

**SPRAWOZDANIE MERYTORYCZNE**

z realizacji zadania na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej w 2024 roku

**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: **2024 r.**Planowane nakłady w zł: **199 200****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](mailto: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 Rusaczonek	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  
Szkoła 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  
Szkoła 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

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<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), z potencjałem plonotwórczym roślin. Ta metoda będzie miała zastosowanie dla każdej rośliny, bo polega na badaniu zależności wyżej wymienionych cech z telemetrycznymi pomiarami sprawności cieplnej 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.

### 1. Cele zadania

Lp.	Cel	Czy cel został zrealizowany (tak/nie/częściowo)
1.	Określenie różnic/podobieństw w komponentach żyta użytych do krzyżowań (objektach) względem stabilnej linii referencyjnej TUR w mierzonych telemetrycznie parametrach fluorescencyjnych chlorofilu liści eksponowanych na niskie i wysokie natężenie światła na wczesnym etapie rozwoju rośliny.	TAK
2.	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 (chlorofile i karetonoidy). Zostaną określone różnice w ekspresji wybranych markerów molekularnych (APX1, LSD1, EDS1) w porównaniu do dwóch genów referencyjnych żyta. Zostanie zmierzona wymiana gazowa i liczba aparatów szparkowych. Zostanie również zmierzona aktywność CAT, w liściach żyta wybranych obiektów na wczesnym etapie rozwoju. Na końcu zmierzony zostanie plon nasion w tych zróżnicowanych obiektach.	TAK
3.	Celem tych badań będzie wstępne określenie poziomu korelacji parametrów molekularnych, fizjologicznych z parametrami telemetrycznymi (modulowana fluorescencja chlorofilu a).	TAK

### 2. Harmonogram realizacji zadania

Lp.	Nazwa tematu badawczego	Termin rozpoczęcia – zakończenia realizacji tematu badawczego w miesiącach od rozpoczęcia realizacji zadania	Przewidywane koszty realizacji tematu badawczego w 2024 r.
1	Opracowania kompleksowe z analiz i pomiarów WUE, pigmentów, aparatów szparkowych, transpiracji, asymilacji, fluorescencji chl. a i temperatury liści, kinetyki śmierci komórki liści, SA, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , cyklu VAZ, aktywności markerowych enzymów, wysokości plonu, odporności na stres świetlny, etc. w certyfikowanych odmianach i komponentach do krzyżowań żyta	Kwiecień - grudzień	99 200
2	Analizy i opracowania pomiarów w z ekspresji wybranych markerowych genów oraz aktywności markerowych enzymów 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 zaplanowanych na 2024r.

#### 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 mierzonych w niskim i wysokim natężeniu światła, w 29 wyselekcjonowanych mieszańcach i komponentach użytych do hodowli tych mieszańców. Wykonanie pomiarów poziomu chlorofilu 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 2024 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 (12x29=348). Pomiary wymiany gazowej dokonywane będą za pomocą aparatu CIRAS-3 (PP Systems, USA) w 6 powtórzeniach (6x29=174). Pigmenty i kwas salicylowy będą mierzone w 6 powtórzeniach (6x29=174) na Shimadzu HPLC spektrofotometrycznie.

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

Lp.	Miernik <sup>1</sup>	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

<sup>1</sup> Podać miernik – np. ilość planowanych testów, prób, badanych genotypów etc.

### 3.2. Temat badawczy 2

Analiza i opracowanie pomiarów zawartości kwasu salicylowego i wody utlenionej oraz ekspresji genów (APX1, EDS1, LSD1 oraz dwóch genów referencyjnych) liczby aparatów szparkowych w certyfikowanych odmianach i ich komponentach urzytych do krzyżowań żyta.

**Cel TB2 założony na 2024 został osiągnięty w całości.**

#### Cel tematu badawczego 2

Celem tego tematu badawczego jest określenie różnic/podobieństw w zawartości kwasu salicylowego (SA), nadtlenu wodoru (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) oraz aparatów szparkowych względem barwników fotosyntetycznych (z tematu badawczego 1) w liściach wyselekcjonowanych 29 mieszańców i ich komponentów, oraz skorelowania tych wartości z plonowaniem i fluorescencją chlorofilu a (z TB 1.). Celem jest również ustalenie poziomów ekspresji kilku ważnych molekularnych markerów (ScAPX1, ScLSD1 i ScEDS1 oraz dwóch genów referencyjnych). Wszystkie pomiary SA i H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oraz aparatów szparkowych zostały wykonane przynajmniej w 6 powtórzeniach (6x29=174 pomiary). Ze względu na czasochłonną procedurę oznaczania ilości kwasu salicylowego oraz słabą, powtarzającą się w poprzednich latach, korelację tego czynnika z innymi mierzonymi parametrami, w tym roku SA został oznaczony jednorazowo w 6 powtórzeniach biologicznych powtórzonych w jedną próbę badaną. Natomiast pomiary ekspresji 5 genów zostały zrobione w 4 biologicznych i 3 technicznych powtórzeniach w 29 mieszańcach i komponentach żyta, w celu wzmocnienia analiz statystycznych.

