

SPRAWOZDANIE MERYTORYCZNE

z realizacji zadania na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej w 2025 r.

A. INFORMACJE OGÓLNE

Tytuł zadania:

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

Numer zadania: 9

*(w załączniku nr 8 do rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 29 lipca 2015 r. w sprawie stawek dotacji przedmiotowych dla różnych podmiotów wykonujących zadania na rzecz rolnictwa (Dz. U. z 2015 r., poz. 1170 z późn. zm.))*Planowany okres realizacji zadania: **2021 do 2025 r.**Planowane nakłady w zł: **998 000**

B. DANE WNIOSKODAWCY

Imię i nazwisko osoby reprezentującej jednostkę badawczą, (tytuł lub stopień naukowy, stanowisko, nazwa i adres jednostki badawczej, telefon, fax)

Prorektor ds. Nauki**Prof. dr hab. Inż. Tomasz Okruszko****Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie****ul. Nowoursynowska 166****02-787 Warszawa****tel.: 22 59 310 13, fax.: 22 59 310 53****e-mail: prorektor_nauka@sggw.pl**

C. INFORMACJA O WYKONAWCACH

1. Zespół badawczy

kierownik zadania		
imię i nazwisko	stopień i tytuł naukowy	miejsce zatrudnienia
Stanisław Karpiński	Prof. dr hab.	SGGW, Katedra Genetyki Hodowli i Biotechnologii Roślin, Instytut Biologii
wykonawcy zadania		
imię i nazwisko	stopień i tytuł naukowy	miejsce zatrudnienia
Anna Rusaczek	dr	SGGW, Katedra Botaniki, Instytut Biologii
Maria Duszyn	dr	SGGW, Katedra Botaniki, Instytut Biologii
Paweł Burdiak	dr	SGGW, Katedra Genetyki Hodowli i Biotechnologii Roślin, Instytut Biologii
Joanna Dąbrowska-Bronk	dr	SGGW, Katedra Fizjologii Roślin, Instytut Biologii
Jarosław Bojarczuk	dr	Hodowla Roślin Smolice Sp. z o.o. Grupa IHAR
Piotr Gawroński	dr	SGGW, Katedra Genetyki Hodowli i Biotechnologii Roślin, Instytut Biologii

2. Kierownik zadania

Prof. Stanisław Karpiński
Szkola Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
Katedra Genetyki Hodowli i Biotechnologii Roślin
Instytut Biologii
ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa
tel. 22 59 321 51 (sekretariat), 22 59 321 72 (bezpośredni)
fax 22 59 32152
e-mail: stanisław_karpiński@sggw.edu.pl

Dane osoby do kontaktu w razie nieobecności kierownika zadania:

Joanna Dąbrowska-Bronk
Szkola Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
Katedra Fizjologii Roślin
Instytut Biologii
ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa
tel. 22 59 325 36
e-mail: joanna_dabrowska@sggw.edu.pl pl

D. OPIS ZADANIA

1. Obecny stan wiedzy w tematyce objętej zadaniem (max. 1 strona A4)

W ramach realizowanego zadania badawczego projektu NCBiR CROPTECH został zaprojektowany zrobotyzowany, samojezdny system do pomiaru modulowanej fluorescencji i temperatury liści roślin rosnących w warunkach polowych. System wraz z autorskimi programami do analizy danych został zaprojektowany w celu oceny potencjału plonotwórczego, odporności roślin uprawnych na stresy środowiskowe (tj. susza, mróz, odporność na choroby etc.) we wczesnej fazie wzrostu w celu wykorzystania metod teledetekcyjnych i autorskich algorytmów dla przyspieszenia i zoptymalizowania procesu hodowli nowych odmian zbóż. Główne zalety głowicy skanującej fluorescencję i temperaturę do precyzyjnej fenomiki i jej przewaga nad systemami dostępnymi na rynku zostały opisane powyżej. Pierwsze polowe pomiary kukurydzy wykonano w czerwcu 2019 r. na poletkach doświadczalnych na Wolicy, SGGW w Warszawie. Pomiary te wykazały, że 50% wyższy plon nasion w odmianach Rosomak i Kosynier w porównaniu do Wielkopolanki i Wigor istotnie koreluje z podwyższoną różnicą temperatury liści w 10-tygodniowych młodych liściach, zmierzoną jako różnica temperatury w niskim i bardzo wysokim natężeniu światła (6°C wyższa ΔT) w porównaniu do niskoplonujących starych odmian Wigor i Wielkopolanka. Te rezultaty w kombinacji z pomiarami parametrów fluorescencyjnych liści ($\text{RFD} = F_m / F_s$) pozwoliły nam na wstępne opracowanie algorytmów przewidywania plonowania kukurydzy, tak jak to zrobiliśmy dla rzodkiewnika pospolitego (*Arabidopsis thaliana*) i pomiarów kwasu salicylowego czy nadtlenu wodoru w korelacji do plonu nasion (Bernacki i wsp., 2019).

Hodowcy roślin muszą przez lata eksperymentować z tysiącami roślin, aby rozwinąć odmianę o ulepszonych cechach. Ich metody hodowli są skuteczne, ale bazują na wypracowanych latami zdolnościach hodowcy i dlatego trudno im nadążać za rosnącą złożonością potrzeb klientów i wyzwań związanych z bezprecedensowymi zmianami środowiska naturalnego. Podstawą, na której opiera się sukces procesu hodowli roślin, jest czas, w jakim wprowadza się na rynek nową komercyjnie ulepszoną odmianę. Sukces i rynkowa konkurencyjność spółek hodowlanych zależy od jakości badań podstawowych, która to w ostatnich latach stała się bardzo wymagająca i skomplikowana, oraz zależy od przekucia zdobytej nowej wiedzy z badań podstawowych w komercyjny sukces wyhodowania nowej odmiany. Wykorzystanie w tym zakresie współczesnego rozumienia genetyki, fizjologii, wzrostu i plonowania roślin oraz uporządkowania i znormalizowania eksperymentów, które to wymaga nowego niestandardowego oprzyrządowania znacznie może poprawić szybkość i jakość hodowli roślin. Związana z tym implementacja nowych protokołów hodowli roślin generuje potrzebę poprawy kwantyfikacji i znormalizowania oceny cech użytkowych poprzez wykorzystanie matematycznego modelowania pomiarów tych cech.

