

# SPRAWOZDANIE MERYTORYCZNE

z realizacji zadania na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej w  
2021 roku

zadanie nr: 9

Precyzyjna fenomika, telemetria modulowanej fluorescencji i temperatury  
roślin dla modelowania, optymalizacji i przyspieszenia procesu hodowli  
żyta (*Secale cereale* L.)

Kierownik zadania:

**Prof. dr hab. inż. Stanisław M. Karpiński**

SGGW w Warszawie,

Instytut Biologii,

Katedra Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin

[Stanislaw\\_Karpinski@sggw.edu.pl](mailto:Stanislaw_Karpinski@sggw.edu.pl)

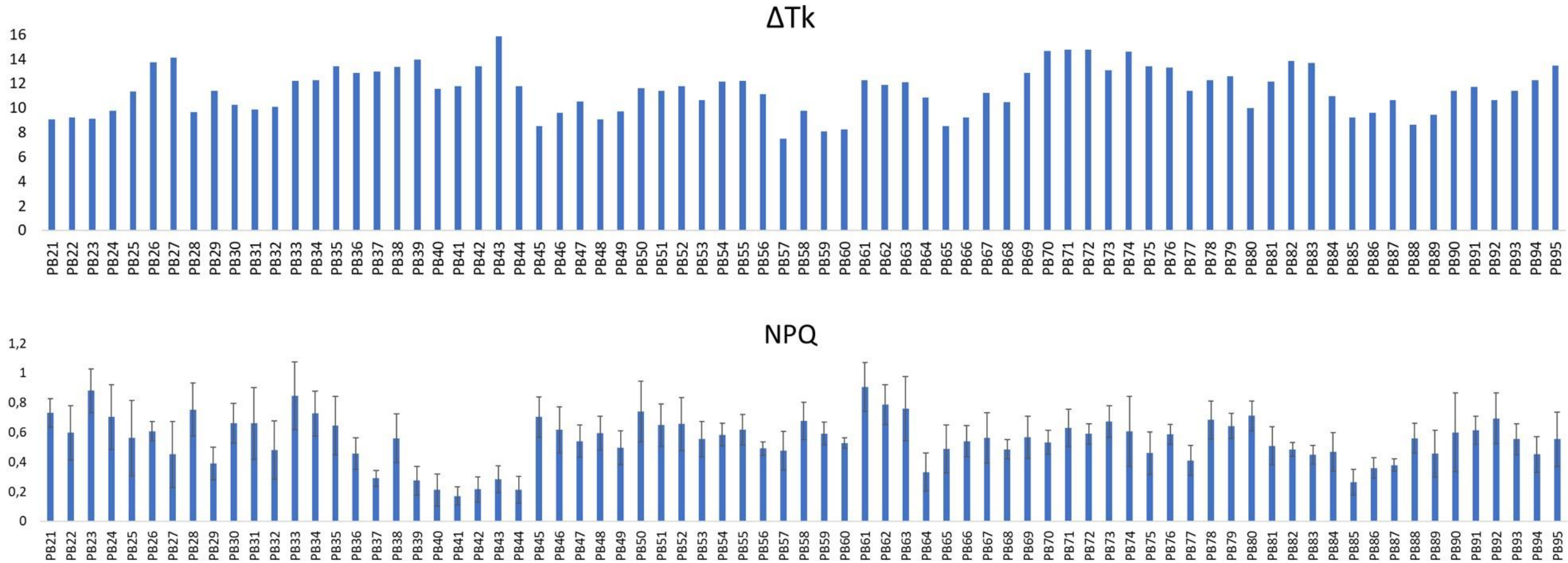
# Cele zadania:

- Określenie różnic/podobieństw w komponentach żyta użytych do krzyżowań (obiektach) względem stabilnej linii referencyjnej TUR w mierzonych telemetrycznie parametrach fluorescencyjnych chlorofilu i różnic temperatury liści eksponowanych na niskie i wysokie natężenie światła na wczesnym etapie rozwoju rośliny.
- zbadanie poziomów kwasu salicylowego, nadtlenu wodoru i pigmentów (chlorofile i karotenoidy) na wczesnym etapie rozwoju oraz plonowania komponentów i mieszańców.
- Znalezienie in silico nowych markerów molekularnych żyta w tym homologów czy ortologów MPK4, WSK1, LSD1, EDS1, PAD4, CRK5, CRK2, HSP70, HSP90, APX, CAT, SOD, fosfataz, i innych. Przygotowanie przynajmniej 12 sekwencji starterów do amplifikacji cDNA dla ww. wymienionych markerów.
- wstępne określenie poziomu korelacji parametrów molekularnych i fizjologicznych z parametrami telemetrycznymi (modulowana fluorescencja i temperatura liści).

