

Zad. 29

Poszukiwanie specyficznych reakcji warunkujących tolerancję genotypów ziemniaka na wysoką temperaturę i suszę

Wykonawcy:

Dominika Boguszewska-Mańkowska, Anna Bilska-Kos, Krzysztof Treder, Krystyna Zarzyńska, Cezary Trawczyński, Beata Wasilewska-Nascimento, Anna Pawłowska

okres realizacji zadania: 2021-2026

e-mail: d.boguszewska-mankowska@ihar.edu.pl



Fenotypowanie

- Tolerancyjność na suszę i wysoką temperaturę
 - Dobór odmian
- Doświadczenia modelowe



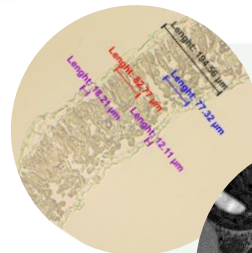
Część nadziemna roślin

2

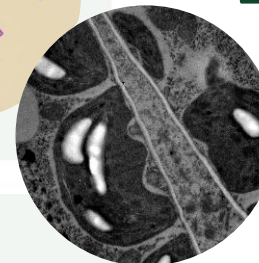


Parametry systemu korzeniowego

3



4



Analiza budowy anatomicznej liści i korzeni ziemniaka

Imunolokalizacja akwaporyn w liściach ziemniaka w warunkach suszy i wysokiej temperatury

5



Dystrybucja ABA w roślinach ziemniaka w odpowiedzi na stres suszy (*in vitro*)

6



Analiza metabolitów, enzymów oraz poziom ekspresji wybranych genów

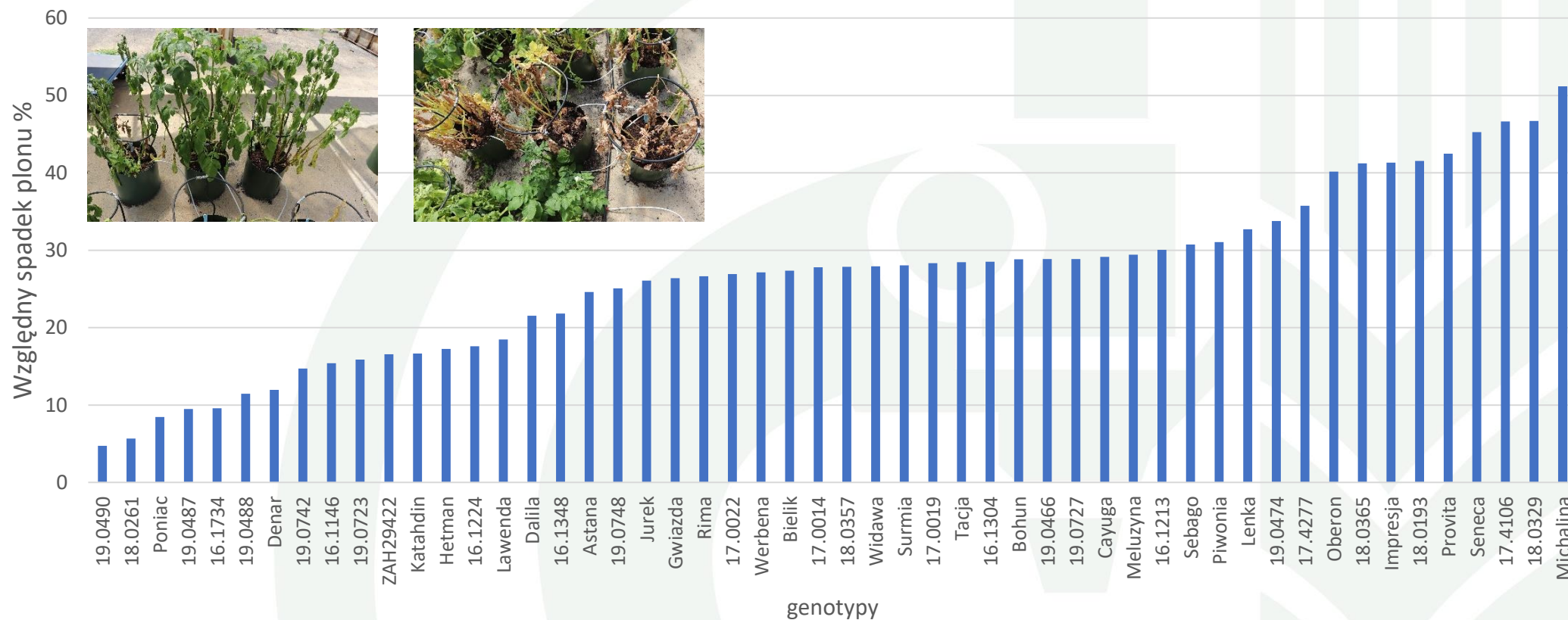
Cele projektu:

- Wytypowanie na podstawie wstępnych obserwacji genotypów, które wykazują cechy tolerancyjności na niekorzystne warunki środowiska t.j suszę i wysoką temperaturę
- Wytypowanie cech korzeni decydujących o większej odporności genotypów ziemniaka na suszę glebową
- Charakterystyka budowy anatomicznej liścia ziemniaka w celu zidentyfikowania zmian strukturalnych zachodzących pod wpływem suszy i wysokiej temperatury.
- Lokalizacja akwaporyn odpowiedzialnych za regulację potencjału wodnego komórek i uczestniczących w odpowiedzi roślin na różne stresy abiotyczne
- Sprawdzenie czy wstępne traktowanie roślin ABA zwiększa odporność roślin ziemniaka na obydwa stresy
- Określenie wpływu suszy i wysokiej temperatury na poziom ekspresji pięciu genów kodujących akwaporyny.

Materiał i metody:

- Uprawa roślin ziemniaka w rękawach - wazonach wegetacyjnych, doniczkach;
- Ocena wskaźników morfologiczno-fizjologicznych roślin: masa liści, masa łodyg, powierzchnia asymilacyjna RWC, SPAD, ocena fluorescencji chlorofilu, wielkości i jakości plonu; ocena parametrów systemu korzeniowego: świeża i sucha masa, stosunek root/sprout w początkowym okresie rozwoju roślin;
- W celu przygotowania preparatów mikroskopowych została zastosowana metoda wykorzystująca technikę „mrożeniową” oraz urządzenie typu kriostat. Analiza budowy anatomicznej dotyczyła parametrów takich jak: grubość liścia, grubość warstwy komórek epidermy oraz komórek miękiszu palisadowego i gąbczastego;
- immunolokalizacja 2 form akwaporyn (typ.: PIP, plasma membrane intrinsic protein), tj. PIP 1;1 oraz PIP 2;2_2b (Agrisera, Szwecja), z potwierdzoną reaktywnością u ziemniaka.
- Indukowana susza przez zastosowanie PEG 6000 w hodowli roślin ziemniaka *in vitro*, ilościowe oznaczanie aktywności ABA, oznaczenie aktywności enzymów antyoksydacyjnych analiza proteomu;
- badano poziom ekspresji genów kodujących akwaporyny

Temat badawczy 1. Wybór nowych genotypów ziemniaka o podwyższonej tolerancyjności na stresy abiotyczne, analiza cech morfologiczno-fizjologicznych oraz ocena wielkości i jakości plonu