Projekt zakłada wykorzystanie nowych urządzeń pomiarowych i programów sterujących cyfrową analizą obrazów fluorescencyjnych i termicznych roślin, oraz na matematycznym skorelowaniu tych parametrów, mierzonych na wczesnym etapie rozwoju rośliny z cechami fizjologicznymi, molekularnymi i biochemicznymi roślin jak: poziom hormonów (kwas salicylowy), poziom reaktywnych form tlenu (np. H_2O_2), liczba i funkcjonowanie aparatów szparkowych, poziom ekspresji molekularnych markerów z potencjałem plonotwórczym roślin. Ta metoda będzie miała zastosowanie dla każdej rośliny, bo polega na badaniu zależności wyżej wymienionych cech z telemetrycznymi pomiarami sprawności fotosystemów i ich efektywności transportu elektronów, a w części matematycznego modelowania polega na wyprowadzeniu równania dyskretnych zależności znormalizowanych parametrów cech z potencjałem plonotwórczym danej rośliny, linii czy odmiany, niezależnie od tego ile i jakie geny są w tą cechę zaangażowane. Takie matematyczne równania i funkcje najlepiej opisujące te zależności umożliwią przyspieszenie procesu hodowli nowych odmian żyta o określonych nowych komercyjnych cechach użytkowych (np. lepszym plonowaniu, lepszej wydajności zużycia wody, bardziej tolerancyjnych na stresy suszy czy odpornych na nowe choroby) poprzez ulepszony i telemetrycznie znormalizowany wybór komponentów do krzyżowań a przez to na wyeliminowaniu wielu niepotrzebnych krzyżowań.

Literatura:

Abreu ME, Munné-Bosch S. **J Exp Bot.** 2009, 60: 1261–1271; Bernacki MJ et al., **Physiol Plant.** 2019 Nov 20. doi: 10.1111/ppl.12863; Bernacki et al., 2018 **J. Plant Physiol.** DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2018.04.014>; Czarnocka et al., 2017 **Plant, Cell & Env.** 40, 2644–2662 doi: 10.1111/pce.12994; Dixon et al., **Plant Cell** 2018, doi:10.1105/tpc.17.00961; Gitelson AA et al., (2003) **J. Plant Physiol.** 160: 271–282; Górecka M et al., 2019 **Plant Cell & Env.** 42,

(<https://doi.org/10.1111/pce.13686>). Karpiński S et al., **Plant Cell & Env.** 2013 Apr;36(4):736-44. doi: 10.1111/pce.12018. Peak D et al., 2004 **PNAS of USA** January 27, 2004 101: 918-922; Szechyńska-Hebda M et al., **Plant Cell Rep.** 2016 Mar;35(3):527-39. doi: 10.1007/s00299-015-1901-y; Szechyńska-Hebda M et al., **Plant Cell.** 2010 Jul;22(7):2201-18. doi: 10.1105/tpc.109.069302; Wituszyska W et al., **Plant Physiol.** 2013 Apr;161(4):1795-805. doi: 10.1104/pp.112.208116

1a. Streszczenie dotychczas uzyskanych wyników – wyłącznie, jeśli zadanie stanowi kontynuację badań – (max. ½ strony A4)

Dla tematu badawczego 1 wykonano odpowiednio 174 i 348 pomiarów dla parametrów przedstawionych w miernikach od 1 do 7. W ramach tematu badawczego 2 wykonano po 174 pomiary H₂O₂, liczby aparatów szparkowych, 29 pomiarów SA w liściach oraz ustalono poziomy ekspresji dla 5 genów (1740 reakcji).

W mieszańcu ostatecznym w 2022, 2023 i w 2024 r. znaleziono silne pozytywne korelacje między stosunkiem chl. a/b a parametrem fluorescencji chlorofilu *a* QY_{max} (Fv/Fm). W poprzednich latach potwierdzono korelację między QY_{max} mierzonym na wczesnym etapie rozwoju żyta a masą tysiąca ziaren (mtz), co było obiecujące dla osiągnięcia celów projektu. W 2024 r ta korelacja była znacznie słabsza. Dlatego decydującym będzie ostatni 2025 rok dla wyników projektu. Jednak korelacja pomiędzy SA i WUE w 2024 została potwierdzona. Ten parametr jest ważny w selekcji odmian żyta bardziej tolerancyjnych na czasowe niedobory wody.

W grupie mieszańców na uwagę zasługiwała w latach ubiegłych wyraźna pozytywna korelacja pomiędzy masą tysiąca ziarniaków (mtz) a zawartością barwników – chlorofilu *a* (0,56 w 2022 r.; 0,41 w 2023 r.), chlorofilu *b* (0,53 w 2022 r.; 0,24 w 2023 r.), karotenu (0,62 w 2022 r.; 0,53 2023 r.) oraz QY_{max} (0,51 w 2022 r.; 0,31 w 2023 r.). W 2024 r. te korelacje słabo potwierdziły się.

Spośród wszystkich analizowanych grup w analizach ekspresji genów zaobserwowano w 2024 dla poziomu ekspresji genów APX1 i LSD1 silną pozytywną korelację w mieszańcu z mztz (0,84 i 0,78) i jednocześnie negatywną korelację z ilością ziarniaków (-0,65 i -0,52). Jest to ważna informacja dla selekcji jakości plonu (małe ziarniaki *versus* duże).

Biorąc pod uwagę, że mieszaniec ostateczny F1 powstaje jako rezultat skrzyżowania restorera z singlem, należy zwrócić baczną uwagę w 2025 na następujące przeciwstawne korelacje: a) mztz i parametru QY_{max} gdzie mamy odwrotną zależność między singlem a restorerem i powstałym mieszańcem ostatecznym i ta odwrotna zależność również potwierdza się w 2024 r.; b) poziomem ekspresji genów ScAPX1, ScLSD1 i ScEDS1 a parametrami plonu, oraz poziomem wymiany gazowej (A, Gs i E); c) podobnie singiel powstający z krzyżówki MS i dopełniacza wykazuje pozytywne korelacje QY_{max} z mztz oraz innymi parametrami plonu na średnio-pozytywnym poziomie, podczas gdy te korelacje są różne (pozytywne lub negatywne) u MS i dopełniacza; d) podobnie parametry WUE korelują przeciwstawnie w singlu i dopełniaczu *versus* MS (rezultaty 2024).

