

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

Analiza danych z lat 2021-2025

- Zostały określone różnice/podobieństwa w komponentach żyta użytych do krzyżowań (obiektych) względem stabilnej linii referencyjnej TUR w mierzonych telemetrycznie parametrach fluorescencyjnych chlorofilu liści eksponowanych na niskie i wysokie natężenie światła na wczesnym etapie rozwoju rośliny.
- Zostały zbadane poziomy kwasu salicylowego, nadtlenu wodoru i pigmentów (chlorofilu i karotenoidy). Zostały określone różnice w ekspresji wybranych markerów molekularnych (APX1, LSD1, EDS) w porównaniu do dwóch genów referencyjnych żyta. Została zmierzona wymiana gazowa i liczba aparatów szparkowych oraz plon nasion w tych zróżnicowanych obiektach.
- Celem tych badań jest wstępne określenie poziomu dyskretnej korelacji parametrów molekularnych, fizjologicznych z parametrami telemetrycznymi (modulowana fluorescencja chlorofilu a) i z liczbą kłosów i plonem nasion.

Materiały i metody

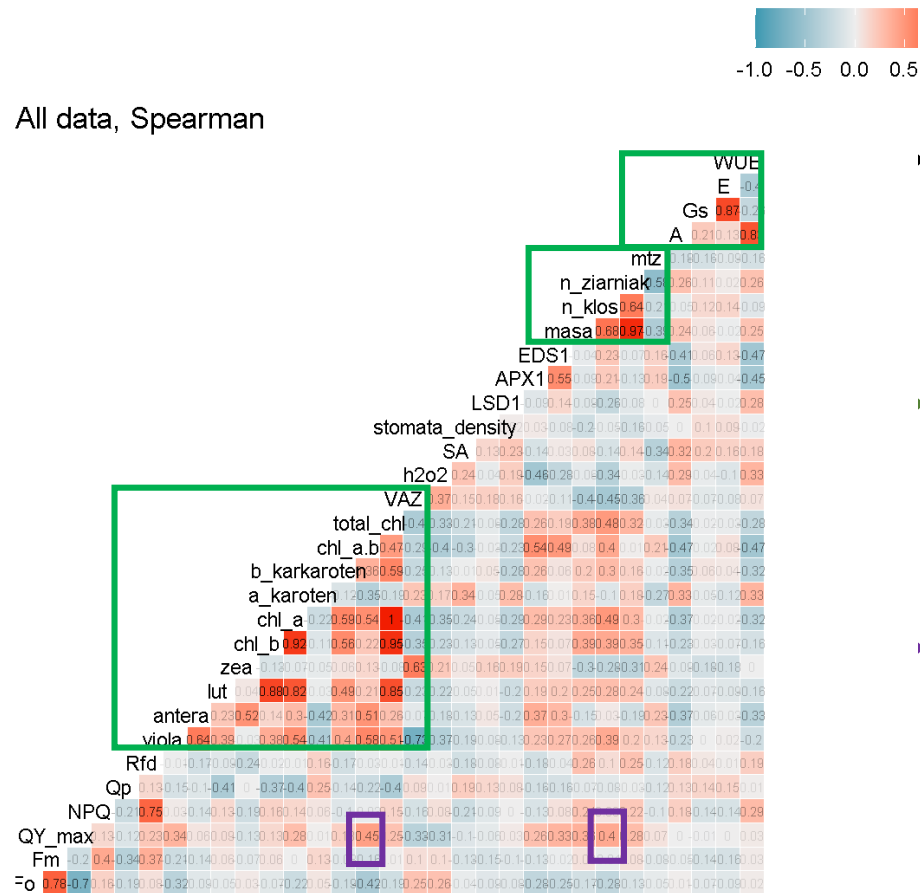
Wykonano pomiary 27 cech na 28 obiektach żyta

- Pomiary modulowanej fluorescencji chlorofilu
- Biochemiczne pomiary poziomu kwasu salicylowego, nadtlenu wodoru, chlorofili i pigmentów fotosyntetycznych w liściach żyta (liście)
- Pomiary morfologiczne i plonowania (po zbiorze)
- Analiza ekspresji wybranych genów z wykorzystaniem qRT-PCR (liście)
- Analiza morfologiczna aparatów szparkowych i pomiary wymiany gazowej (liście)
- Statystyczne i matematyczne analizy korelacji cech