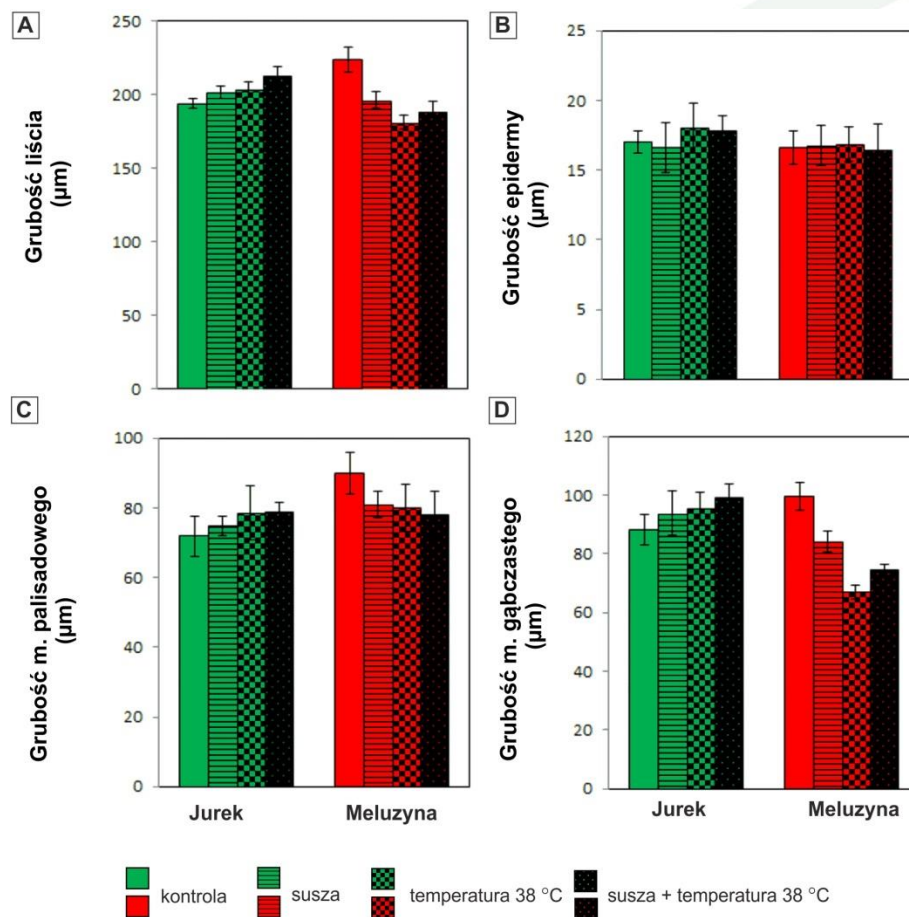
Temat badawczy 2. Badania zależności między częścią nadziemną a systemem korzeniowym roślin ziemniaka w warunkach suszy glebowej i wysokiej temperatury

Przyjmując wielkość wskaźnika „root/sprout” jako miernik tolerancyjności roślin na stresy abiotyczne za najbardziej tolerancyjne rody można uznać następujące: 19.0742, 19.0488, 19.0748, 18.0198, 19.0727. Za najmniej tolerancyjne można uznać następujące rody: 17.0014, 19.0487, 17.0022, 19.0490.



Genotypy ziemniaka wytwarzały większą masę nadziemną i większy system korzeniowy w optymalnych warunkach wilgotnościowych niż w warunkach z zastosowanymi stresami ale stosunek masy korzeni do masy nadziemnej był wyższy w warunkach stresowych.

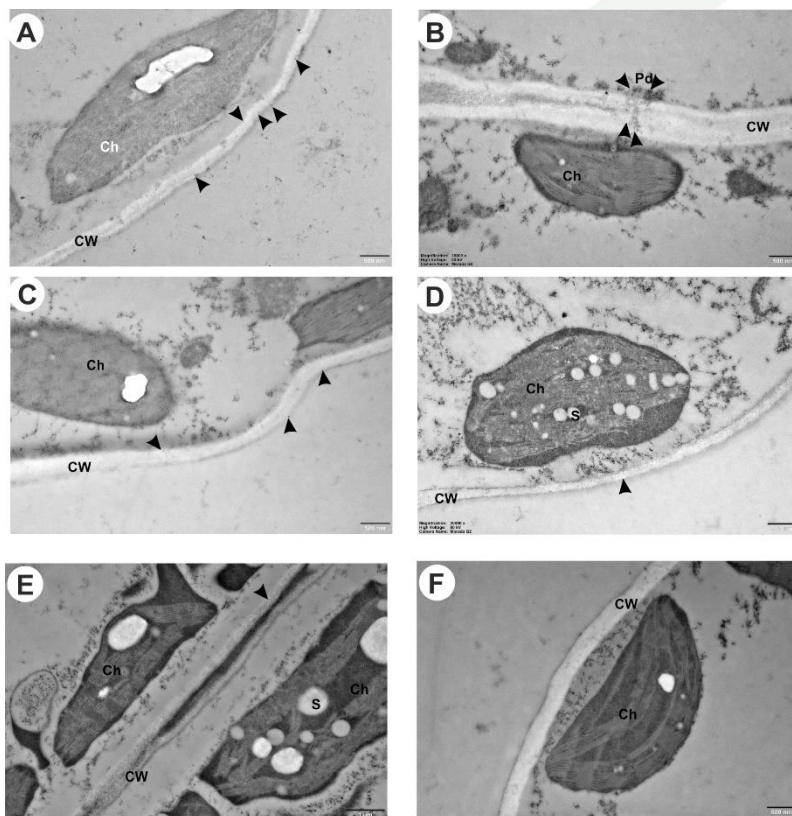
Temat badawczy 3. Analiza budowy anatomicznej liści ziemniaka w warunkach suszy i wysokiej temperatury z zastosowaniem mikroskopu świetlnego oraz mikroskopu elektronowego