#### Materiały i metody

Standardowa metodyka laboratorium prof. Karpińskiego opisana w wielu publikacjach jego zespołu będzie stosowana do pomiarów pigmentów, stężenia SA, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> w liściach mieszańców i komponentów żyta (29) na wczesnym etapie rozwoju rośliny. Eksperymenty zostały założone w HR Smolice. W skrócie, SA zostało zmierzone na Shimadzu HPLC, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> spektrofotometrycznie. Liczba aparatów szparkowych została ustalona na jednostkę powierzchni liścia z wykorzystaniem mikroskopu konfokalnego. Pomiary H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> i liczby aparatów szparkowych zostały wykonane w 6 powtórzeniach (6x29=174). Pomiary SA zostały wykonane w 6 powtórzeniach biologicznych połączonych w jedną próbę badaną (1x29=29). Zostały ustalone poziomy ekspresji 3 molekularnych markerów (ScAPX1, ScLSD1 i ScEDS1) oraz 2 referencji zostały wykonane w 4 biologicznych i 3 technicznych powtórzeniach (4x3x5x29=1740 reakcji).

Tabela 2. Zaplanowane i wykonane mierniki dla tematu badawczego 2

Lp.	Miernik <sup>2</sup>	Wartość miernika podana w opisie zadania	Wartość miernika zrealizowana
1.	Pomiar SA w liściach	29 pomiary	1. 29
2.	Pomiar H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 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

<sup>2</sup> Podać miernik – np. ilość planowanych testów, prób, badanych genotypów etc.

Wyprowadzenie równań dyskretnej współzależności poziomów SA, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ekspresji genów i pigmentów w liściach, od parametrów fluorescencyjnych gs i zawartości pigmentów w liściach; ekspresji genów w liściach od potencjału plonowania, podobnie jak opisano w publikacji zespołu prof. Karpińskiego (Bernacki i wsp., 2018). Analizy zostały przeprowadzone w SGGW w Warszawie. Wykonano wstępne regresyjne matematyczne modelowanie dyskretnych zależności tych cech.

**Cel TB3 założony na 2024 został osiągnięty w całości.**

### Materiały i metody

Wzór analityczny omawianej funkcji regresji został złożony w dwóch etapach. W pierwszej analizowano zbiory odpowiednich funkcji elementarnych, zaczynając od najmniej skomplikowanej do bardziej skomplikowanej, aż do zadowalającego podobieństwa do zbioru punktów. W ten sposób każdemu eksperymentowi podporządkowujemy funkcję zmiennej x zależnej 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 zostały obliczone 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

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

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

### **Wyniki i Dyskusja**

Na podstawie badań przeprowadzonych w latach poprzednich do dalszych analiz wyselekcjonowano 29 linii żyta (obiekty). Z uwagi na zróżnicowane warunki wzrostu roślin na polu (wpływ czynników biotycznych i abiotycznych: susza i patogeny), niemożliwe do przewidzenia w danym sezonie, analizy statystyczne zostały przeprowadzone w oparciu o wyniki z 25 linii żyta, zestaw wyników dla 4 linii żyta był niemożliwy do odczytu, a jednocześnie niemożliwy do uwzględnienia w analizach statystycznych. Badane linie reprezentują następujące grupy: M - mieszańiec końcowy (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, 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 witalności). RFD wskazuje poziom spadku intensywności fluorescencji z fluorescencji maksymalnej ( $F_m$ ) do fluorescencji w stanie steady state i mówi to o witalności roślin i zdolności adaptacji do warunków środowiskowych.

<sup>3</sup> Podać miernik – np. ilość planowanych testów, prób, badanych genotypów etc.

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  
antera - anteraksantyna  
lut - luteina  
zea - 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<sub>2</sub>O<sub>2</sub> – 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 miz (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 APX.



Rycina 1. Macierze obrazujące różnicę wartości mierzonych parametrów w porównaniu do średniej w obrębie tych obiektów. Wartość 0 oznacza średnią dla obiektu, a wartość 0.2 oznacza że w danej roślinie wartość parametru jest większa o 20% w porównaniu do średniej w danym obiekcie. Niektóre parametry biochemiczne były mierzone na mniejszej liczbie powtórzeń, dlatego te pola w obrębie macierzy zaznaczono kolorem szarym. W rycinie 1 przedstawiono przykładowe macierze 8 analizowanych obiektów.

Następnie wykonano analizę i macierz korelacji prezentującą zależności pomiędzy wszystkimi mierzonymi parametrami. Dla poszczególnych parametrów wartości zostały wyliczone na podstawie współczynnika korelacji Spearmana. Tak jak w 2022 i 2023 r. zaobserwowano w 2024 r. mocną pozytywną korelację w obrębie grup badanych cech:

- barwniki fotosyntetyczne, plonowanie czy WUE i wymiana gazowa
- ilością ziarniaków a masą ziarniaków -  $QY_{max} (F_v/F_m)$  a zawartością karotenu
- $QY_{max} (F_v/F_m)$  a zawartością chlorofilu

- czy różnych cech z różnych grup ( $F_v/F_m$  i chl.a czy mtz)

Spośród innych pozytywnych korelacji na szczególną uwagę pod kątem hodowlanym zasługuje korelacja między:

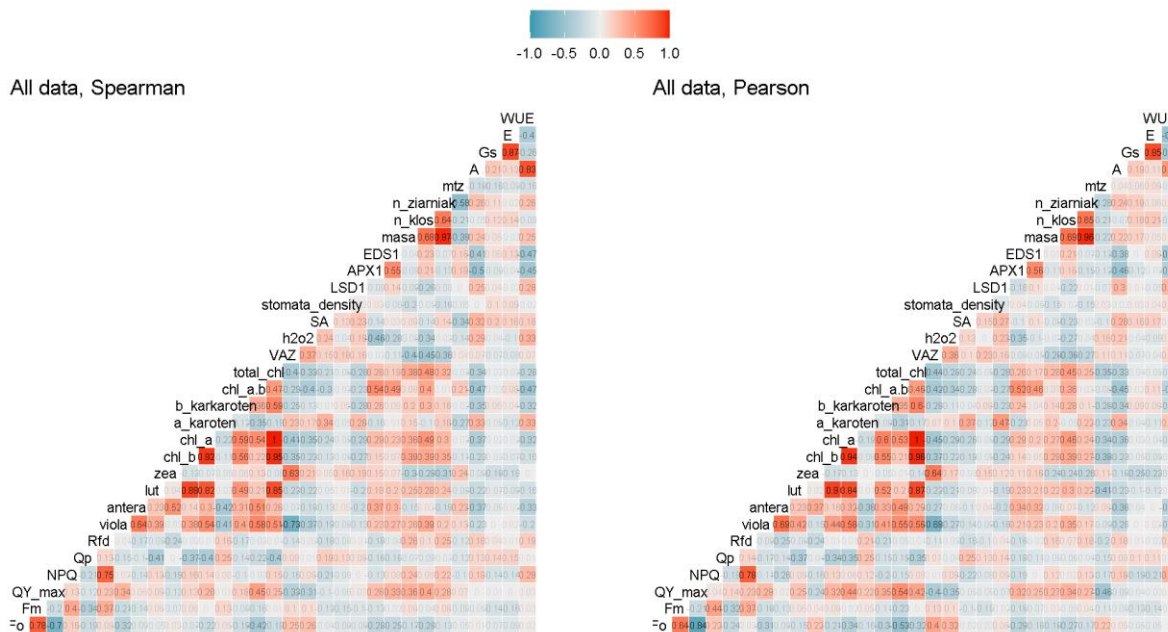
- zawartością karotenu a ilością kłosów
- zawartością chlorofilu a a ilością kłosów
- zawartością karotenu a masą tysiąca ziarniaków



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

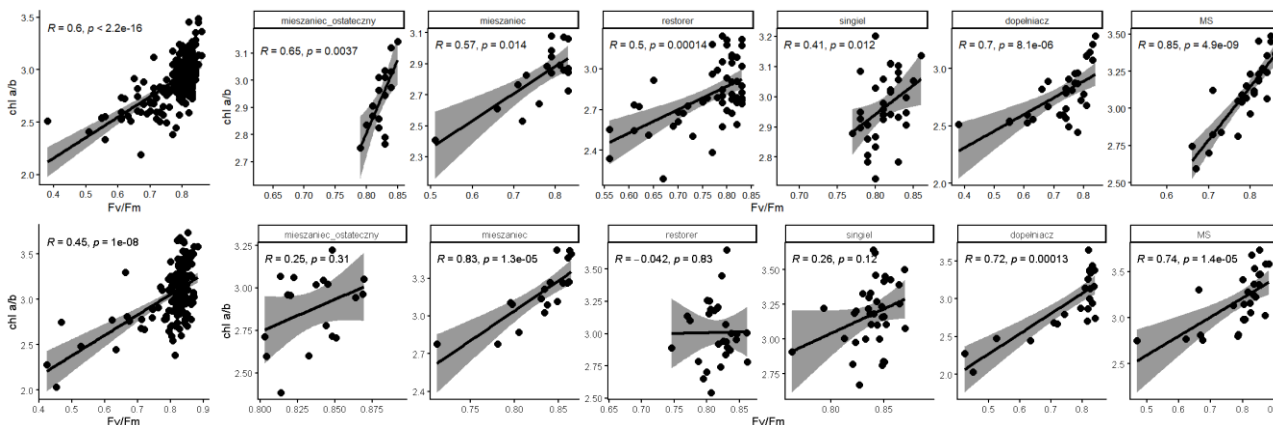
Z drugiej strony zaobserwowano negatywną korelację pomiędzy:

- $F_0$  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., -014 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.)

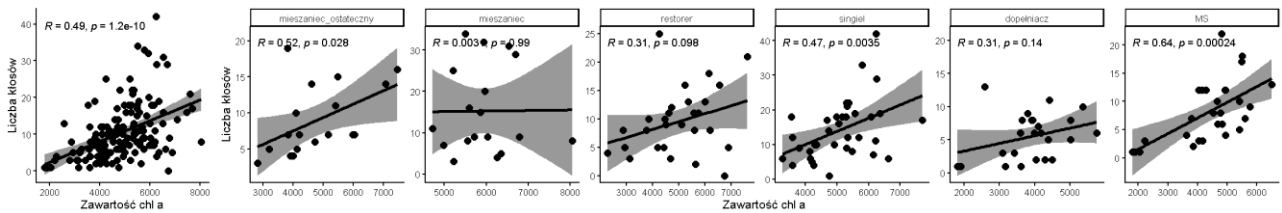


Rycina 2. Wykres obrazujący współczynnik korelacji Spearmana i Pearsona pomiędzy wszystkimi mierzonymi parametrami z uwzględnieniem wszystkich analizowanych obiektów.