Streszczenie

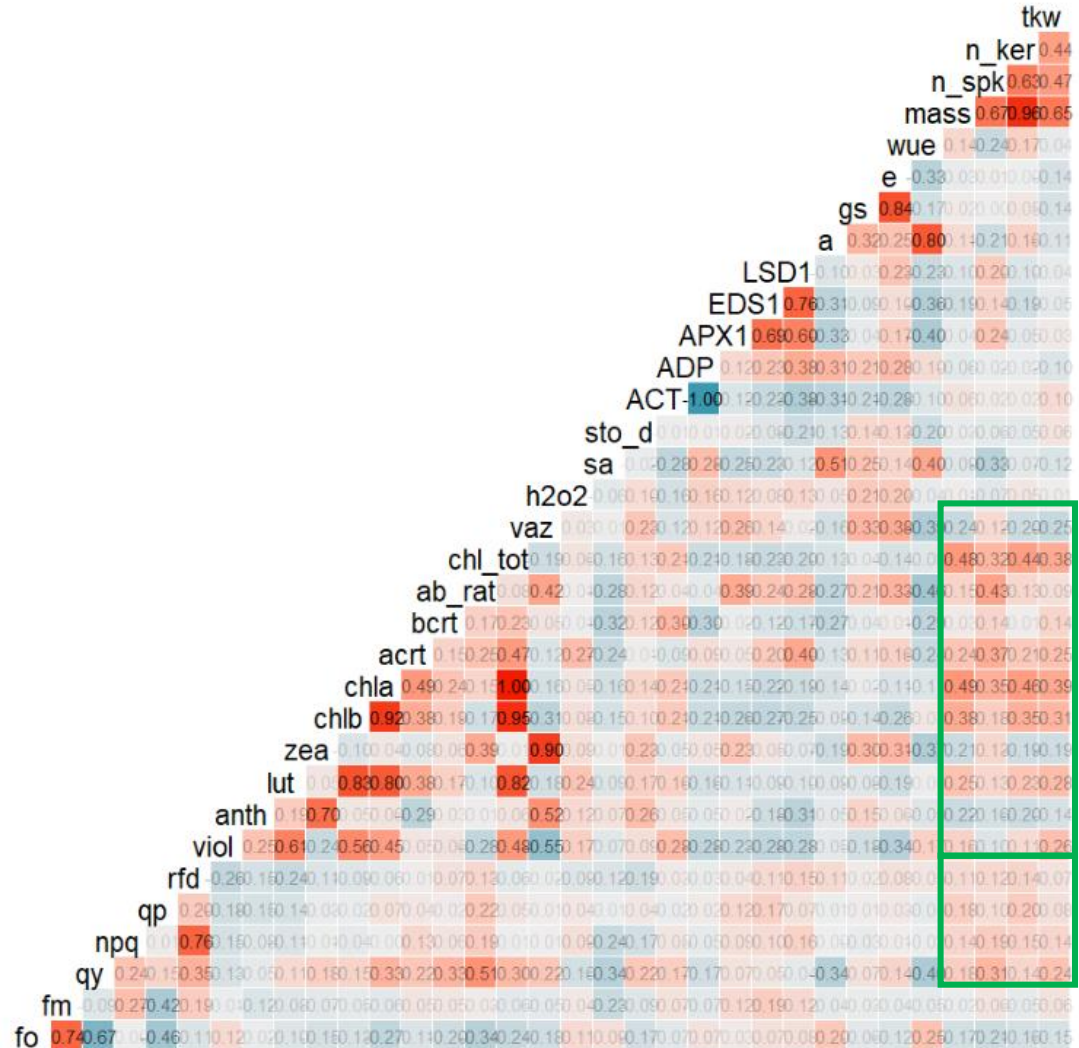
- Poprawa plonowania żyta (*Secale cereale*) w warunkach globalnego ocieplenia pozostaje głównym wyzwaniem dla zrównoważonej produkcji zbóż. Aby temu zaradzić, zbadaliśmy możliwość istnienia wyraźnych i ujawniających się powiązań między wybranymi parametrami fizjologicznymi, biochemicznymi i molekularnymi mierzonymi w liściach we wczesnej fazie wzrostu wegetatywnego a końcowym plonem ziarna. W wieloletnich eksperymentach przeprowadzonych w warunkach zimnej szklarni zintegrowaliśmy pomiary parametrów fluorescencji chlorofilu a, składu pigmentu, poziomów nadtlenku wodoru (H_2O_2) i kwasu salicylowego oraz profile ekspresji genów wybranych genów związanych z antyoksydantami i mechanizmami obronnymi z końcowymi danymi dotyczącymi plonu dla wszystkich rodzicielskich komponentów genetycznych wykorzystanych w hodowli mieszańcowej.
- Analizy wieloczynnikowe zidentyfikowały maksymalną wydajność fotosyntezy (F_v/F_m , Rfd), zawartość chlorofilu i poziom reaktywnych form tlenu (H_2O_2) w liściach jako spójne i istotne predyktory masy ziarniaków, liczby kłosów i liczby ziarniaków.
- Natomiast wygaszanie niefotochemiczne, zawartość kwasu salicylowego i karotenoidów w liściach nie były wiarygodnymi predyktorami.
- Nasze odkrycia potwierdzają hipotezę, że poziomy F_v/F_m , Rfd, chlorofilu i H_2O_2 – odzwierciedlające komórkową homeostazę młodych liści – odgrywają kluczową rolę w sukcesie reprodukcyjnym.
- Stabilne dyskretne korelacje cecha-plon obserwowane w wielu sezonach (2022-2025) wspierają opracowanie wskaźnika odporności fizjologicznej dla hodowli mieszańcowej żyta. To z kolei stanowi solidną podstawę do zastosowania wysokowydajnego fenotypowania na wczesnym etapie w celu przyspieszenia hodowli wysokoplennych odmian żyta.

Analiza korelacji badanych cech w 2024 r.