Porównywalnie do poprzednich pomiarów największe korelacje występują w obrębie grup badanych parametrów (np. między różnymi barwnikami fotosyntetycznymi). Korelacje parametrów z różnych grup w roku 2024 są mniejsze niż w latach ubiegłych. Niemniej jednak zwraca uwagę, podobnie do danych z 2022 i 2023 roku, korelacja między Fv/Fm (QY_{max}) a stosunkiem chl a/b.

Te rezultaty wskazują, że wprowadzenie do hodowli żyta nowych fizjologicznych i molekularnych markerów, w tym markerów mierzonych telemetrycznie, jak QY_{max}, mierzonych na wczesnym etapie rozwoju rośliny, nadal jest obiecujące i może umożliwić przyspieszenie procesu hodowli nowych odmian żyta i zredukować koszt hodowli nowych odmian. Rok 2025 będzie decydujący dla ustalenia tych korelacji kiedy całościowo przeanalizujemy wszystkie rezultaty.

2. Cele zadania

Celem cząstkowym badań w 2025 roku w ramach projektu było:

Określenie różnic/podobieństw w komponentach żyta użytych do krzyżowań (obiektach) względem stabilnej linii referencyjnej TUR w parametrach fluorescencyjnych chlorofilu *a* liści eksponowanych na niskie i wysokie natężenie światła na wczesnym etapie rozwoju rośliny.

Po znalezieniu istotnych różnic w tych parametrach pomiędzy obiektami wybrano najbardziej różnicujące obiekty do szczegółowych badań biochemiczno-fizjologicznych oraz molekularnych. Zostaną zbadane poziomy kwas salicylowy, nadtlenu wodoru i pigmentów (chlorofil i karotenoidy). Zostaną określone różnice w ekspresji wybranych markerów molekularnych (LSD1, EDS1, APX1) w porównaniu do dwóch genów referencyjnych żyta. Zostanie zmierzona wymiana gazowa i liczba aparatów szparkowych. Na końcu zmierzony zostanie plon nasion w tych zróżnicowanych obiektach.

Celem tych badań będzie określenie poziomu korelacji parametrów molekularnych i fizjologicznych z parametrami telemetrycznymi (modulowana fluorescencja chlorofilu a).

3. Harmonogram realizacji zadania

Harmonogram realizacji zadania należy sporządzić w tabeli, dla każdego z planowanych tematów badawczych z uwzględnieniem ilości planowanych testów/prób/linii na których prowadzone będą badania. Proszę podać koszty realizacji poszczególnych tematów badawczych.

Proszę wyróżnić etapy (tematy badawcze), określić czas ich trwania w miesiącach od rozpoczęcia projektu i przewidywane koszty. Terminy realizacji tematów badawczych mogą się zazębiać. Suma kosztów tematów badawczych musi być równa całkowitemu kosztowi zadania.

Lp.	Nazwa tematu badawczego	Termin rozpoczęcia – zakończenia realizacji tematu badawczego w miesiącach od rozpoczęcia realizacji zadania	Przewidywane koszty realizacji tematu badawczego
1	Opracowania kompleksowe analiz i pomiarów: pigmentów, fluorescencji chl.a, wymiany gazowej, wysokości plonu, odporności na stres świetlny, w certyfikowanych odmianach i komponentach do krzyżowań żyta.	Kwiecień - grudzień	99 200
2	Analiza i opracowania pomiarów: ekspresji genów LSD1, EDS1, APX1 oraz 2 genów referencyjnych; zawartości kwasu salicylowego (SA), H ₂ O ₂ ; liczby aparatów szparkowych, w certyfikowanych odmianach i komponentach do krzyżowań żyta.	Kwiecień - grudzień	70 000
3	Normalizacja danych i matematyczne modelowanie dyskretnych sprzężeń, opracowanie wyników do raportu.	Październik - grudzień	30 000
Razem			199 200

3. Opis tematów badawczych wykonanych w 2025 r.

3. 1. Temat badawczy 1

Opracowania kompleksowe z analiz i pomiarów pigmentów, fluorescencji chl. A, wymiany gazowej, wysokości plonu, odporności na stres świetlny, etc. w certyfikowanych odmianach i komponentach do krzyżowań żyta.

Cel tematu badawczego 1

Celem tego eksperymentu jest określenie różnic w wybranych parametrach fluorescencji chlorofilu i wymiany gazowej na wczesnym etapie rozwoju rośliny mierzonej w niskim i wysokim natężeniu światła, w 29 wyselekcjonowanych mieszańcach i komponentach użytych do hodowli tych mieszańców. Wykonanie

pomiarów poziomu chlorofili i karotenoidów w liściach. Na podstawie różnic w tych parametrach zostaną opracowane korelacje i segregacja tych korelacji. Parametry fluorescencyjne i wymiany gazowej będą mierzone dla 12 osobników natomiast zawartość pigmentów będzie mierzona dla 6 osobników każdej linii i komponentu.

Cel TB1 założony na 2025 został osiągnięty w całości.

Materiały i metody

Komponenty i obiekty użyte do pomiarów: PB21, PB22, PB23, PB24, PB25, PB26, PB27, PB28, PB29, PB31, PB32, PB33, PB34, PB35, PB47, PB48, PB50, PB52, PB54, PB55, PB56, PB58, PB60, PB62, PB63, PB65, PB67, PB68, PB70. Standardowa metodyka laboratorium prof. Karpińskiego opisana w wielu publikacjach jego zespołu będzie stosowana do pomiarów koncentracji pigmentów, parametrów fluorescencji chlorofilu oraz wymiany gazowej w zmiennym oświetleniu w młodych liściach żyta w wybranych liniach mieszańców i komponentów użytych do krzyżowań na wczesnym etapie rozwoju rośliny. Parametry wydajności kwantowej fotosystemu II (PSII) zostaną obliczone zgodnie ze standardowym protokołem pomiarowym w 12 powtórzeniach ($12 \times 29 = 348$). Pomiary wymiany gazowej dokonywane będą za pomocą aparatu CIRAS-3 (PP Systems, USA) w 6 powtórzeniach ($6 \times 29 = 174$). Pigmenty i kwas salicylowy będą mierzone na Shimadzu HPLC spektrofotometrycznie.