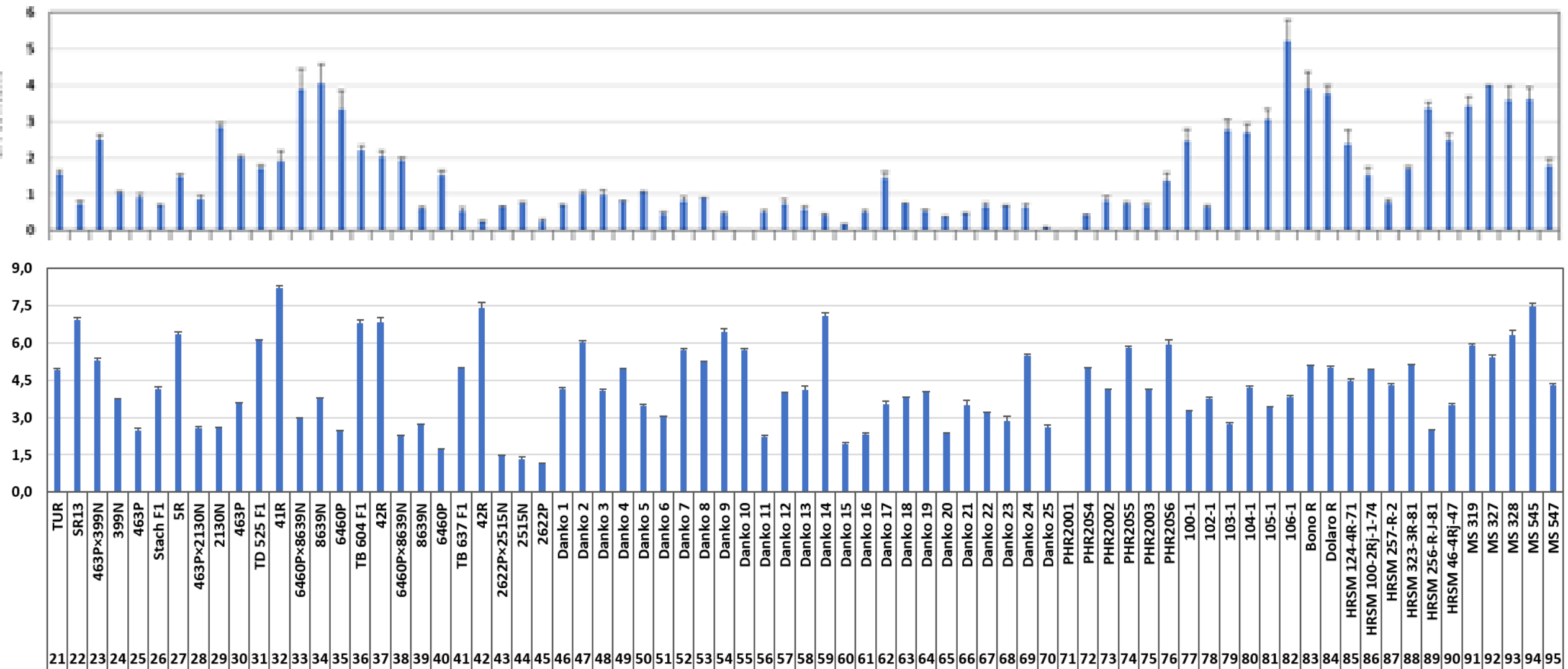
# Materiały i metody:

- Pomiar modułowanej fluorescencji chlorofilu i temperatury liści.
- Biochemiczne pomiary poziomów kwasu salicylowego, nadtlenu wodoru, chlorofili i pigmentów w liściach żyta.
- Pomiar morfologiczny i plonowania nasion.
- Zidentyfikowanie homologicznych sekwencji genów (markerów) w życie z wykorzystaniem poznanej sekwencji genomu żyta.
- Statystyczne i matematyczne analizy korelacji cech.