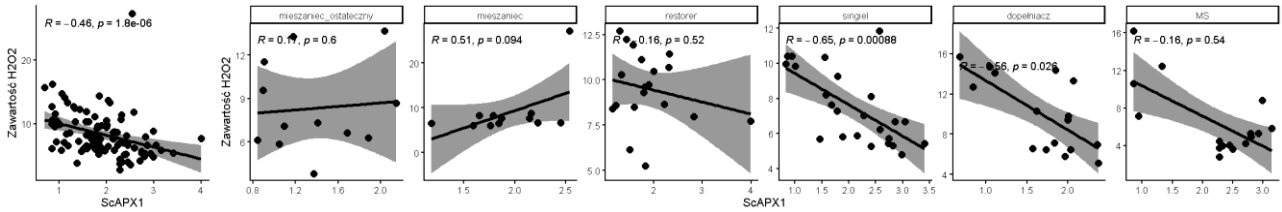
Podobnie jak w poprzednich latach największe korelacje występują w obrębie grup badanych parametrów (np. między różnymi barwnikami fotosyntetycznymi). Korelacje parametrów z różnych grup są znacznie mniejsze. Niemniej jednak zwraca uwagę podobnie do danych z 2022 i z 2023 r. korelacja między  $F_v/F_m$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



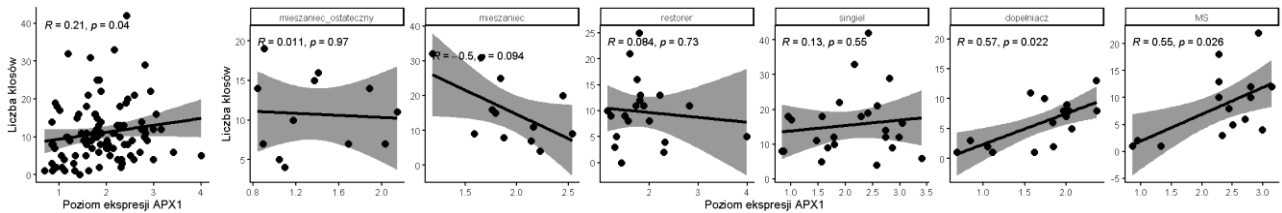
Rycina 3. Analiza korelacji między maksymalną wydajnością PSII ( $F_v/F_m$ ) a stosunkiem chlorofilu a/b (górny rząd z 2023 a dolny z 2024 r). Bardzo podobna korelacja jest również w 2022 r.



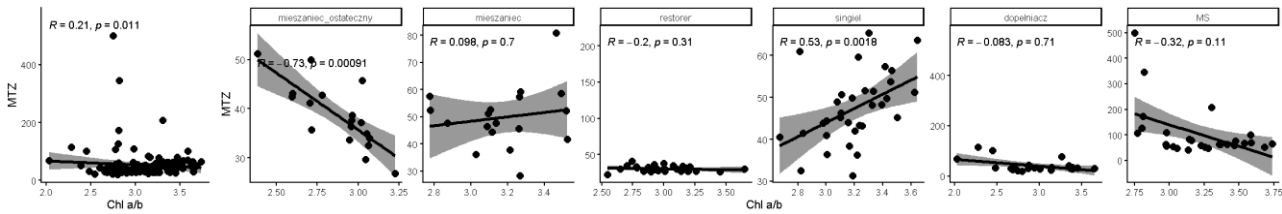
Rycina 4. Analiza korelacji między stosunkiem chl a/b a liczbą kłosów.



Rycina 5. Analiza korelacji między zawartością  $H_2O_2$  a poziomem ekspresji APX1.



Rycina 6. Analiza korelacji między liczbą kłosów a poziomem ekspresji APX1.



Rycina 7. Analiza korelacji między masą tysiąca ziarniaków (MTZ) a zawartością alfa-karotenu.

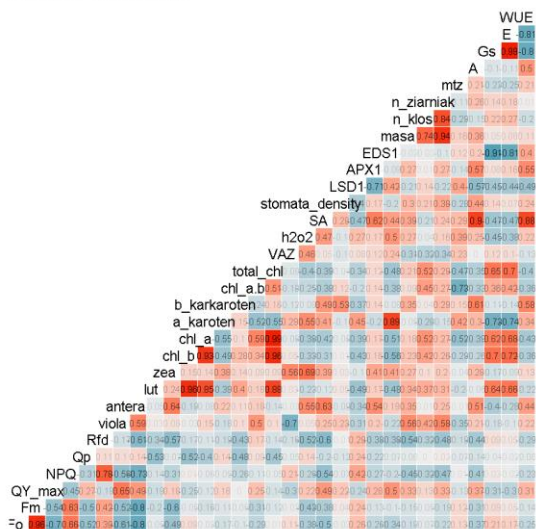
Poniżej zaprezentowano macierze korelacji Spearmana po analizie dla poszczególnych analizowanych grup (M – mieszaniec końcowy; R – restorer; S – singiel; D – dopełniacz; MS – linia męsko sterylana)

Interesujące są niezbyt wysokie korelacje między różnymi parametrami plonu oraz barwnikami fotosyntetycznymi oraz parametrami fluorescencyjnymi jak  $QY_{max}$  ( $F_v/F_m$ ). Poniżej zostało przedstawione jak wygląda korelacja dla wszystkich roślin w obrębie każdego obiektu oraz w obrębie grup funkcjonalnych dla różnych parametrów. W grupie mieszańców ostatecznych rzuca się w oczy wyraźna pozytywna korelacja pomiędzy barwnikami fotosyntetycznymi a parametrami plonu (z wyj. a\_karotenu), zwłaszcza ilością kłosów oraz ilością i masą ziarniaków. Oraz pomiędzy zawartością kwasu salicylowego (SA) a WUE czy A. Z drugiej strony w tej grupie zaobserwowano negatywną korelację pomiędzy parametrami fotosyntetycznymi a  $q_p$  (= fotochemiczne wygaszanie energii wzbudzenia) z wyj. mocnej pozytywnej korelacji z  $QY_{max}$ . Spośród wszystkich analizowanych grup w grupie ekspresji genów zaobserwowano ponadto najbardziej wyraźną negatywną korelację pomiędzy APX1 i LSD1 (-0,71 i -0,62). Podobnie mamy bardzo silną negatywną korelację ekspresji EDS1 z Gs i E (0,91 i 0,81 odpowiednio) i jest ona potwierdzona pozytywną negatywną korelacją z LSD1 i z SA (0,47). SA mocno koreluje z WUE (0,88 lub 0,9).