Tabela 1. Zaplanowane i wykonane pomiary i analizy do tematu badawczego 1.

Lp.	Miernik ¹	Wartość miernika podana w opisie zadania	Wartość miernika zrealizowana
1.	Parametr RFD (F_m/F_s) dla 29 komponentów żyta	348 pomiarów	1. 348
2	Parametr QYmax ($=F_v/F_m$) dla 29 komponentów żyta	348 pomiarów	2. 348
3	Parametr Qp F_m'/F_s dla 29 komponentów żyta	348 pomiarów	3. 348
4	Parametr NPQ dla 29 komponentów żyta	348 pomiarów	4. 348
5	Parametr gs (wymiana gazowa) żyta	174 pomiarów	5. 174
6	Plon nasion z danego komponentu żyta	348 pomiarów	6. 348
7	pigmenty	174 pomiarów	7. 174

3.2. Temat badawczy 2

Kompleksowe opracowania analiz i pomiarów zawartości kwasu salicylowego i wody utlenionej oraz ekspresji genów (APX1, EDS1, LSD1 oraz dwóch genów referencyjnych) w certyfikowanych odmianach i ich komponentach urzytych do krzyżowań żyta.

Cel TB2 założony na 2025 został osiągnięty w całości.

Cel tematu badawczego 2

Celem tego tematu badawczego jest określenie różnic/podobieństw w zawartości kwasu salicylowego (SA), nadtlenu wodoru (H_2O_2) względem barwników fotosyntetycznych (z tematu badawczego. 1) w liściach

¹ Podać miernik – np. ilość planowanych testów, prób, badanych genotypów etc.

wyselekcjonowanych 29 mieszańców i ich komponentów, oraz skorelowania tych wartości z plonowaniem (z TB 1.). Celem jest również ustalenie poziomów ekspresji kilku ważnych molekularnych markerów (APX1, LSD1 i EDS1 oraz dwóch genów referencyjnych). Wszystkie pomiary SA i H₂O₂ zostały wykonane przynajmniej w 6 powtórzeniach (6x29=174 pomiary). Natomiast pomiary ekspresji 5 wybranych genów będą zrobione w 3 biologicznych i 3 technicznych powtórzeniach (9x29x5 = 1305 reakcji bez optymalizacji i testów, razem ok. 1305 reakcji qPCR).

Materiały i metody

Standardowa metodyka laboratorium prof. Karpińskiego opisana w wielu publikacjach jego zespołu będzie stosowana do pomiarów pigmentów, stężenia SA, H₂O₂ w liściach mieszańców i komponentów żyta (29) na wczesnym etapie rozwoju rośliny. Eksperymenty zostaną założone w HR Smolice W skrócie, SA będzie mierzona na Shimadzu HPLC, H₂O₂ spektrofotometrycznie. Wszystkie pomiary będą wykonane przynajmniej w 6 powtórzeniach (6x29=174). Zostaną ustalone poziomy ekspresji 3 molekularnych markerów (APX1, LSD1 i EDS1) oraz 2 referencji (przynajmniej w 3 biologicznych i 3 technicznych powtórzeniach (9x5x29=1305 reakcji).

Tabela 2. Zaplanowane i wykonane mierniki dla tematu badawczego 2

Lp.	Miernik ²	Wartość miernika podana w opisie zadania	Wartość miernika zrealizowana
1.	Pomiar SA w liściach	29 pomiarów	1. 29
2.	Pomiar H ₂ O ₂ w liściach	174 pomiary	2. 174
3.	Pomiar wymiany gazowej i liczby aparatów szparkowych na jednostkę powierzchni liścia.	174 pomiary	3. 174
4.	Pomiar poziomu ekspresji dla 5 genów (APX1, EDS1 i LSD1 oraz dwóch genów referencyjnych)	1740 reakcji	4. 1740

3. 3. Temat badawczy 3

Normalizacja danych, matematyczne modelowanie dyskretnych sprzężeń, przygotowanie opracowań wyników do publikacji.

Cel tematu badawczego 3

Wyprowadzenie wstępnych równań dyskretniej współzależności poziomów SA, H₂O₂ i pigmentów w liściach od parametrów fluorescencyjnych; gs i zawartości pigmentów w liściach od potencjału plonowania, podobnie jak opisano w publikacji zespołu prof. Karpińskiego (Bernacki i wsp., 2018). Analizy zostaną przeprowadzone w SGGW w Warszawie. Wykonamy wstępne regresyjne matematyczne modelowanie dyskretnych zależności tych cech.

Cel TB3 założony na 2025 został osiągnięty w całości

Materiały i metody

Wzór analityczny omawianej funkcji regresji składa się przez nas w dwóch etapach. W pierwszej analizujemy zbiory odpowiednich funkcji elementarnych, zaczynając od najmniej skomplikowanej do bardziej skomplikowanej, aż zadowoli nas podobieństwo do zbioru punktów. W ten sposób każdemu

² Podać miernik – np. ilość planowanych testów, prób, badanych genotypów etc.

eksperymentowi podporządkowujemy funkcję zmiennej x zależnej od kilku parametrów, takich jak funkcja liniowa, kwadratowa i sześcienna. Ostatecznie funkcja wymierna jest brana pod uwagę, gdy punkty mają tendencję do zera dla dużego x . W drugim kroku obliczamy wartości parametrów, dla których współczynnik korelacji jest, co najmniej poniżej jednego, stosując standardowe procedury statystyczne. Funkcje regresji mogą okazać się potrzebnymi nam funkcjami algorytmicznymi. Dokładny opis metodologii jest zawarty w Bernacki et al., 2018.