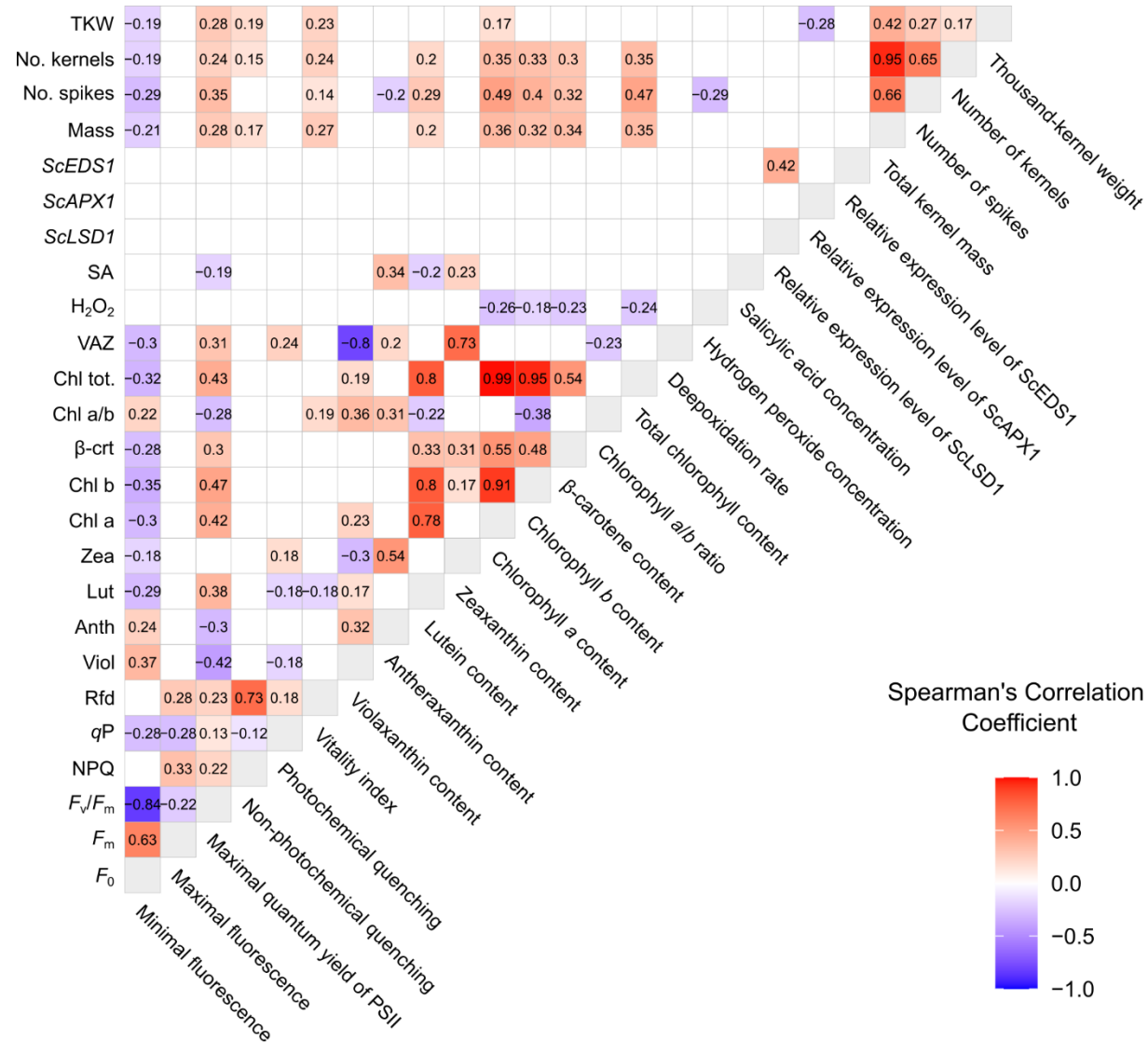
- Wykonano analizę korelacji między wszystkimi badanymi cechami.
- Największe korelacje występują w obrębie grup badanych cech (np. barwniki fotosyntetyczne, plonowanie czy WUE, wymiana gazowa)
- Występują również korelacje między cechami z różnych grup (Fv/Fm i chl. a/b czy mtz)

Analiza korelacji badanych cech w 2025 r.



- Wykonano analizę korelacji między wszystkimi badanymi cechami.
- Największe korelacje występują w obrębie grup badanych cech (np. barwniki fotosyntetyczne, plonowanie)
- Występują również korelacje między cechami z różnych grup (Fv/Fm i chl. a/b)

Mapa pokazująca współczynniki korelacji Spearmana dla cech fizjologicznych, molekularnych i plonu z lat 2021 - 2025.