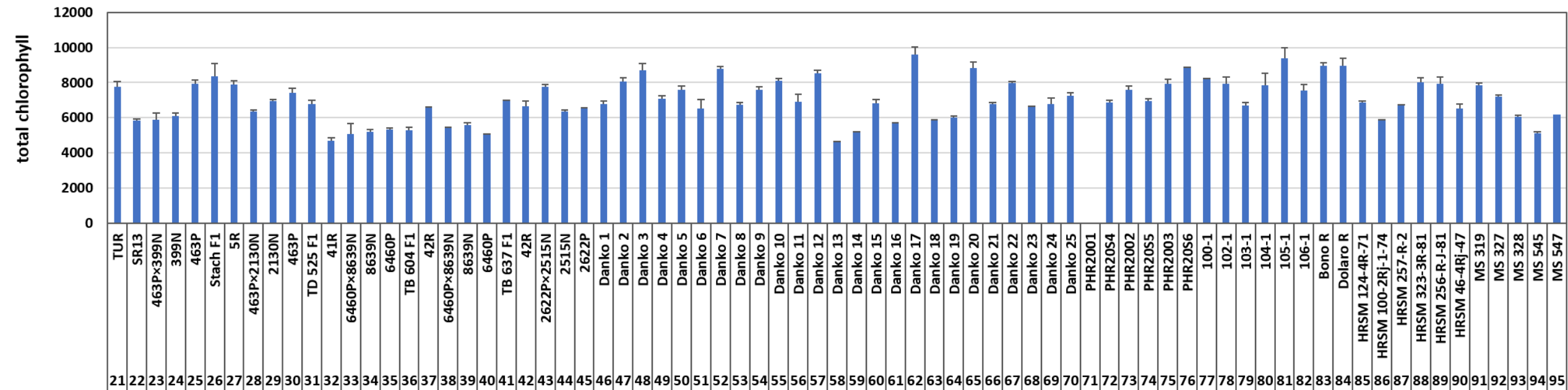
# Wyniki:



Pomiary różnic temperatury liści (delta TK w stopniach C) w niskim (100 mE) i wysokim (2000 mE) oświetleniu (górny wykres) oraz pomiar nefotochemicznego wygaszania energii wzbudzenia (NPQ) w liściach mieszańców i komponentach tych mieszańców żyta (dolny wykres).



Pomiar poziomu (mikrogramy /g FW) totalnego SA (górny wykres) i poziomu ( $\mu\text{mol} /100 \text{ mg FW}$ )  $\text{H}_2\text{O}_2$  (dolny wykres) w liściach mieszańców i komponentów żyta.



Relatywny pomiar zawartości totalnego chlorofilu (w 1 µg FW) w liściach mieszańców i komponentów żyta

**Tabela 8.** Sekwencje starterów F i R dla 6 wybranych genów markerowych żyta.

<b>Gene name</b>	<b>Primer F</b>	<b>Primer R</b>
SECCE7Rv1G0486810.1	AACCAGATCGATGCCAAACG	GTTGAAGTTCTCCCGCCTTG
SECCE5Rv1G0303330.1	ATGCATGCACCAAACGGAAT	ATGCATGCACCAAACGGAAT
SECCE5Rv1G0326310.1	CCTGCTCTTTCATGGGATGC	CAGTTGTTTCGGTGCTTGTC
SECCE2Rv1G0089270.1	CACCAGTAACCCACCATCT	CCAATCATCCTCCCGCCTAT
SECCE2Rv1G0068940.1	CTGAGTGGGGAGAAGGAAGG	CCGCAGCATATTTGTCCACA
SECCE6Rv1G0413300.1	TCAAGATGCGTGAGATTGCG	GCCTCTGCGAGTCATTGAAG