Tabela 3. Zaplanowane i wykonane mierniki dla tematu badawczego 3

Lp.	Miernik ³	Wartość miernika podana w opisie zadania	Wartość miernika zrealizowana
1.	Funkcja zależności SA lub H ₂ O ₂ lub gs lub liczby aparatów szparkowych lub QYmax lub chl a/b od plonowania.	1	1

Modelowanie korelacji pomiędzy zawartością H₂O₂ i SA w liściach, a WUE dla 6-miesięcznych siewek 5 komponentów żyta rosnącego w zimnej szklarni. $R^2 = 0.82$ i $p = 6,32 \cdot 10^{-4}$.

$$\ln(WUE) = (0,699 \cdot SA + 0,5379) \cdot (H_2O_2^2 + 0,304)$$

Ze względu na dyskretne sprzężenia pomiędzy parametrami i analizami z zadań badawczych wyniki i dyskusję wyników podajemy wspólnie dla tych zadań.

4. Wyniki i Dyskusja

Na podstawie badań przeprowadzonych w latach poprzednich do dalszych analiz wyselekcjonowano 29 linii żyta (objekty), wśród których były linie reprezentujące następujące grupy: M - mieszańce końcowe (z przywróconą płodnością); R – restorer; S – singiel; D – dopełniacz; MS – linia męsko sterylna przeprowadzono szereg analiz fizjologicznych, biochemicznych i molekularnych, jak również analizy plonu roślin i wielkości ziarniaków roślin żyta jak zaplanowano. Poniżej zaprezentowane są przykładowe macierze dla 8 obiektów (spośród 29 analizowanych), które wizualizują różnicę wartości wszystkich mierzonych parametrów w porównaniu do średniej w obrębie obiektów. Jak widać, do analizy brano po 14 roślin w obrębie danego obiektu. Niektóre parametry biochemiczne były mierzone na mniejszej liczbie powtórzeń, dlatego te pola w obrębie macierzy zaznaczono kolorem szarym. Legenda dotycząca poszczególnych analiz:

F_0 – fluorescencja minimalna liści zaadaptowanych do ciemności

F_m - fluorescencja maksymalna liści zaadaptowanych do ciemności

QYmax – maksymalna wydajność kwantowa fotosystemu II

NPQ – niefotochemiczne wygaszanie energii

q_p - fotochemiczne wygaszanie

Rfd - wskaźnik zaniku fluorescencji chlorofilu a (wskaźnik vitalności). RFD wskazuje poziom spadku intensywności fluorescencji z fluorescencji maksymalnej (F_m) do fluorescencji w stanie steady state i mówi to o vitalności roślin i zdolności adaptacji do warunków środowiskowych.

T_10 – przyrost temperatury liści po 10s od włączenia wysokiego natężenia światła (4000uE)

T_20 – przyrost temperatury liści po 20s od włączenia wysokiego natężenia światła (4000uE)

T_max – maksymalny przyrost temperatury liści w trakcie ekspozycji na wysokie natężenie światła (4000uE)

viola - wiolaksantyna

³ Podać miernik – np. ilość planowanych testów, prób, badanych genotypów etc.

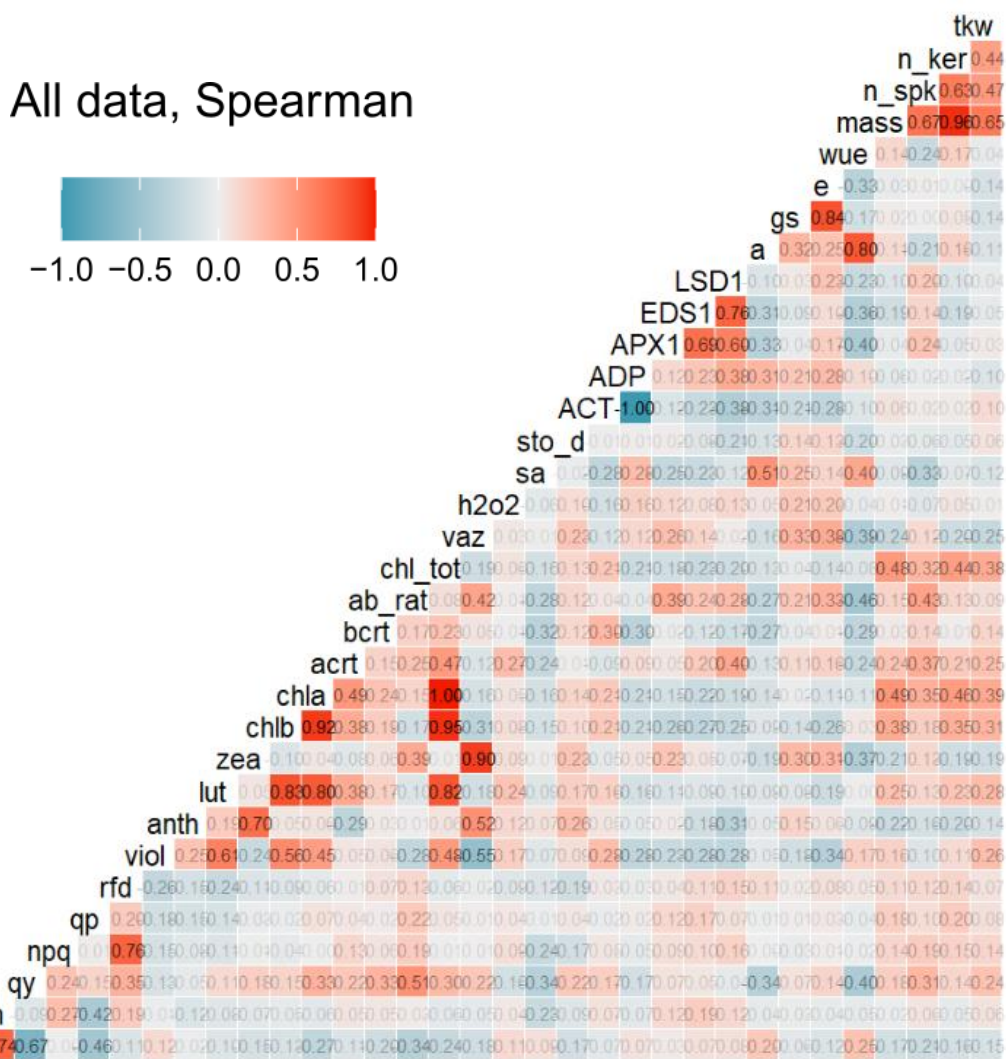
antera - anteraksantyna
 lut - luteina
 zeax - zeaksantyna
 chl_b – chlorofil b
 chl_a – chlorofil a
 karoten - karoten
 chl_a,b – stosunek chlorofilu a do chlorofilu b
 total_chl – całkowita zawartość chlorofilu
 VAZ – współczynnik deepoksydacji , który informuje o stanie równowagi pomiędzy zeaksantyną, anteraksantyną a wiolaksantyną w cyklu VAZ.
 H_2O_2 – nadtlenek wodoru
 SA - kwas salicylowy
 n_klos – ilość kłosów
 n_ziarniak – ilość ziarniaków
 masa – masa kłosa
 mtz – masa tysiąca ziarniaków
 APX1 – poziom ekspresji żytniego genu askorbinianowej peroksydazy 1
 LSD1 - poziom ekspresji żytniego genu LSD1
 EDS1 - poziom ekspresji żytniego genu EDS1
 A – asymilacja
 Gs – przewodność szparkowa
 E - ewaporacja
 WUE – wydajność zużycia wody

