięki amplifikacji fragmentu DNA metodą PCR i jego selektywnemu trawieniu odpowiednią endonukleazą pozwala na identyfikację alleli polimorficznych i detekcję funkcjonalnych zmian w sekwencji genomowej. Zmiany te mogą być istotnie związane z cechami fenotypowymi i plonowaniem roślin uprawnych.

Przykładem takiej zmienności jest wykrycie dwóch miejsc rozpoznawanych przez endonukleazę BsaHKI w genie HORVU.MOREX.r3.7HG0652780, który - jak wykazała analiza statystyczna - wpływa na wysokość roślin. Oprócz sekwencji niosącej SNP (T/C) zidentyfikowanej w genie HORVU.MOREX.r3.7HG0658720 (chromosom 7H), tegoroczne analizy ujawniły dodatkowe locus niosące istotny statystycznie SNP (T/C) również na chromosomie 7H, zlokalizowany w genie HORVU.MOREX.r3.7HG0652780. Pomimo potwierdzenia ekspresji tego genu, kodowane przez niego białko F2D898 (UniProt) nie zostało dotąd szczegółowo scharakteryzowane. Dostępne informacje wskazują jednak, że białko to pełni funkcję metylotransferazy zależnej od S-adenozylu-L-metioniny (SAM). Enzymy te odgrywają kluczową rolę w procesach metylacji, regulując ekspresję genów, syntezę białek oraz szlaki metaboliczne. Funkcja ta może leżeć u podstaw obserwowanego statystycznego powiązania polimorfizmu w sekwencji kodującej z wysokością roślin jęczmienia jarego.

Wyniki i wnioski

3. Przetwarzanie danych, integracja i wnioskowanie

Przeprowadzono kompleksowe analizy omiczne na starannie wyselekcjonowanej grupie czterech reprezentatywnych genotypów jęczmienia jarego, obejmującej dwie formy o wysokiej wydajności w warunkach suszy (Danko20, PHR15) oraz dwie formy o niskiej tolerancji na ten stres (Danko5, STH15). Dobór materiału pozwolił na uchwycenie pełnego spektrum reakcji roślin i umożliwił przejrzyste przedstawienie przebiegu analiz oraz sposobu interpretacji wyników, stanowiąc podstawę do identyfikacji mechanizmów odpowiadających za zróżnicowaną adaptację do suszy.

1. Czas rozwoju roślin (T1 vs T2) okazał się głównym czynnikiem różnicującym odpowiedź transkryptomiczną, powodując najwięcej zmian w regulacji ekspresji genów.
2. Stres łączony suszy i plamistości siatkowej generował największą liczbę genów o zróżnicowanej ekspresji względem kontroli, wyraźnie silniej niż sam stres suszy czy łączony stres suszy i fuzariozy kłosów, niezależnie od genotypu.
3. Reakcje różnych genotypów były silnie zróżnicowane, jednak kierunek zmian ekspresji pod wpływem różnych typów stresów w tym samym czasie był podobny, wskazując na wspólne mechanizmy odpowiedzi na stresy abiotyczno-biotyczne.
4. Stres łączony suszy i plamistości siatkowej był najsilniejszym czynnikiem modulującym profil metabolitów, generując największą liczbę różnic względem kontroli w porównaniu ze stresem suszy czy łączonym stresem suszy i fuzariozy kłosów.
5. Wspólne wzorce reakcji były bardziej związane z etapem rozwojowym niż rodzajem stresu, co wskazuje, że dynamika metaboliczna roślin jest przede wszystkim kontrolowana czasowo, a dopiero wtórnie modulowana przez specyficzny typ stresu.