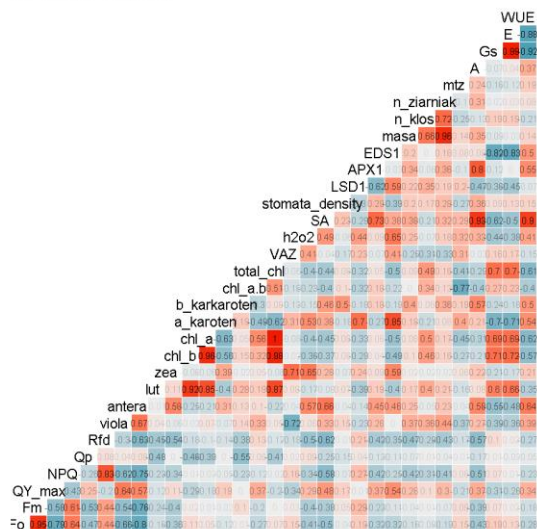
### Mieszaniec ostateczny



All data, Spearman



All data, Pearson



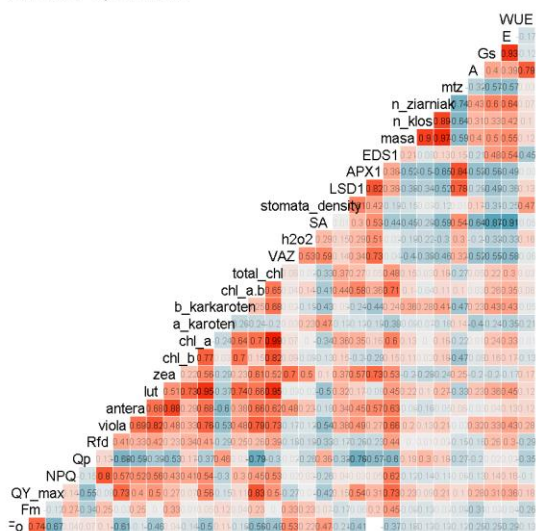
Rycina 8. Analiza korelacji dla wszystkich mierzonych parametrów na wszystkich danych w obrębie roślin mieszaniec ostateczny.

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 QYmax (0,51 w 2022 r. 0,31 w 2023 r.). W 2024 r. te korelacje nie potwierdziły się. Spośród wszystkich analizowanych grup w grupie ekspresji genów zaobserwowano ponadto najbardziej wyraźną pozytywną korelację pomiędzy APX1 i LSD1 (0,82 i 0,73). Dla poziomu ekspresji genów APX1 i LSD1 zaobserwowano silną pozytywną korelację w mieszańcu z masą tz (0,84 i 0,78) i jednocześnie negatywną korelację z ilością ziarniaków (0,65 i 0,52).