W sumie wczytano dane dla 348 roślin z 29 obiektów. W przypadku niektórych parametrów jest bardzo duże zróżnicowanie między powtórzeniami biologicznymi należącymi do tych samych obiektów. Przykładem może być mtz (masa tysiąca ziarniaków) gdzie są przynajmniej 3 rośliny znacząco odstające od pozostałych. Dane są dużo bardziej zrównoważone ale można również zauważyć, że rośliny odstające w jednym parametrze nie są odstającymi w innych, np. poziom ekspresji żytniego genu APX1.

- zawartością chlorofilu a a ilością kłosów
- zawartością karotenu a masą tysiąca ziarniaków
- QYmax (F_v/F_m) a ilością kłosów i masą tysiąca ziarniaków
- poziomem ekspresji genu LSD1 i EDS1.

Z drugiej strony zaobserwowano negatywną korelację pomiędzy:

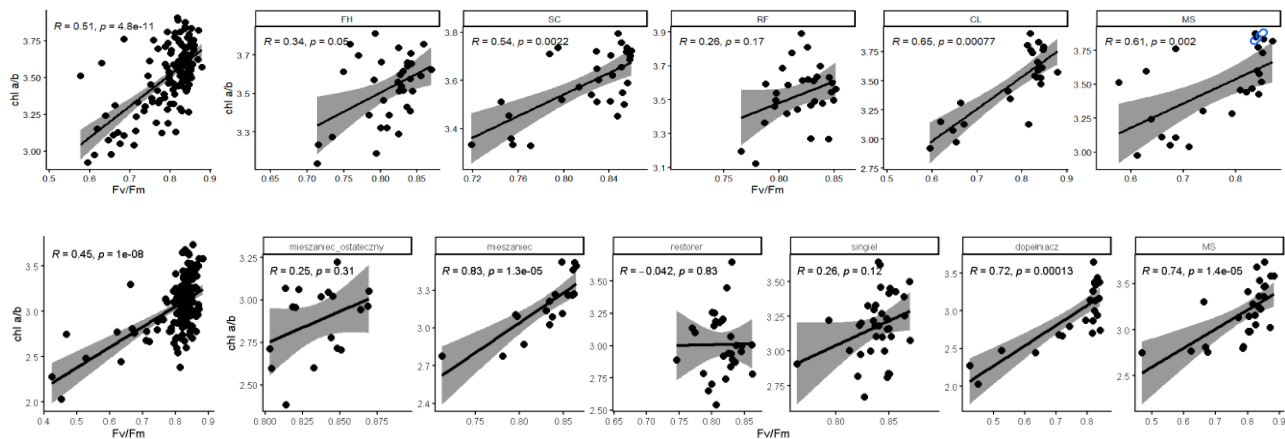
- F_0 a QYmax (F_v/F_m) (-0,79 2022 r., -0,9 2023 r. i w -0,78 w 2024 r.)
- zawartością nadtlenu wodoru a ilością kłosów (-0,3 2022 r., -0,16 2023 r., -0,38 w 2024 r.) i masą tysiąca ziarniaków (-0,32 2022 r., -0,16 2023 r., -0,14 w 2024 r.) (potwierdzone również z 2021 r.)
- zawartością nadtlenu wodoru a poziomem ekspresji genu APX1 (-0,35 2023 r. -0,46 w 2024 r.)
- F_0 a ilością kłosów (-0,27 2022 r., -0,26 w 2023 r., -0,28 w 2024 r.)



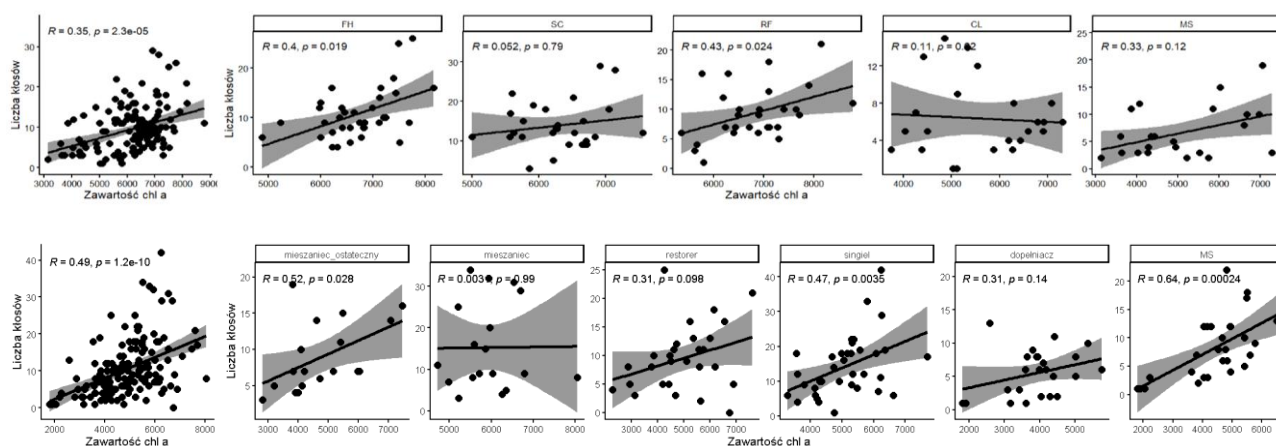
niezrównymi

parametrami z uwzględnieniem wszystkich analizowanych obiektów.