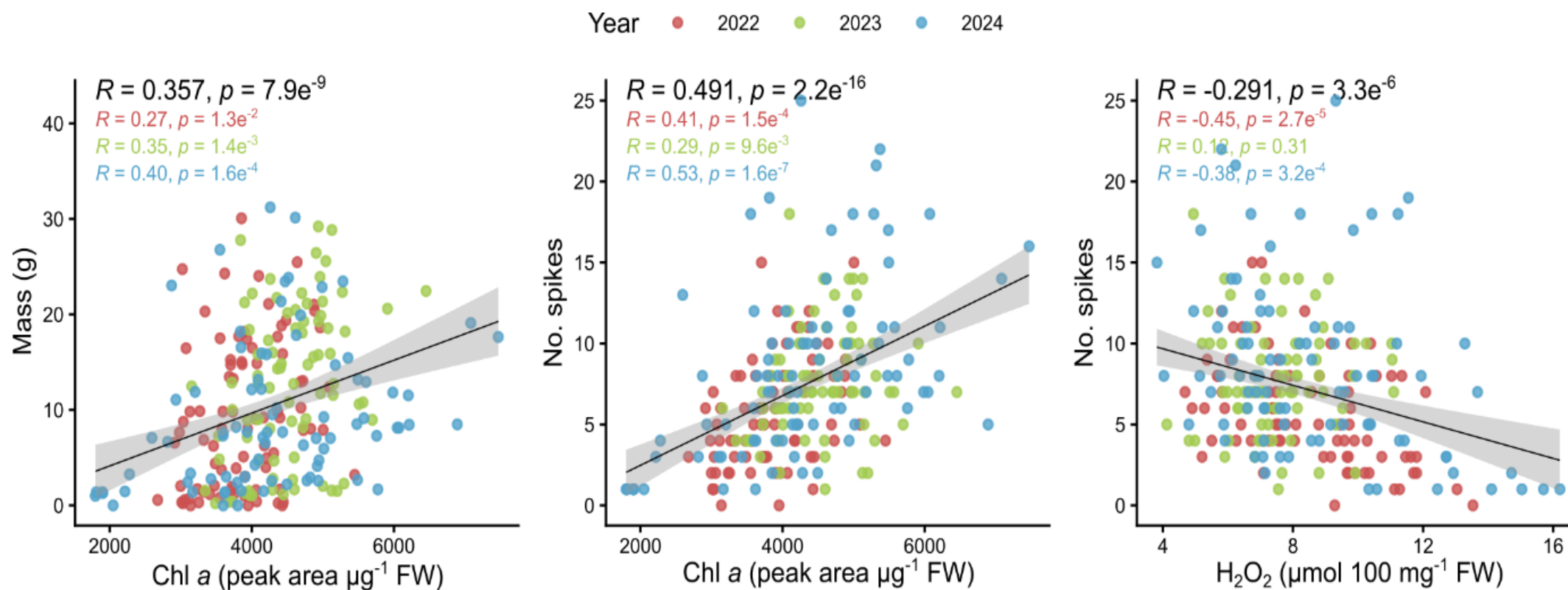


- Współczynniki korelacji Spearmana obliczono w celu oceny zależności między cechami. Zgodnie z oczekiwaniami, najbardziej istotne korelacje wystąpiły w obrębie grup parametrów. Wśród cech fluorescencyjnych, Rfd i NPQ korelowały dodatnio ($R = 0,73$, $p < 2,2 \times 10^{-16}$), natomiast Fv/Fm i F₀ wykazywały silną korelację ujemną ($R = -0,84$, $p < 2,2 \times 10^{-16}$). Cechy zawartości pigmentu również korelowały silnie, przy czym Chl a i Chl b były ściśle powiązane ($R = 0,91$, $p < 2,2 \times 10^{-16}$), natomiast VAZ korelował ujemnie z zawartością wiołaksantyny ($R = -0,79$, $p < 2,2 \times 10^{-16}$). Cechy plonu wykazywały podobny wzorzec, przy czym liczba ziaren i całkowita masa ziaren były niemal idealnie skorelowane ($R = 0,95$, $p < 2,2 \times 10^{-16}$). Spośród markerów molekularnych ekspresja ScEDS1 i ScLSD1 korelowała dodatnio ($R = 0,42$, $p = 2,9 \times 10^{-5}$), co jest zgodne z ich znaną rolą w regulacji śmierci komórek w odpowiedzi na stres biotyczny i abiotyczny.
- Korelacje międzygrupowe były generalnie słabsze, ale zaobserwowano kilka istotnych powiązań. Chlorofil a korelował z całkowitą masą ziarniaków ($R = 0,36$, $p = 7,9 \times 10^{-9}$) i liczbą kłosów ($R = 0,49$, $p = 2,2 \times 10^{-16}$), co sugeruje, że większa alokacja w antenach zbierających światło dla fotosystemu II sprzyja rozwojowi reprodukcyjnemu. Maksymalna wydajność fotosyntezy (parametr Fv/Fm) mierzona na wczesnym etapie rozwoju liści żyta korelowała dodatnio z cechami plonu takimi jak: całkowita masa ziarna ($R = 0,28$, $p = 4,1 \times 10^{-10}$), liczba kłosów ($R = 0,35$, $p = 1,8 \times 10^{-15}$) i liczba ziaren ($R = 0,24$, $p = 1,8 \times 10^{-7}$) – co wskazuje, że wyższa wydajność PSII poprawia plonowanie. β -karoten korelował również z masą ziarna ($R = 0,34$, $p = 4,4 \times 10^{-8}$), co jest zgodne z fotoprotekcją pośredniczoną przez karotenoidy wspierającą lepszą produktywność w warunkach zmiennego światła.

Średnie wartości parametrów fizjologicznych, biochemicznych, molekularnych i wydajnościowych we wszystkich analizowanych obiektach. Względą zmianę krotności (RFC) zdefiniowano jako stosunek wartości maksymalnych do minimalnych obserwowanych dla danego parametru we wszystkich analizowanych obiektach.