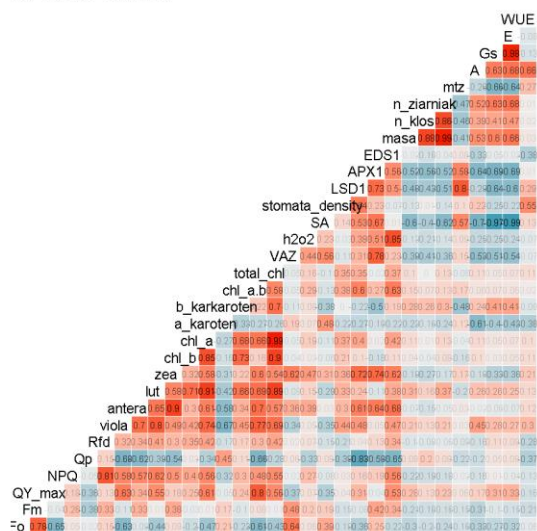
### Mieszaniec



All data, Spearman

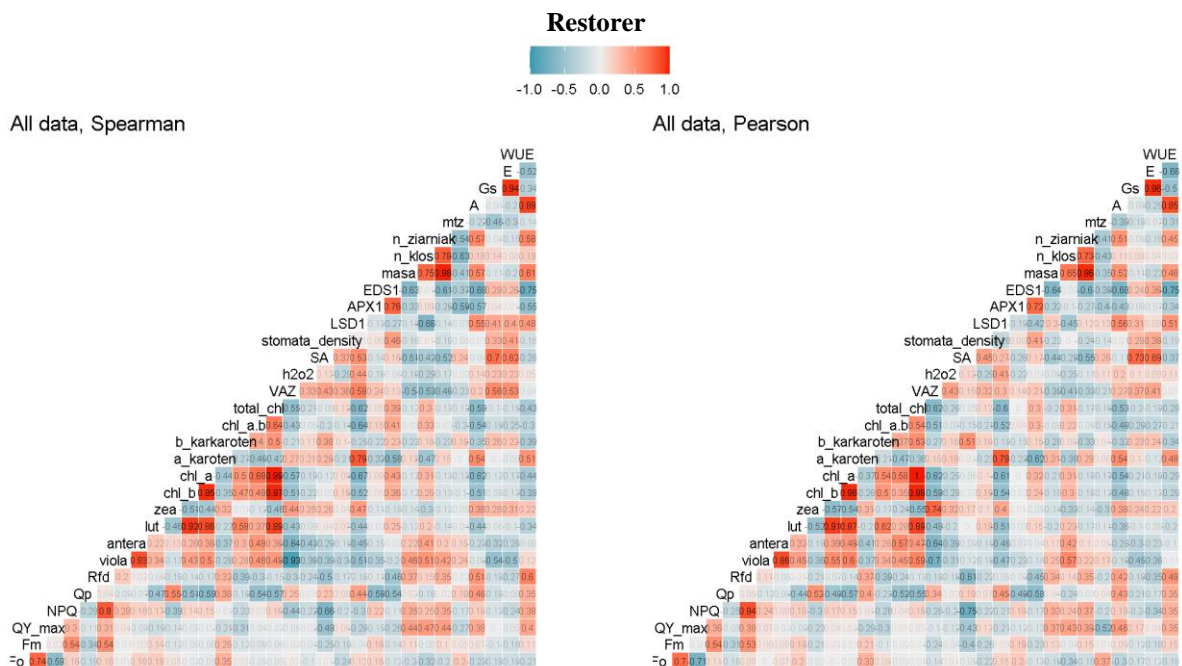


All data, Pearson



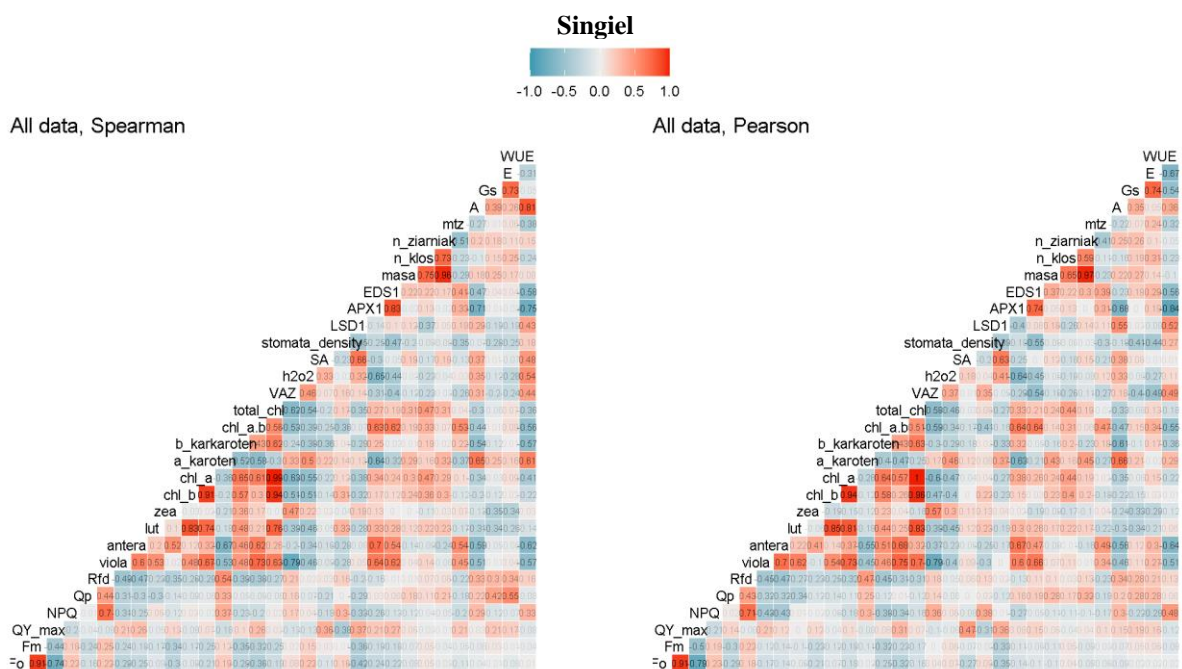
Rycina 9. Analiza korelacji dla wszystkich mierzonych parametrów na wszystkich danych w obrębie roślin mieszaniec





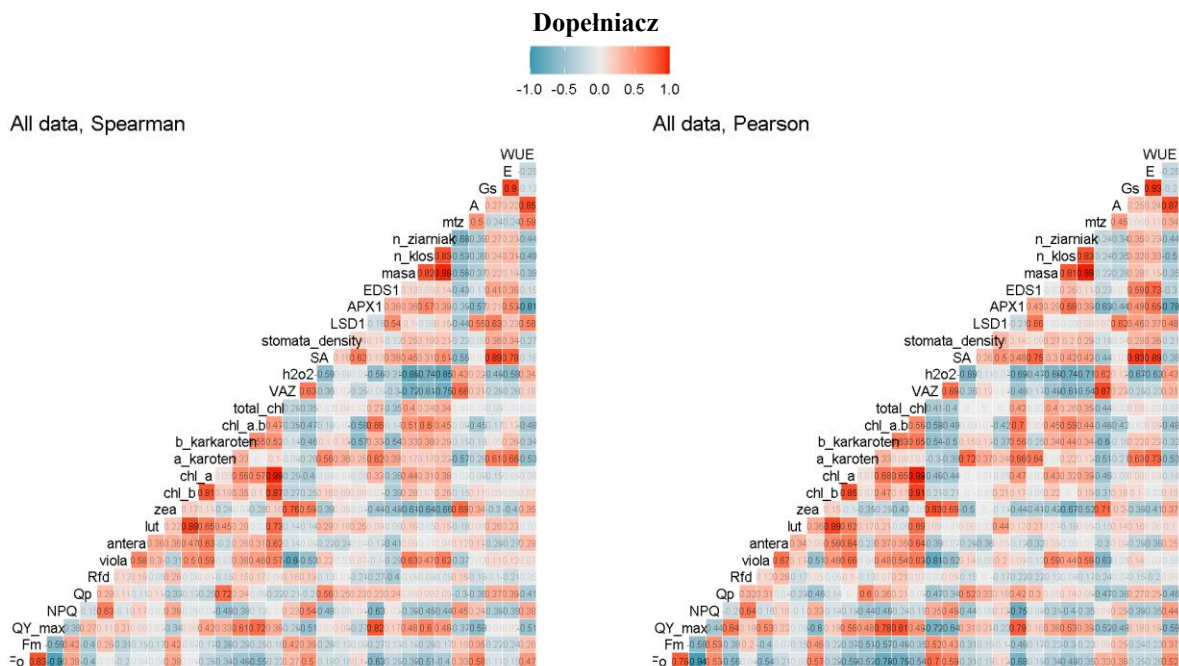
Rycina 10. Wykres obrazujący współczynnik korelacji pomiędzy wszystkimi mierzonymi parametrami z uwzględnieniem analizowanych restorerów.