Zmiany w parametrach anatomicznych: grubość liścia (A), grubość epidermy (B), grubość miękiszu palisadowego (C) i miękiszu gąbczastego (D) w liściach dwóch odmian ziemniaka: Jurek (odporna) i Meluzyna (wrażliwa) w warunkach suszy glebowej i wysokiej temperatury (38 °C).

- Obserwowane zmiany w budowie anatomicznej potwierdzają zróżnicowany poziom tolerancji na stres suszy i wysokiej temperatury u badanych odmian ziemniaka.

Temat badawczy 4. Immunolokalizacja akwaporyn w liściach ziemniaka w warunkach suszy i wysokiej temperatury z zastosowaniem mikroskopu elektronowego.



Przykładowe obrazy z immunolokalizacji akwaporyn z wykorzystaniem poliklonalnych przeciwciał specyficznych do PIP (*plasma membrane intrinsic protein*) oraz złota koloidalnego (10 nm). Forma PIP 2;2_2b, Jurek kontrola (A) i susza (B), Meluzyna kontrola (C), susza (D), susza + temp. (E), kontrola negatywna (F). Groty wskazują na zgrupowania ziaren złota na terenie błony komórkowej. Oznaczenia: Ch – chloroplast, S – skrobia, CW – ściana komórkowa, Pd - plazmodesma

Temat badawczy 5. Synteza i dystrybucja ABA w roślinach ziemniaka w odpowiedzi na stres suszy i wysokiej temperatury