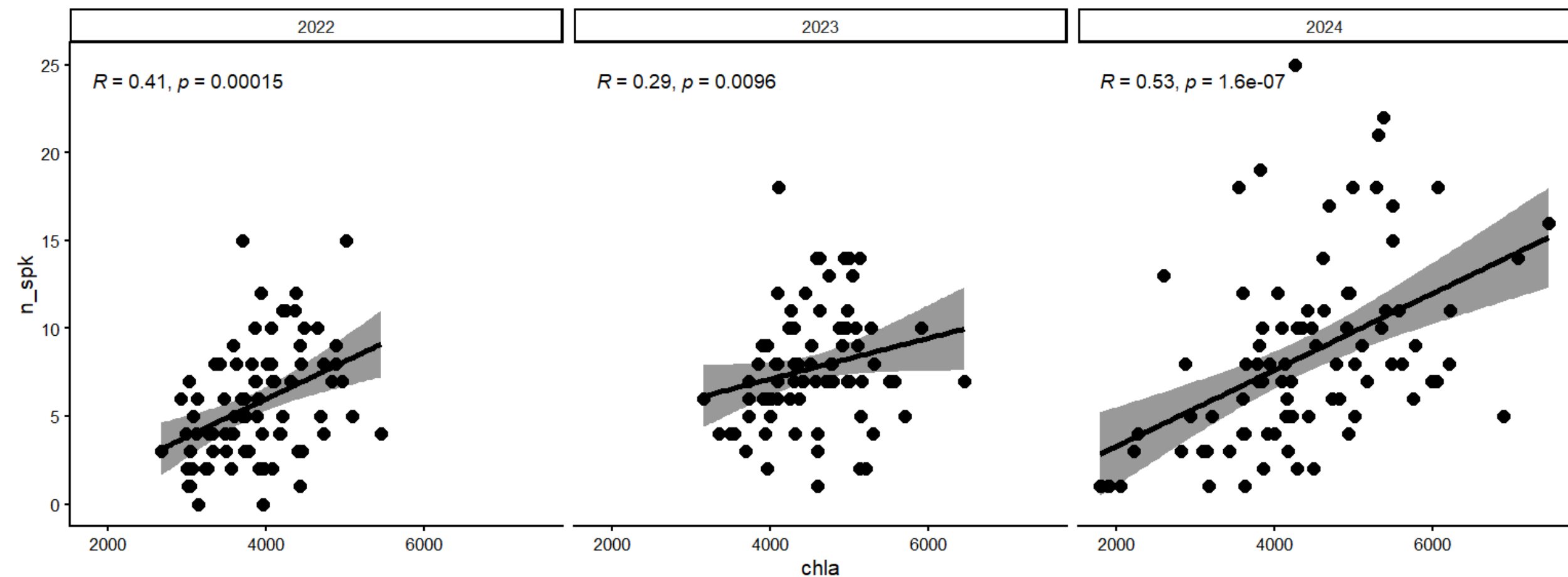
Trait	PB21	PB22	PB23	PB24	PB25	PB26	PB27	PB28	PB29	PB31	PB32	PB33	PB34	PB35	RFC
F_0	100	103	126	175	113	104	118	92	101	97	98	103	113	127	1.91
F_m	497	486	535	578	434	522	513	497	474	487	439	460	487	467	1.33
F_v/F_m	0.80	0.79	0.78	0.62	0.75	0.80	0.77	0.82	0.79	0.81	0.78	0.78	0.77	0.73	1.31
NPQ	0.98	0.81	1.07	0.86	0.68	1.14	1.00	1.05	0.77	1.03	0.72	1.08	0.87	0.90	1.69
qP	0.68	0.70	0.67	0.63	0.66	0.65	0.66	0.70	0.75	0.66	0.70	0.68	0.70	0.66	1.19
Rfd	1.61	1.49	1.70	0.97	1.21	1.83	1.47	2.03	1.43	1.54	1.31	1.55	1.55	1.12	2.09
Violaxanthin content (peak area μg^{-1} FW)	724	820	818	852	672	704	817	612	572	614	470	718	739	728	1.81
Antheraxanthin content (peak area μg^{-1} FW)	89	94	102	106	112	99	110	108	111	90	85	99	115	102	1.36
Lutein content (peak area μg^{-1} FW)	1811	1979	1926	2100	1625	1994	2116	1748	1731	1796	1806	1939	1763	1695	1.30
Zeaxanthin content (peak area μg^{-1} FW)	67	65	66	79	84	70	69	86	87	71	73	84	81	61	1.42
Chlorophyll <i>b</i> content (peak area μg^{-1} FW)	1388	1466	1490	1531	1164	1617	1613	1287	1181	1404	1392	1478	1353	1290	1.39
Chlorophyll <i>a</i> content (peak area μg^{-1} FW)	4103	4334	4618	4119	3676	5061	5004	4122	3802	4147	4164	4529	4076	3859	1.38
β -carotene content (peak area μg^{-1} FW)	1066	1251	1139	939	976	1126	1111	1007	1152	1119	1093	1215	1170	1004	1.33
Chlorophyll <i>a/b</i> ratio	2.96	3.00	3.11	2.73	3.14	3.16	3.08	3.23	3.25	3.00	3.00	3.07	3.02	3.01	1.19
Total chlorophyll content (peak area μg^{-1} FW)	5490	5800	6108	5650	4840	6678	6617	5410	4983	5551	5556	6007	5429	5149	1.38
Deepoxidation rate	0.13	0.12	0.12	0.13	0.17	0.15	0.14	0.18	0.20	0.15	0.20	0.17	0.16	0.13	1.62
H ₂ O ₂ content (μmol 100 mg^{-1} FW)	8.3	8.6	8.8	11.2	7.1	6.8	8.0	6.8	8.2	9.1	9.4	7.5	7.0	7.9	1.65
SA content ($\mu\text{g g}^{-1}$ FW)	0.75	1.00	0.89	0.80	0.88	1.01	0.84	1.06	0.98	1.00	0.98	1.01	0.86	0.84	1.40
Relative expression of <i>ScLSD1</i>	1.01	0.87	0.80	0.91	0.75	0.74	0.61	0.70	0.81	0.63	0.66	0.79	0.69	0.85	1.65
Relative expression of <i>ScAPX1</i>	1.02	1.13	0.68	0.70	0.73	1.38	1.67	1.68	1.92	1.66	1.61	1.63	1.43	2.63	3.87
Relative expression of <i>ScEDS1</i>	1.01	0.69	0.92	1.03	0.77	0.81	0.81	1.12	1.22	0.78	0.77	0.86	0.65	0.98	1.87
Total kernel mass (g)	18.3	16.9	13.6	1.8	1.8	18.0	13.4	14.3	4.2	21.9	13.8	10.8	8.6	1.4	15.35
Number of spikes	7.9	8.6	10.3	2.7	7.3	8.9	8.0	9.0	4.7	7.8	7.7	8.9	6.1	4.9	3.86
Number of kernels	456	529	295	58	49	468	462	396	167	596	460	285	301	45	13.10
Thousand-kernel weight (g)	41.8	31.4	45.2	29.8	31.7	38.7	29.4	40.9	23.0	38.1	30.3	38.5	26.8	22.6	2.00