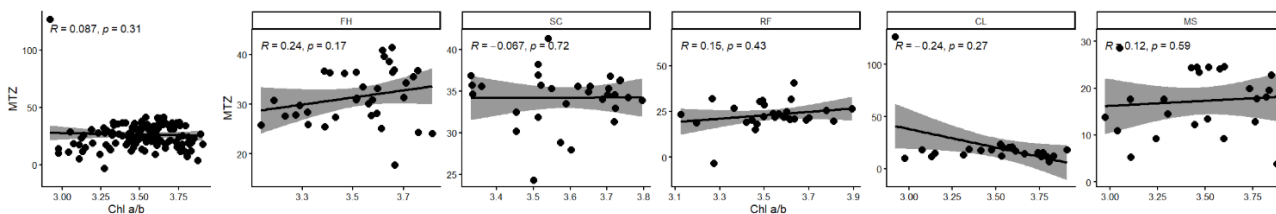
Podobnie jak w poprzednich latach największe korelacje występują w obrębie grup badanych parametrów (np. między różnymi barwnikami fotosyntetycznymi). Korelacje parametrów z różnych grup są znacznie mniejsze. Niemniej jednak zwraca uwagę podobnie do danych z 2022 i z 2023 r. korelacja między F_v/F_m (QY_max) a stosunkiem chl a/b (chl_a.b). Wykresy przedstawiające te zależności znajdują się poniżej:



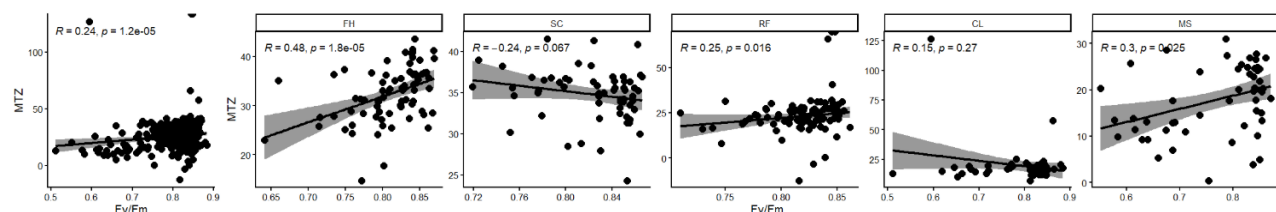
Rycina 3. Analiza korelacji między maksymalną wydajnością PSII (F_v/F_m) a stosunkiem chlorofilu a/b (górny rząd z 2025 a dolny z 2024 r). Podobna korelacja jest również obserwowana w 2023 i w 2022 r.



Rycina 4. Analiza korelacji między stosunkiem chl a/b a liczbą kłosów (górny rząd z 2025 a dolny z 2024 r). Bardzo podobna korelacja jest również w 2022 r.



Rycina 5. Analiza korelacji między MASĄ TYSIĄCĄ NASION (MTZ) a zawartością chlorofilu a i b (Chl a/b).

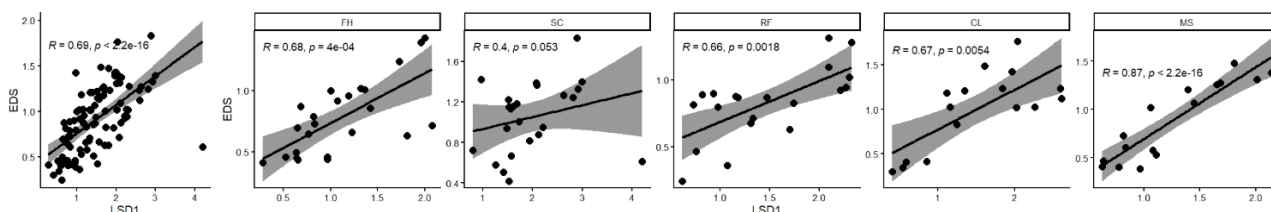


Rycina 6. Analiza korelacji między MASĄ TYSIĄCĄ NASION (MTZ) a maksymalną wydajnością fotosyntezy (F_v/F_m).

Poziom ekspresji wybranych genów

Przeanalizowano ekspresję 3 genów w odniesieniu do 2 genów referencyjnych we wszystkich obiektach. Dla każdego obiektu badano 3 powtórzenia biologiczne. Eksperyment wykonano w 3 powtórzeniach technicznych. Listę primerów przedstawiono w tabeli poniżej:

Nazwa genu	Rola	Primer F	Primer R
ScACT	Gen referencyjny	CCCCTTTGAACCCAAAAGCC	GAAAGCACGGCCTGAATAGC
ScADP-RFa	Gen referencyjny	TCTCATGGTTGGTCTCGATG	GGATGGTGGTGACGATCTCT
ScLSD1	Gen badany	ATGCATGCACCAAACGGAAT	ACGTTGCTCACCAGTTTTCC
ScAPX1	Gen badany	CTGAGTGGGGAGAAGGAAGG	CCGCAGCATATTTGTCCACA
ScEDS	Gen badany	CATCATGCCACTGGACATCA	ACAAGCGAATTCCTCAACAGG



Analiza korelacji ekspresji ScAPX1 versus ScEDS1 w badanych obiektach żyta..