W grupie restorerów zaobserwowano najmniej istotne korelacje spośród wszystkich analizowanych grup. Na uwagę zasługuje tu negatywna korelacja między masą tysiąca ziarniaków czy WUE a poziomem ekspresji APX1 (0,59 i 0,55 w 2024 r.) oraz zaobserwowaliśmy również pozytywną korelację poziomu ekspresji APX1 z mtz (0,43) i mocną negatywną korelację poziomu ekspresji EDS1 z liczbą kłosów (-0,52).



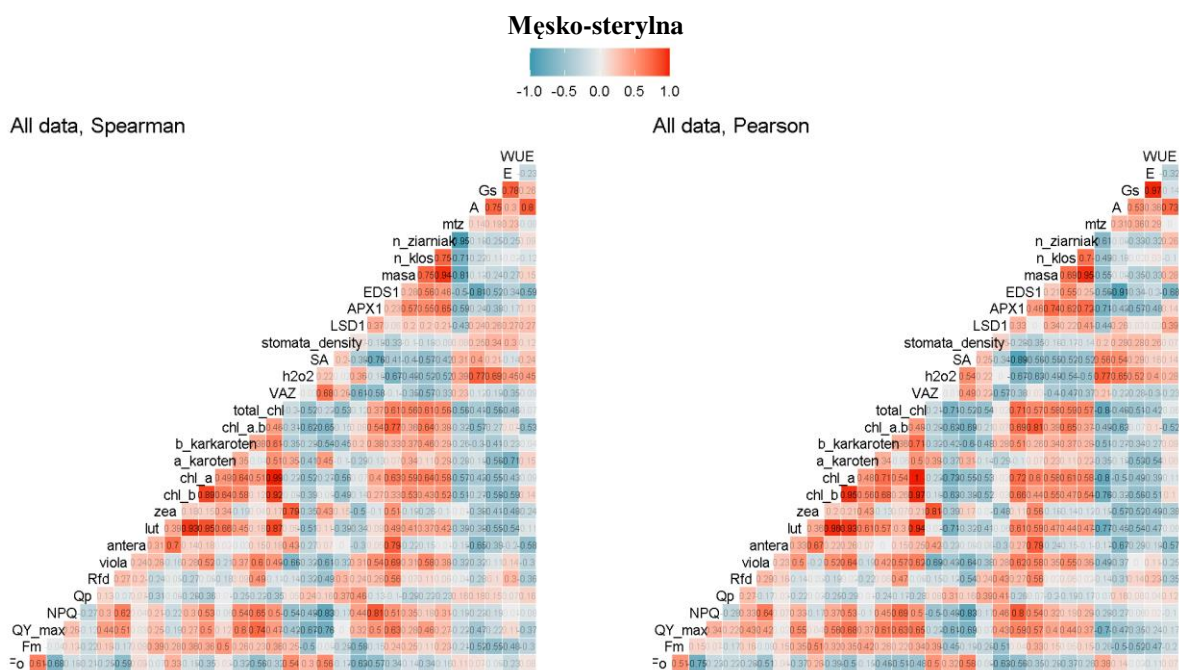
Rycina 11. Wykres obrazujący współczynnik korelacji pomiędzy wszystkimi mierzonymi parametrami z uwzględnieniem analizowanych singli.

W grupie singli w 2023 zaobserwowano silne negatywne korelacje między poziomem ekspresji APX1 a mtz (-0,84) a n\_ziaren (-0,52) a n\_kłos (-0,56), a masą (-0,69); w szerokości aparatów szparkowych a mtz (-0,6) oraz w stosunku chlorofilu a/b a poziomem ekspresji LSD1 (-0,72). W 2024 te korelacje są pozytywne (0,35) lub brakuje korelacji.



Rycina 12. Wykres obrazujący współczynnik korelacji pomiędzy wszystkimi mierzonymi parametrami z uwzględnieniem analizowanych dopelniaczy.

W grupie dopelniaczy również zaobserwowano wyraźne negatywne korelacje między barwnikami fotosyntetycznymi (chlorofil a, b, karoten, VAZ, lut., EDS1) a analizowanymi parametrami plonu. Zaobserwowano negatywną korelację między zawartością zeaksantyny n\_kłosów i n\_ziarniaków natomiast między MTZ korelacja ta jest pozytywna.