Korelacja pomiędzy chl. *a* i zawartością H₂O₂ w liściach na wczesnym etapie rozwoju a masą plonu i liczbą kłosów.



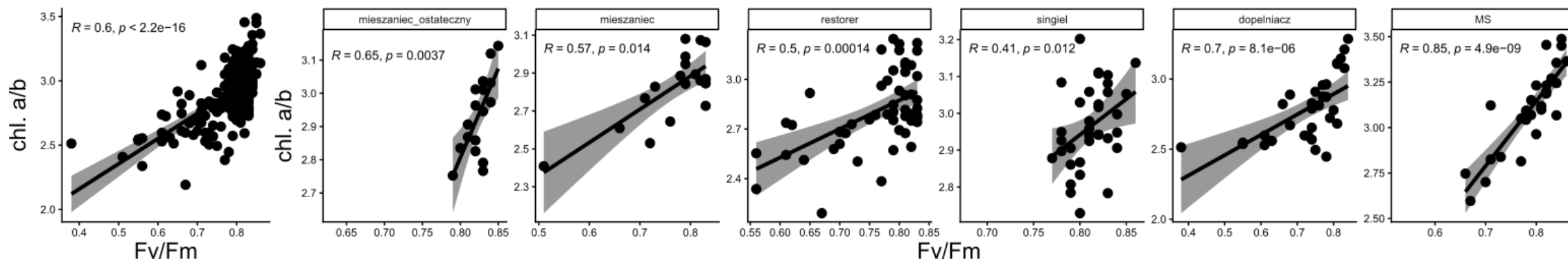
- Korelacje te pozostały istotne, gdy dane z poszczególnych lat analizowano oddzielnie, chociaż istotność była silniejsza w połączonym zbiorze danych, co odzwierciedla większą moc statystyczną. Ta spójność między latami wskazuje, że obserwowane powiązania odzwierciedlają wewnętrzne zależności fizjologiczne, a nie specyficzne dla eksperymentu artefakty. Dodatkowym przypadkiem była ujemna korelacja między zawartością H_2O_2 a liczbą pików ($R = -0,29$, $p = 3,3 \times 10^{-6}$), która była istotna tylko w latach 2022 i 2024, co sugeruje, że obciążenie oksydacyjne może ograniczać rozwój reprodukcyjny w określonych kontekstach środowiskowych.
- Łącznie wyniki te wykazują liczne istotne korelacje zarówno w obrębie grup parametrów, jak i między nimi. Co ważne, kilka markerów fizjologicznych (Chl a, Fv/Fm, β -karoten) i biochemicznych (H_2O_2) było konsekwentnie powiązanych z plonem, co identyfikuje je jako obiecujące wskaźniki wczesnego etapu do wykorzystania w programach hodowlanych i modelach predykcyjnych produktywności.
- W 2021 pigmenty były mierzone w