## **DYSKUSJA:**

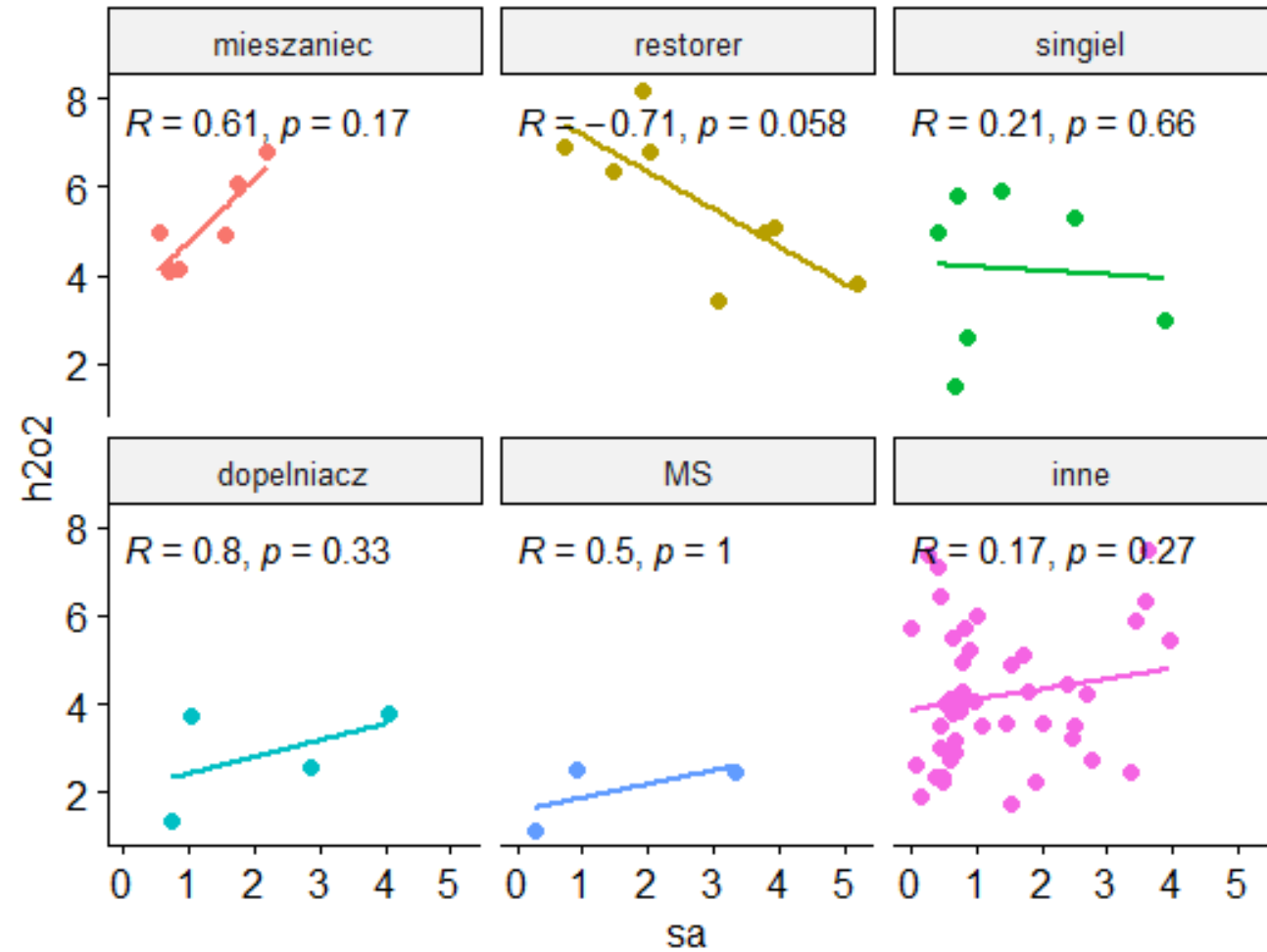
W wybranych parametrach modulowanej fluorescencji chlorofilu i delty TK obserwuje się duże zróżnicowanie wartości tych parametrów. PB21 jest linią referencyjną TUR a PB26 to starsza odmiana STACH. Wartości tych parametrów są zróżnicowane w poszczególnych mieszańcach i komponentach żyta, co wskazuje, że będą przydatne do badania korelacji i algorytmowych zależności. Parametr NPQ mówi nam o tym jak roślina reguluje podział zabsorbowanej energii między fluorescencją, ciepłem a fotosyntezą. Im wyższa wartość parametru NPQ tym więcej zabsorbowanej energii jest rozpraszane jako fluorescencja i ciepło a tym mniej przeznaczone na fotosyntezę (wzrost i rozwój rośliny). Podobnie jest z deltą TK. By zbadać generalne korelacje, dla poszczególnych parametrów, zostały wyliczone wartości korelacji na podstawie współczynnika korelacji Spearmana.