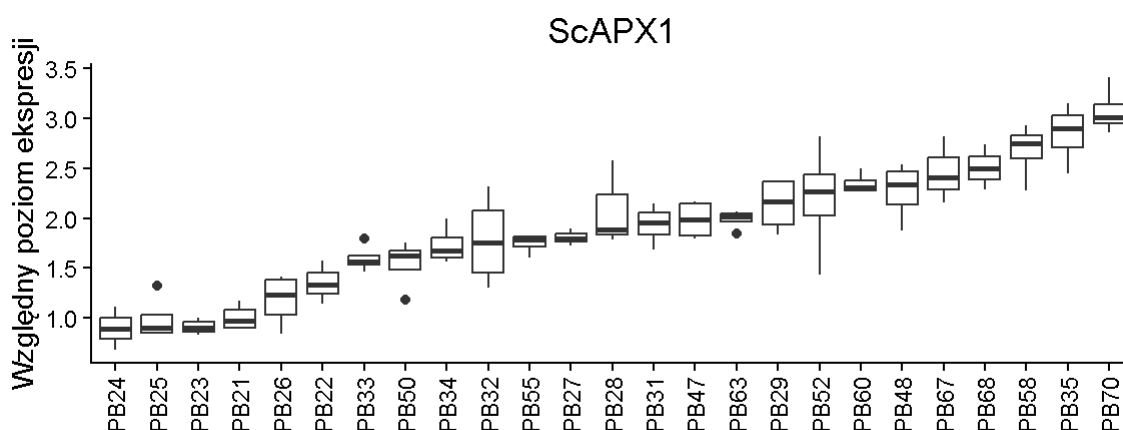
Rycina 15. Wykres obrazujący współczynnik korelacji Spearmana pomiędzy wszystkimi mierzonymi parametrami z uwzględnieniem analizowanych MS.

W grupie linii męsko-sterylnych zaobserwowano wyraźną pozytywną korelację pomiędzy QYmax ( $F_v/F_m$ ) a n\_kłosów i masą. W tej grupie QYmax jak i lut, chl a/b pozytywnie korelują również z innymi parametrami plonu.

## Poziom ekspresji wybranych genów

Przeanalizowano ekspresję 3 genów w odniesieniu do 2 genów referencyjnych we wszystkich obiektach. Dla każdego obiektu badano 4 powtórzenia biologiczne i 3 powtórzenia techniczne. Listę primerów przedstawiono w tabeli poniżej:

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



Ponownie zaobserwowano ponad 7-krotną różnicę poziomu ekspresji ScAPX1 w badanych obiektach żyta. Podobnie zaobserwowano dla ScLSD1 i ScEDS1.

## 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. Dlatego decydującym będzie ostatni rok projektu. Jednak w tym roku (2024) znaleziono silną korelację między SA i WUE.
2. W latach 2022 i 2023 znaleziono słabsze pozytywne korelacje pomiędzy mTZ 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.
3. Biorąc pod uwagę, że mieszańiec 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 mTZ 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.
4. Eksperymenty 2025 będą decydujące dla rozstrzygnięcia tych korelacji.
5. Analiza korelacji większości badanych cech jest powtarzalna między latami, jednak w 2024 r otrzymaliśmy w niektórych przypadkach odmienne rezultaty w porównaniu do lat ubiegłych.
6. 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 hodowli nowych odmian. Rok 2025 będzie decydujący dla ustalenia tych korelacji kiedy całościowo przeanalizujemy wszystkie rezultaty.

## **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>  
Wituszynska W et al., *Plant Physiol.* 2013 Apr;161(4):1795-805. doi: 10.1104/pp.112.208116

#### 4. Mierniki dla zadania - prezentacja wyników badań

Prezentacja wyników na konferencjach				
lp.	konferencja	miernik <sup>4</sup>	wartość miernika podana w opisie zadania	wartość miernika zrealizowana
1.	-	-	-	-
Publikacje w monografiach/czasopismach recenzowanych				
lp.	monografia/czasopismo	miernik <sup>5</sup>	wartość miernika podana w opisie zadania	wartość miernika zrealizowana
1.	-	-	-	-

Załączniki<sup>6</sup>:

1. Kserokopia plakatu/ artykułu -

#### 5. Adres, pod którym wyniki badań są dostępne na stronie internetowej wnioskodawcy

Wyniki badań dla wszystkich zadań są dostępne na stronie internetowej

<https://www.sggw.edu.pl/nauka/projekty-badawcze/projekty-krajowe1/dotacje-mrirw-2/>

---

<sup>4</sup> Podać, czy chodzi o wykład plenarny, doniesienie konferencyjne czy poster.

<sup>5</sup> Podać, czy chodzi o publikację oryginalną, czy np. polemika, list do edytora, rozdział w monografii etc.

<sup>6</sup> 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.



## 6. Mierniki zadania – stopień realizacji

Lp.	Miernik <sup>7</sup>	Wartość miernika podana w opisie zadania	Wartość miernika zrealizowana	Stopień realizacji zadania
1	2	3	4	5
<b>temat badawczy 1</b>				
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%
<b>temat badawczy 2</b>				
2.1	Pomiar SA w liściach	29 pomiary	29	100%
2.2	Pomiar H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> w liściach	174 pomiary	174	100%
2.3	Pomiar wymiany gazowej WUE, A, Gs	174 pomiary	174	100%
2.4	Pomiar poziomu ekspresji dla 5 genów (APX1, EDS1, LSD1 oraz dwóch genów referencyjnych)	1740 reakcji	1740	100%
<b>temat badawczy 3</b>				
3.1	Funkcja zależności QYmax lub chl a/b od plonowania.	1	1	100%
ŚREDNIA			1,0	
% REALIZACJI ZADANIA			100%	

Sporządzono: Warszawa, 31.12.2024

<sup>7</sup> Podać miernik – np. ilość planowanych testów, prób, badanych genotypów etc.

Pieczęć jednostki

Osoba reprezentująca jednostkę

Kierownik zadania

podpis i pieczęć

podpis