Korelacja pomiędzy ilością kłosów a chl. a

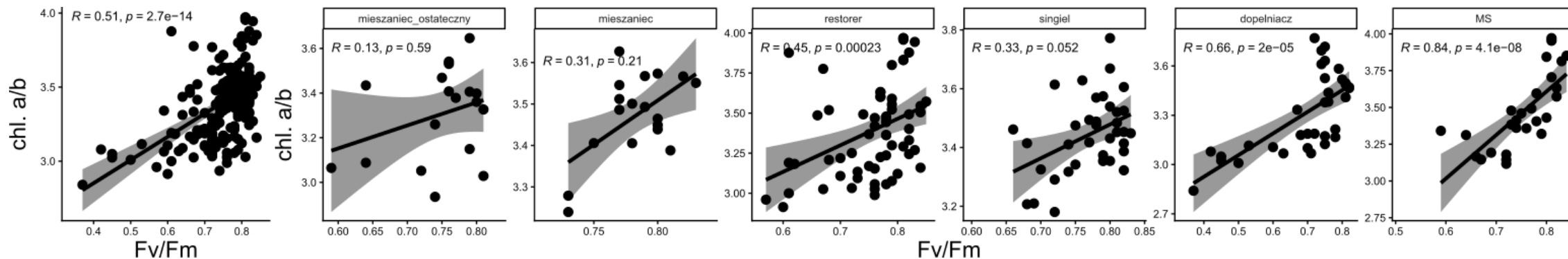


Korelacja pomiędzy Fv/Fm a chl. a/b

2023



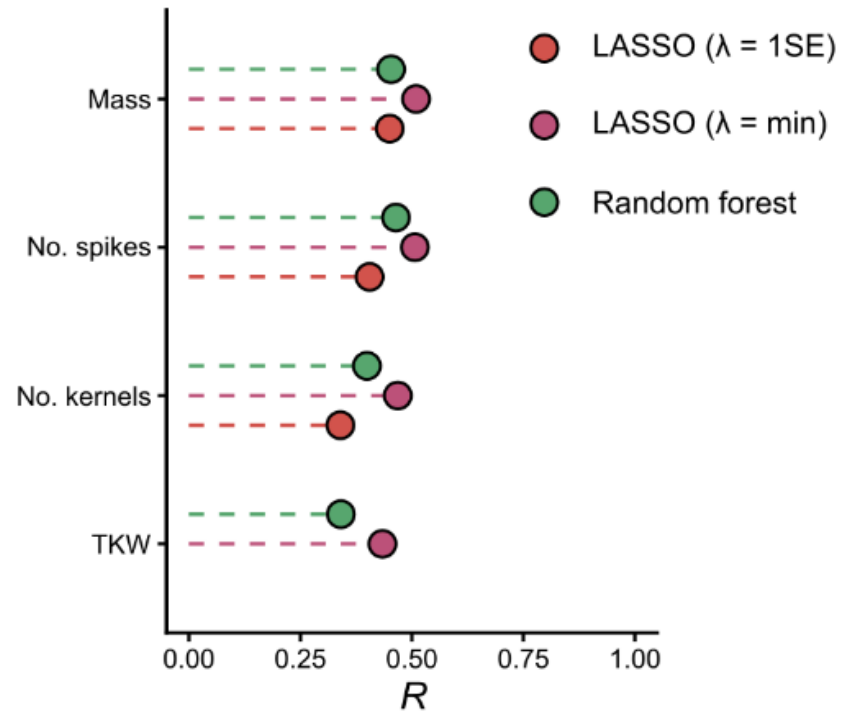
2022



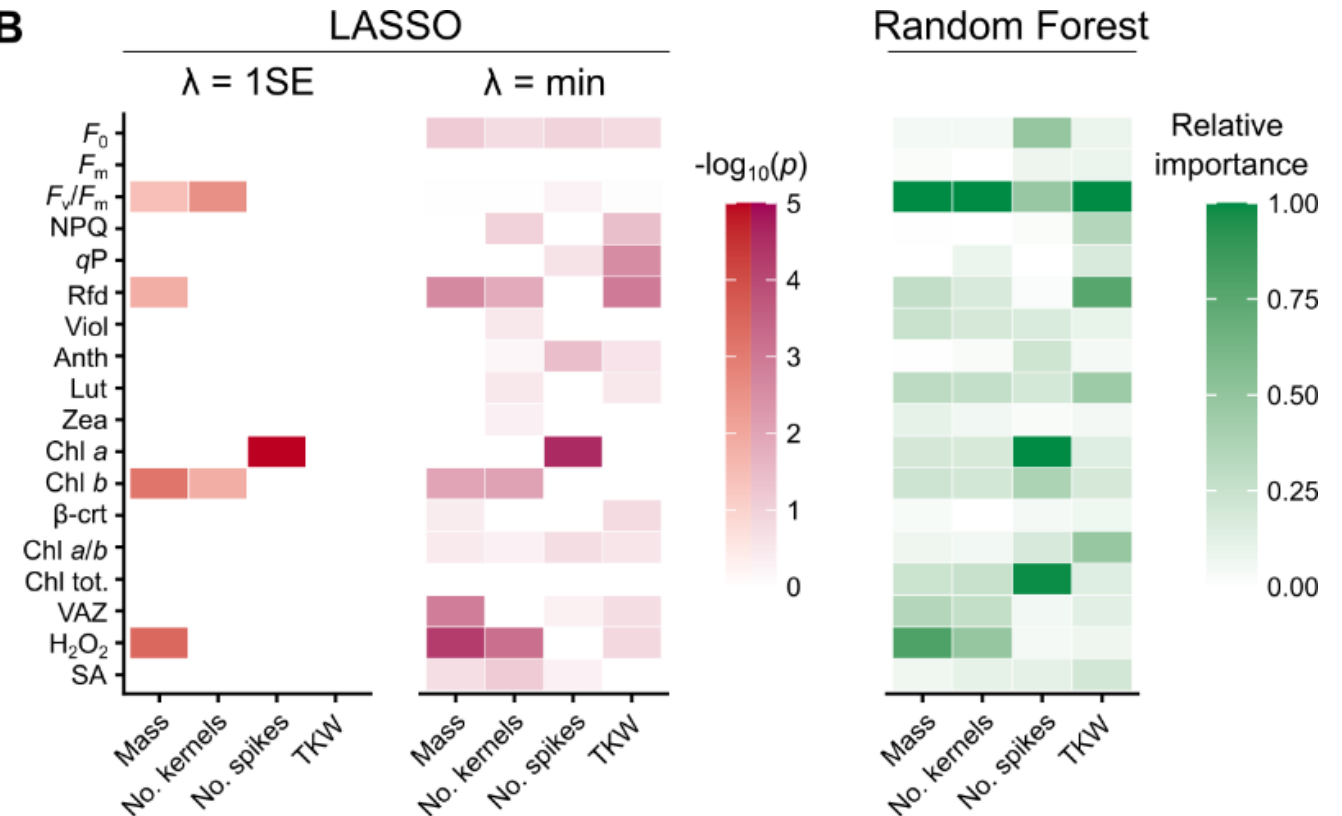
Korelacja między Fv/Fm a chl. a/b jest zachowana między dwoma latami eksperymentu