Wnioski

1. W mieszańcu ostatecznym w 2022 i 2023 r. znaleziono silne pozytywne korelacje między chl. a/b a parametrem fluorescencji chlorofilu QYmax (Fv/Fm) oraz między QYmax a masą tysiąca ziaren (mtz), co było obiecujące dla osiągnięcia celów projektu. W 2024 r tej korelacji nie zaobserwowano. W 2025 ponownie zaobserwowano silną korelację chl. a/b a parametrem fluorescencji chlorofilu QYmax (Fv/Fm) oraz między QYmax a masą tysiąca ziaren (mtz),
2. W roku (2024) znaleziono stosunkowo silną pozytywną korelację (0,42 i 0, 45) między SA i WUE oraz negatywną (0,4) między ekspresją ScAPX1 a WUE, które się potwierdziła w roku 2025 (0,4 i 0,4).
3. W latach 2022 i 2023 znaleziono słabsze pozytywne korelacje pomiędzy mztz oraz innymi parametrami plonu a QYmax i niektórymi barwnikami fotosyntetycznymi w liniach MS, mieszańcach i singlach, natomiast ta sama korelacja była negatywna w przypadku restorera. Te rezultaty w 2024 nie potwierdziły się. W 2025 ponownie zaobserwowano te korelacje
4. Biorąc pod uwagę, że mieszaniec ostateczny F1 powstaje jako rezultat skrzyżowania restorera z singlem, należy zwrócić baczną uwagę w 2025 na następujące przeciwstawne korelacje:
 - a. masy tysiąca ziaren (mtz) i parametru QYmax gdzie mamy odwrotną zależność między singlem a restorerem i powstałym mieszańcem ostatecznym.
 - b. poziomem ekspresji genów ScAPX1, ScLSD1 i ScEDS1 a parametrami plonu, oraz poziomem A, Gs i E
 - c. podobnie singiel powstający z krzyżówki MS i dopełniacza wykazuje pozytywne korelacje QYmax z mztz oraz innymi parametrami plonu na średnio-pozytywnym poziomie, podczas gdy te korelacje są różne (pozytywne lub negatywne) u MS i dopełniacza.
 - d. podobnie parametry WUE korelują przeciwstawnie w singlu i dopełniaczu versus MS.
5. Eksperymenty w 2025 potwierdziły te korelacje.
6. Analiza korelacji większości badanych cech jest powtarzalna między latami.
7. Te rezultaty wskazują, że wprowadzenie do hodowli żyta nowych fizjologicznych markerów w tym markerów mierzonych telemetrycznie, jak QYmax, mierzonych na wczesnym etapie rozwoju rośliny nadal jest obiecujące i może umożliwić przyspieszenie procesu hodowli nowych odmian żyta i zredukować koszt.

7. Rezultaty te są obecnie publikowane: 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 Rusaczonek, Muhammad Kamran, Roshanak Zarrin Ghalami, Alina Majnert, Jarosław Bojarczuk, Piotr Gawroński, Stanisław Karpiński * (received 28.10.2025, accepted 05.12.2025). Poniżej podaje treść maila z 05.12.2025

Your paper has been accepted for publication in the journal *Plants*. We will publish your paper as soon as the proofreading and editing have been completed.

The invoice is related to the following manuscript:
Manuscript ID: plants-3982885 Type of manuscript: Article
Title: From Light Harvesting to Grain Filling: Chlorophyll Fluorescence, Pigment Composition, and Oxidative Status as Discrete Yield Determinants in Rye
Authors: Maria Duszyn, Paweł Burdiak, Joanna Dąbrowska-Bronk, Anna Rusaczonek, Muhammad Kamran, Roshanak Zarrin Ghalami, Alina Majnert, Jarosław Bojarczuk, Stanisław Karpiński *, Piotr Gawroński
Received: 28 Oct 2025

5. Literatura

Bernacki MJ et al., 2018, *Physiol Plant*. Nov 20. doi: 10.1111/ppl.12863;
Czarnocka et al., 2017 *Plant, Cell & Env*. 40, 2644–2662 doi: 10.1111/pce.12994;
Gilroy et al., 2016, *Plant Physiology* 171, 1606 – 1615, <https://doi.org/10.1104/pp.16.00434>
Szechyńska-Hebda et al., 2010 *Plant Cell* 22; 2201 – 2218 <https://doi.org/10.1105/tpc.109.069302>
Wituszyska W et al., *Plant Physiol*. 2013 Apr;161(4):1795-805. doi: 10.1104/pp.112.208116

6. Mierniki zadania – stopień realizacji

Lp.	Miernik ⁴	Wartość miernika podana w opisie zadania	Wartość miernika zrealizowana	Stopień realizacji zadania
1	2	3	4	5
temat badawczy 1				
1.1	Parametr RFD (Fm/Fs) dla 29 komponentów żyta	348 pomiary	348	100%
1.2	Parametr QYmax (=Fv/Fm) dla 29 komponentów żyta	348 pomiary	348	100%
1.3	Parametr Qp Fm'/Fs dla 29 komponentów żyta	348 pomiary	348	100%
1.4	Parametr NPQ dla 29 komponentów żyta	348 pomiary	348	100%
1.5	Parametr gs (wymiana gazowa) żyta	174 pomiary	174	100%
1.6	Plon nasion z danego komponentu żyta	348 pomiary	348	100%
1.7	Pigmenty	174 pomiary	174	100%
temat badawczy 2				
2.1	Pomiar SA w liściach	29 pomiary	29	100%
2.2	Pomiar H ₂ O ₂ w liściach	174 pomiary	174	100%
2.3	Pomiar wymiany gazowej WUE, A, Gs	Po 174 pomiarów dla parametru	174	100%
2.4	Pomiar poziomu ekspresji dla 5 genów (APX1, EDS1, LSD1 oraz dwóch genów referencyjnych)	1740 reakcji	1740	100%
temat badawczy 3				
3.1	Funkcja zależności QYmax lub chl a/b od plonowania.	1	1	100%
ŚREDNIA			1,0	
% REALIZACJI ZADANIA			100%	

Załączniki⁵:

Kserokopia plakatu/ artykułu –

Artykuł in Plants 2025, 14, 3746, Duszyn et al., 2025

Wyniki badań dla wszystkich zadań są dostępne na stronie internetowej <https://www.sggw.edu.pl/projekty/projekty-krajowe/dotacje-mrirw-2/>

⁴ Podać miernik – np. ilość planowanych testów, prób, badanych genotypów etc.

⁵ Podać listę oraz dołączyć do sprawozdania kopie posterów/wyciągi z materiałów konferencyjnych/publikacje etc. W nawiasie podać, na której stronie sprawozdania znajdują się prezentowane wyniki.

Sporządzono: Warszawa, 07.01.2026

Pieczęć jednostki

Osoba reprezentująca jednostkę

Kierownik zadania

podpis i pieczęć

podpis