- Na pierwszy rzut oka rzuca się wyraźna odwrotna korelacja w dopełniaczach pomiędzy wiolaksantyną, anteraksantyną i luteiną a deltą TKmax (dla roślin mierzonych w maju). Identyczna korelacja w niewielkim stopniu obserwowana jest w liniach męsko sterylnych. Ta zależność jest całkowicie odwrócona w pozostałych liniach (singiel, restorer, mieszaniec). W singlach widać wyraźną odwrotną korelację pomiędzy parametrami fluorescencyjnymi QYmax, RFD, NPQ a temperaturą minimalną, a co za tym idzie deltą TK dla roślin mierzonych w maju. W największym stopniu widać to w singlach (0,5-0,75), ale również w restorerach (0,5) i w mniejszym stopniu w mieszańcach (0,25-0,5). Zwłaszcza parametr NPQ jest wyraźnie negatywnie skorelowany z deltą TK. W dopełniaczach sytuacja jest odwrotna i tam obserwujemy pozytywną korelację pomiędzy parametrami fluorescencyjnymi a deltą TK.
- Jak widać restorery mają zdecydowanie najwyższy poziom  $H_2O_2$ , podczas gdy w liniach męsko sterylnych jest on ponad 2-krotnie niższy. Wydaje się to odwrotnie skorelowane z NPQ, gdyż NPQ jest z kolei najwyższe w liniach męsko sterylnych, a najniższe w restorerach. To jest zgodne ze stanem wiedzy, że NPQ jest negatywnie skorelowane z poziomem  $H_2O_2$ . Identyczny wzorzec jest w przypadku stosunku chlorofilu a/b. W restorerach wyższy jest też poziom kwasu salicylowego i luteiny.



funkcja

- mieszaniec
- singiel
- MS
- restorer
- dopelniacz
- inne



- Zauważamy również korelację między  $H_2O_2$  a kwasem salicylowym (SA). Jak widać restorery (i w niewielkim stopniu single) mają odwrotne korelacje w stosunku do mieszańców i innych linii – wykazują korelację negatywną, podczas gdy większość pozostałych grup wykazuje korelację pozytywną.
- Biorąc pod uwagę, że mieszaniec F1 powstaje jako rezultat skrzyżowania restorera z singlem należy zwrócić baczną uwagę na następujące przeciwstawne korelacje: Jeśli poziom  $H_2O_2$  jest niższy w singlu a wyższy w restorerze to w mieszańcu F1 uzyskuje on pośrednią wartość. Podobnie jest dla chlorofilu b (chl. b), luteiny (lut), liczby kłosów (n-kłos) i ziarniaków w kłosie (a-ziarniak), dla kwasu salicylowego (sa) i dla delty TK mierzonej w kwietniu (TK max4). Dla masy tysiąca ziaren (MST) i parametru NPQ mamy odwrotną zależność między singlem a restorerem.

# Wnioski:

- Zauważono silną negatywną korelację pomiędzy ilością kłosów a stosunkiem chl a/b w mieszańcu.
- Z rezerwą należy patrzeć na pozytywną korelację w mieszańcach F1 pomiędzy poziomem  $H_2O_2$  a masą ziarniaków (plonem) oraz ilością ziarniaków.
- Należy zwrócić baczną uwagę na przeciwstawne korelacje pomiędzy mieszańcami a ostatnimi komponentami tego mieszańca (singel i restorer).
- Wyselekcjonowano startery dla 6 genów markerowych w życie.
- Wstępne rezultaty wskazują, że wprowadzenie do hodowli żyta nowych biochemicznych i fizjologicznych markerów (SA,  $H_2O_2$ , chl a/b, luteiny,  $\Delta T$ ), w tym markerów (cech) mierzonych telemetrycznie ( $\Delta T$ ), umożliwi przyspieszenie procesu i zoptymalizowanie kosztów hodowli nowych odmian żyta.