Wyniki i wnioski

3. Przetwarzanie danych, integracja i wnioskowanie

6. Wykryto 199 istotnych korelacji transkrypt-metabolit, które ujawniają wspólne i genotypowo specyficzne mechanizmy odpowiedzi roślin na badane oba stresy łączone.
7. Zidentyfikowane sieci regulacyjne łączą ekspresję genów z kluczowymi grupami metabolitów (aminokwasy, lipidy, fenole, pochodne cukrów), wskazując na aktywację i hamowanie konkretnych szlaków adaptacyjnych w określonych warunkach.
7. Wszystkie czynniki eksperymentalne (genotyp, stres, czas) istotnie wpływały na zmiany RWC, funkcjonowanie PSII oraz metabolizm pigmentów, a liczne interakcje między nimi potwierdziły wysoką genotypową specyficzność reakcji stresowych.
8. Parametry RWC i fluorescencji PSII pozwoliły ujawnić, że genotyp PHR15 utrzymuje najwyższą stabilność fizjologiczną w stresie, podczas gdy Danko20 reaguje największym spadkiem RWC i chlorofilu, co czyni go modelem wrażliwości na suszę i infekcje.
9. Susza i stresy łączone znacząco wpływały na cechy plonotwórcze, zwłaszcza masę 1000-ziaren i strukturę kłosa, ujawniając silne zróżnicowanie odporności genotypów.
10. Wszystkie stresy łączone ograniczały plon silniej niż sama susza, co potwierdzono w całej puli genotypów.

Wyniki i wnioski

3. Przetwarzanie danych, integracja i wnioskowanie

Scharakteryzowano reakcję form jęczmienia jarego na stres abiotyczny i biotyczny W prowadzonych w projekcie badaniach obejmujących kolekcję genotypów jęczmienia jarego z trzech polskich firm hodowlanych (Danko, PHR i STH) wykazano istotny wpływ zarówno stresów biotycznych, jak i warunków środowiskowych (stres abiotyczny) na reakcję roślin, stopień porażenia oraz poziom cech plonotwórczych. Otrzymane wyniki pozwalają na sformułowanie kilku kluczowych, powtarzalnych wniosków.

1. Duże znaczenie warunków środowiskowych w kształtowaniu nasilenia chorób.

We wszystkich latach badań potwierdzono, że warunki klimatyczne (wilgotność, właściwości gleby, mikroklimat) były dominującym czynnikiem różnicującym podatność genotypów i efektywność inokulacji, zarówno fuzariozy kłosów, jak i plamistości siatkowej.

- W warunkach wyższej wilgotności (lokalizacje Danko i PHR w latach, gdy panowały korzystne warunki dla patogenów) infekcje *F. culmorum* były znacznie silniejsze.
- W stacji STH, charakteryzującej się na ogół mniej sprzyjającymi dla patogenów warunkami siedliskowymi, intensywność porażenia była powtarzalnie najniższa, mimo zastosowanej inokulacji.
- Obserwowane corocznie naturalne porażenie świadczy o stałej presji patogenów, ale jego nasilenie było także uzależnione od warunków meteorologicznych.

2. Plamistość siatkowa jęczmienia była stresem umiarkowanym i silnie zależnym od lokalizacji.

Zabiegi inokulacyjne *P. teres* wykazywały:

- niewielki lub umiarkowany wpływ na porażenie roślin w Danko i PHR (często porównywalny do kontroli);
- największą efektywność inokulacji w STH, w którym odnotowywano najwyraźniejsze różnice względem kontroli;
- wpływ na cechy plonotwórcze był zauważalny, ale znacznie słabszy niż w przypadku *F. culmorum*.

Wyniki i wnioski

3. Przetwarzanie danych, integracja i wnioskowanie

Fuzarioza kłosów była najsilniejszym stresem biotycznym w każdym roku doświadczenia polowego.

We wszystkich trzech latach:

- inokulacja *F. culmorum* konsekwentnie wywoływała wyraźny wzrost porażenia roślin;
- największą podatność ujawniano zazwyczaj w Danko i PHR, natomiast w STH obserwowano niższy poziom infekcji nawet po inokulacji;
- masa ziarna i masa tysiąca ziaren ulegały w wyniku infekcji największym redukcjom, często przy braku istotnych zmian liczby ziaren w kłosie (ziarno było mniejsze i słabiej wykształcone, niekoniecznie mniej liczne).

4. W przypadku cech plonotwórczych największe straty dotyczyły masy ziarna i masy z kłosa.

Niezależnie od roku badań i lokalizacji wykazano, że:

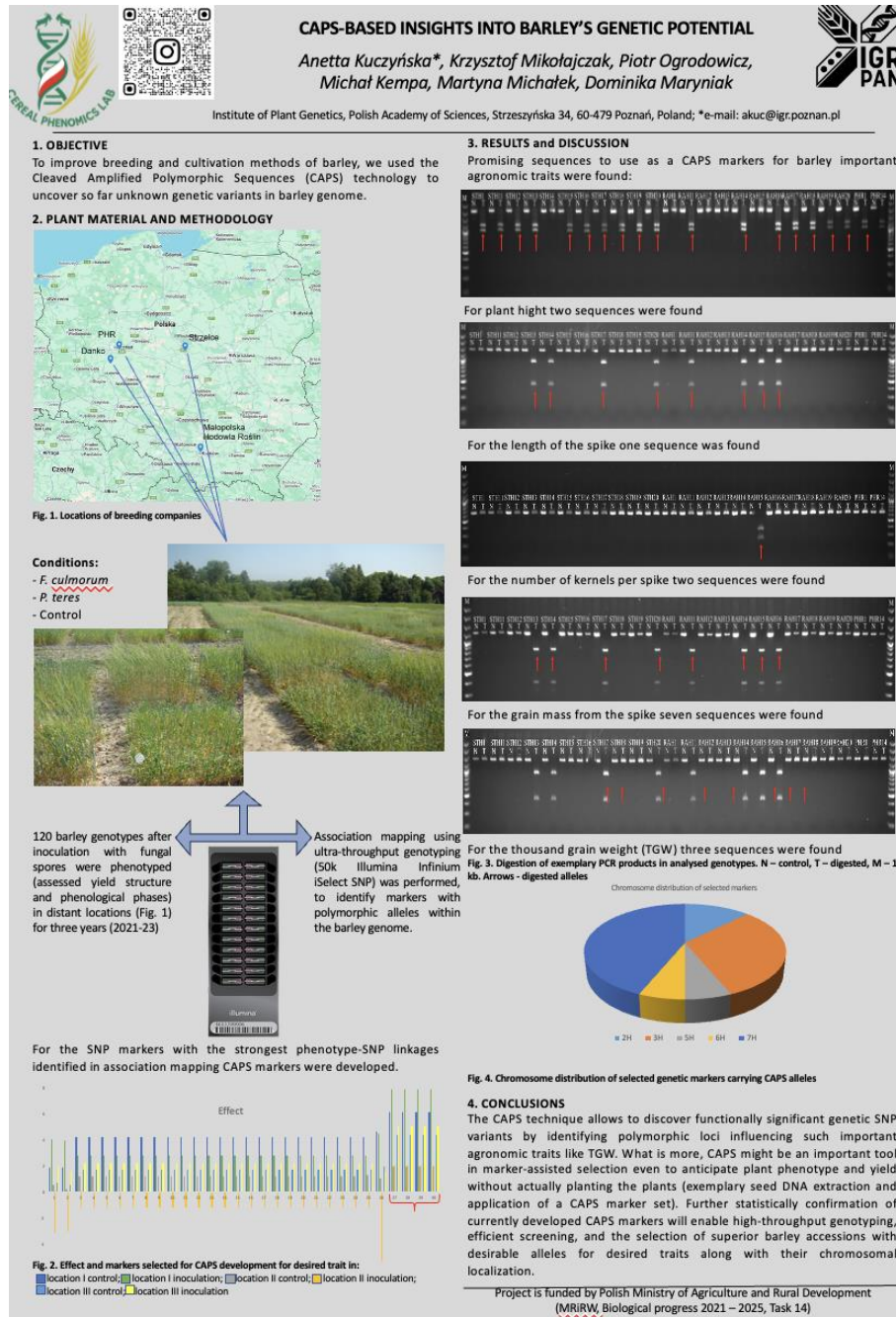
- liczba ziaren w kłosie była stosunkowo stabilna, nawet przy znacznym porażeniu *F. culmorum*;
- głównym źródłem strat plonu był spadek masy ziarna z kłosa a w konsekwencji obniżona masa tysiąca ziaren;
- w przypadku *P. teres* efekty były słabsze, ale również obserwowane we wszystkich latach.

5. Zgodność reakcji genotypów w analizach wielowymiarowych.

Trzyletnie analizy potwierdziły:

- podobne grupowanie genotypów w zależności od rodzaju stresu, szczególnie w lokalizacjach Danko i PHR,
- większą odrębność genotypów z STH,
- separację genotypów inokulowanych *F. culmorum* od prób kontrolnych i inokulowanych *P. teres*.

Wykaz publikacji wyników projektu w 2025 r.



Plakat prezentowany na The European Cereals Genetics Co-operative Conference, 11-13.11.2025 r., Budapeszt, Węgry; zaprezentowano wyniki badań uzyskanych w ramach tematu badawczego 2 i 3 w 2024 roku oraz tematu badawczego 2 w 2025 roku