Gwiazda



Oberon

K K+ABA S+ABA S

K –kontrola, S-susza

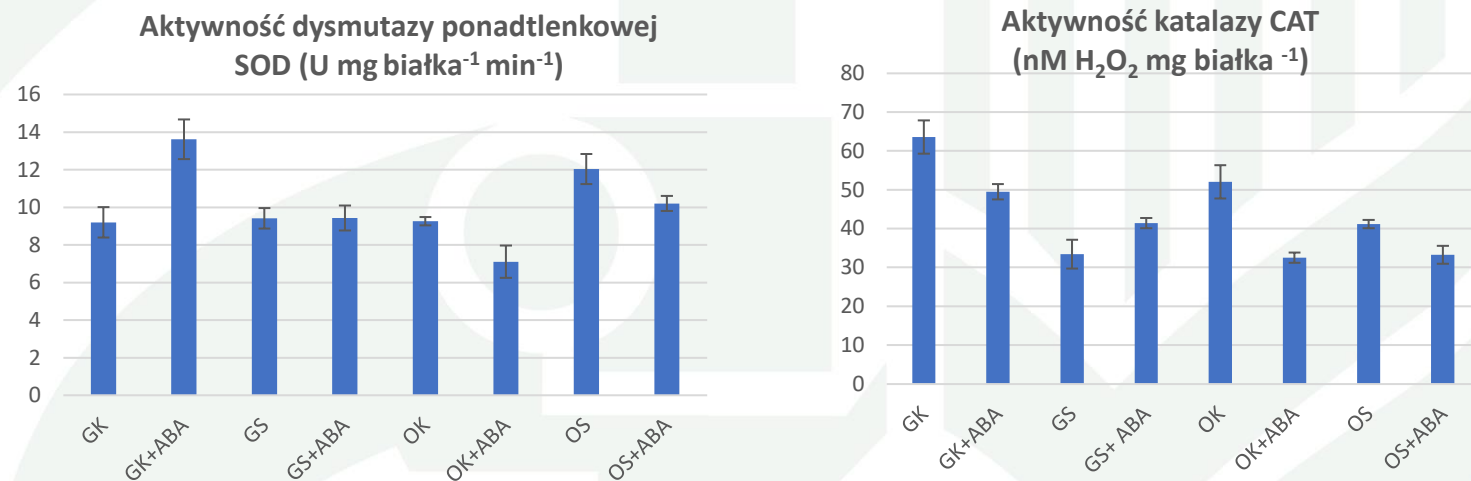
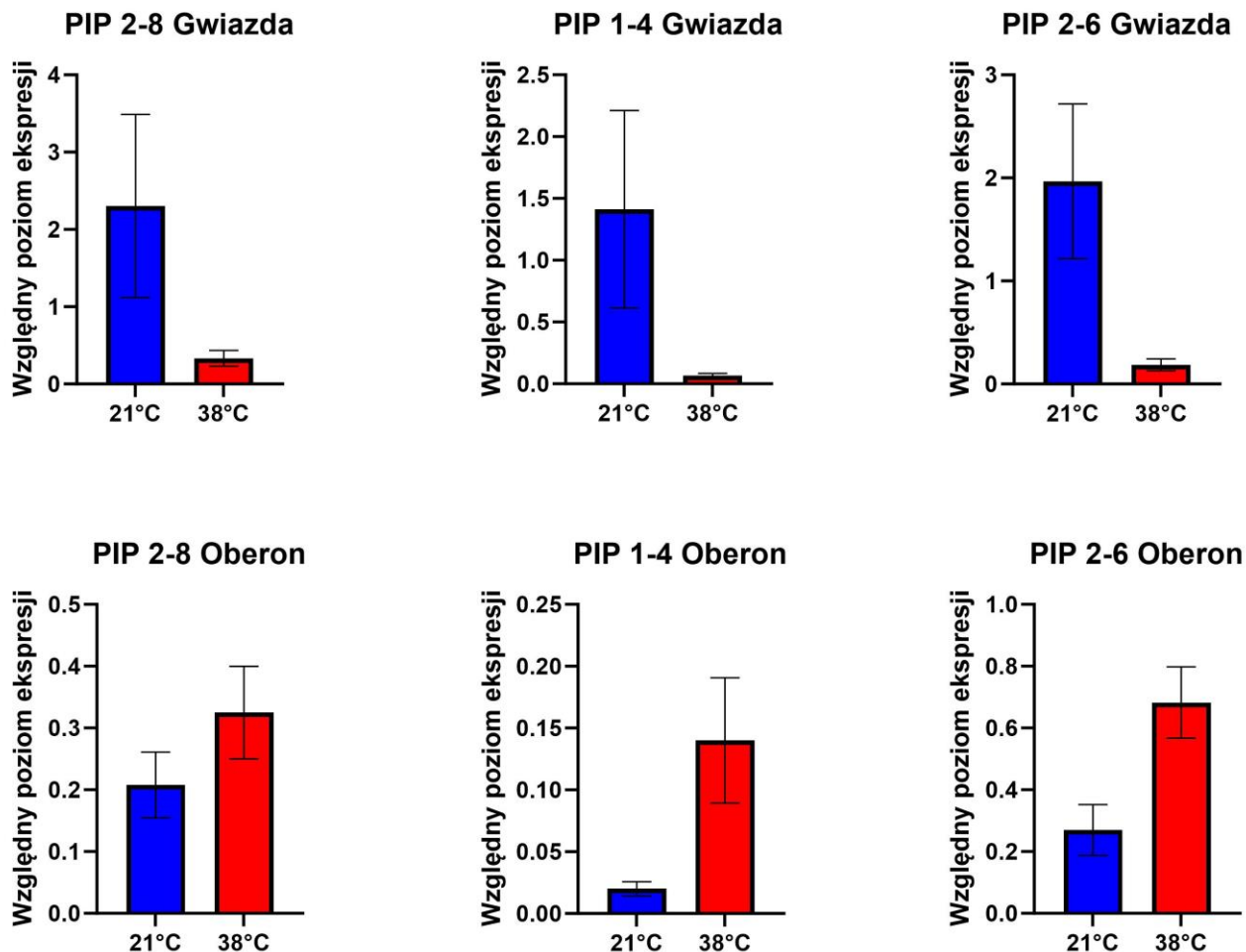