Porównawcza wydajność i istotność cech LASSO i Losowego Lasu w odniesieniu do cech plonowania. (A) Porównawcza wydajność w odniesieniu do cech plonowania, ustawień regularyzacji i typów modeli. Punkty przedstawiają współczynnik R z modeli ponownie dopasowanych za pomocą predyktorów wybranych przez LASSO lub Las Losowy. LASSO jest pokazane dla dwóch wyborów kar: $\lambda = 1SE$ (reguła jednego błędu standardowego; modele rzadsze) i $\lambda = \min$ (minimalny błąd walidacji krzyżowej). Wyższy współczynnik R oznacza lepsze dopasowanie. (B) Mapy ciepłe podsumowujące istotność wybranych markerów dla każdej cechy plonowania. W przypadku LASSO wypełnienie koduje $-\log_{10}(p)$ z ponownie dopasowanych modeli liniowych (z fasetami $\lambda = 1SE$ i $\lambda = \min$); w przypadku Lasu Losowego wypełnienie koduje znormalizowaną ważność zmiennej. Wiersze to markery fizjologiczne/biochemiczne; kolumny to cechy plonowania; wyższe wartości wskazują na silniejsze powiązanie/wkład.

A



B



Podsumowanie

- Należy uwzględnić kilka ograniczeń. Po pierwsze, korelacja nie implikuje związku przyczynowo-skutkowego. Chociaż interpretacje fizjologiczne są przekonujące, walidacja mechanistyczna – na przykład poprzez zaburzenie zdolności antyoksydacyjnej lub rozmiaru anten w życie – wzmocniłaby wnioski.
- Po drugie, siła zależności między cechą a plonem różniła się w zależności od środowiska: H_2O_2 był predykcyjny w dwóch z trzech sezonów, prawdopodobnie w latach o gorszym klimacie, co sugeruje, że progi selekcji powinny być kalibrowane do środowisk docelowych.
- Po trzecie, nie jest jasne, czy zidentyfikowane predyktory mają zastosowanie w szerszym zakresie zróżnicowania genetycznego żyta. Dlatego niezbędna będzie walidacja w szerszym panelu akcesji.
- Wreszcie, nasze eksperymenty przeprowadzono w warunkach szklarniowych, a zatem zidentyfikowane tutaj zależności między cechą a plonem powinny zostać potwierdzone w warunkach polowych.
- Pomimo tych zastrzeżeń, spójna identyfikacja zawartości chlorofilu, F_v/F_m (i R_{fd}) oraz H_2O_2 jako predyktorów w różnych sezonach i genotypach, w przeciwieństwie do innych testowanych parametrów, takich jak NPQ, SA i zawartość karotenoidów, które wykazały słabą/nieistotną lub niespójną korelację z plonem, potwierdza ich przydatność do definiowania „fizjologicznego wskaźnika odporności” w celu ulepszenia żyta mieszańcowego.
- Analiza korelacji niektórych badanych cech jest powtarzalna między wszystkimi sezonami.
- Sugeruje się zwiększenie liczby powtórzeń biologicznych i doświadczenia polowe w celu zwiększenia siły statystycznej prowadzonych analiz oraz wprowadzenie analizy profilu ekspresji genów (transkryptomika) oraz wprowadzenie AI do analizy zależności siecią neuronową.
- Publikacja: Manuscript ID: Plants-3982885 (Q1) in press. Type of manuscript: Article. Title: From Light Harvesting to Grain Filling: Chlorophyll Fluorescence, Pigment Composition, and Oxidative Status as Discrete Yield Determinants in Rye (2025) Maria Duszyn, Paweł Burdiak, Joanna Dąbrowska-Bronk, Anna Rusaczek, Muhammad Kamran, Roshanak Zarrin Ghalami, Alina Majnert, Jarosław Bojarczuk, Piotr Gawroński, Stanisław Karpiński * (received 28.10.2025, accepted 05.12.2025).