Fig. 1. Aktywność enzymów antyoksydacyjnych w tkankach roślin (łodyga+liście) odmiany Gwiazda i Oberon w warunkach kontrolnych i poddanych stresowi suszy

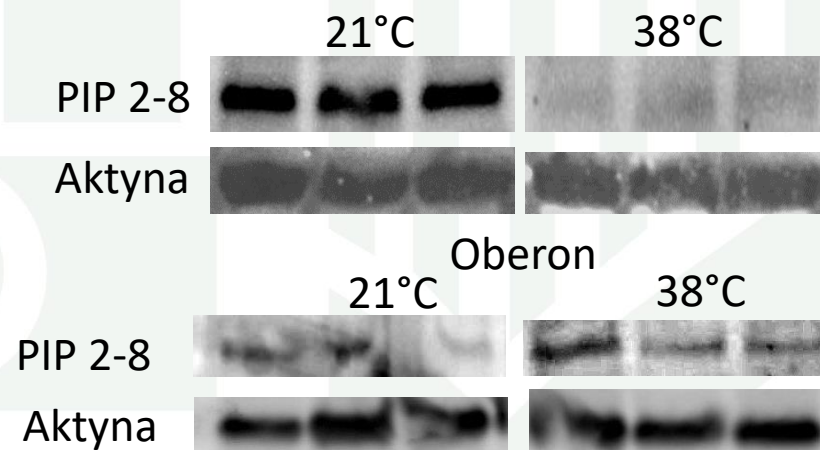
Temat badawczy 6. Analiza metabolitów, enzymów oraz poziomu ekspresji wybranych genów jako markerów tolerancji roślin ziemniaka na suszę glebową i wysoką temperaturę

Wpływ suszy i wysokiej temperatury na poziom ekspresji akwaporyn w odmianach Gwiazda i Oberon

Poziom ekspresji mRNA akwaporyn



Poziom ekspresji białka akwaporyn



Wnioski:

- Gwiazda w optymalnej temperaturze (21°C) na suszę reaguje zwiększoną ekspresją akwaporyn
- Wysoka temperatura (38°C) powoduje u tej odmiany obniżenie ekspresji akwaporyn
- Oberon w optymalnej temperaturze na suszę reaguje obniżoną ekspresją akwaporyn
- Wysoka temperatura również powoduje obniżenie poziomu ekspresji akwaporyn u tej odmiany, lecz w mniejszym stopniu niż temperatura optymalna

Publikacje i doniesienia konferencyjne:

- Poster „**Phenotyping of potato genotypes in terms of their tolerance to soil drought and high temperature**” - Konferencja EAPR 2023, Francja, materiały konf.
- Poster: „**Immunolocalization of aquaporins in the leaves of potato plants under drought and high temperature conditions**” - Konferencja Polskiego Towarzystwa Biologii Eksperymentalnej Roślin, Poznań, Polska .
- Poster „**Impact of drought and high temperature on the expression of selected housekeeping genes in potato leaves**” - Konferencja Polskiego Towarzystwa Biologii Eksperymentalnej Roślin, Poznań, Polska .
- Publikacja: Boguszewska D, Zarzyńska K. 2023. Zróżnicowanie genotypów ziemniaka pod względem wielkości systemu korzeniowego w początkowym okresie rozwoju rośliny, Ziemniak Polski nr 4

Dziękuję za uwagę

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin - Państwowy Instytut Badawczy

Radzików
05-870 Błonie
tel. 22 733 45 00
NIP-PL: 5290007029
REGON: 000079480
e-mail: postbox@ihar.edu.pl
www.ihar.edu.pl/

Dane kontaktowe

e-mail: d.boguszewska-mankowska@ihar.edu.pl
a.bilska@ihar.edu.pl
k.treder@ihar.edu.pl