



INSTYTUT FIZJOLOGII ROŚLIN
IM. FRANCISZKA GÓRSKIEGO POLSKIEJ AKADEMII NAUK

Określenie fizjologicznych i biochemicznych wskaźników tolerancji pszenicy ozimej (*Triticum aestivum* L.) na stres suszy i wysokiej temperatury

Zadanie badawcze 3

Okres realizacji: 2021 - 2026

Kierownik projektu: dr hab. Marzena Warchoł, prof. IFR PAN
e-mail: m.warchol@ifr-pan.edu.pl

Wykonawcy:

prof. dr hab. inż. Edyta Skrzypek

prof. dr hab. inż. Ilona Czyczyło-Mysza

dr inż. Kinga Dziurka

dr hab. Piotr Waligórski

dr inż. Kamila Laskoś

dr inż. Agnieszka Ostrowska

dr Anna Maksymowicz



Fot. K. Laskoś

Cel zadania

Ocena tolerancji pszenicy ozimej na suszę glebową w fazie krzewienia i kłoszenia

Temat badawczy 1: Analizy biochemiczne i obliczenie wskaźników SSI roślin poddanych suszy w fazie krzewienia

Celem tematu badawczego była analiza parametrów biochemicznych rodów/odmian pszenicy ozimej (*Triticum aestivum* L.) poddanych stresowi suszy w fazie krzewienia. Otrzymane wyniki posłużyły do wyliczenia wskaźników SSI i pozwoliły scharakteryzować tolerancję badanych rodów i odmian pszenicy ozimej na stres suszy.

Cel T1 został zrealizowany

Temat badawczy 2: Analizy biochemiczne i obliczenie wskaźników SSI roślin poddanych suszy w fazie kłoszenia

Celem tematu badawczego była analiza parametrów biochemicznych rodów/odmian pszenicy ozimej (*Triticum aestivum* L.) poddanych stresowi suszy w fazie kłoszenia. Otrzymane wyniki posłużyły do wyliczenia wskaźników SSI i pozwoliły scharakteryzować tolerancję badanych rodów i odmian pszenicy ozimej na stres suszy.

Cel T2 został zrealizowany

Temat badawczy 3: Określenie tolerancji na suszę na podstawie korelacji między wskaźnikami SSI a indeksami DSI, TOL, STI, YI, %R

Celem tematu badawczego było wyliczenie wskaźników wrażliwości na stres suszy glebowej rodów/odmian pszenicy ozimej (*Triticum aestivum* L.) poddanych stresowi suszy w fazie krzewienia i kłoszenia (SSI, DSI, TOL, STI, YI, %R) na podstawie wyników analiz biochemicznych. Otrzymane wyniki pozwoliły scharakteryzować tolerancję badanych rodów i odmian pszenicy ozimej na stres suszy glebowej.

Cel T3 został zrealizowany

Materiał i metody

Materiał roślinny:

30 rodów/odmian pszenicy ozimej (*Triticum aestivum* L.)

Stres suszy wywołany poprzez zaprzestanie podlewania gleby gdy rośliny osiągną fazę krzewienia lub kłoszenia

Stopień uwilgotnienia gleby wyznaczony metodą wagową i ustalony na poziomie 70% polowej pojemności wodnej (ppw) dla warunków kontrolnych i 20% ppw dla warunków suszy, traktowanie suszą kontynuowane przez 21 dni

Metody:

- ❑ **Zawartość barwników fotosyntetycznych** (chlorofilu *a*, *b* i karotenoidów); *Lichtenthaler H.K., Wellbum A.R. (1983)*
- ❑ **Zawartość związków fenolowych** (wolnych i związanych ze ścianą komórkową); *Singleton V.S., Rossi Jr J.A. (1965), Hura T. i in. (2012)*
- ❑ **Zawartość cukrów rozpuszczalnych**; *Dubois M. i in. (1956)*
- ❑ **Peroksydacja lipidów**; *Heath R.L., Packer L. (1968)*
- ❑ **Aktywność antyoksydacyjna (całkowita zawartość antyoksydantów, aktywność enzymów antyoksydacyjnych: SOD, CAT, PX)**; *Brand-Williams W. (1995), Turkmen N. i in. (2006), McCord J.M., Fiodovich I. (1969), Aebi H. (1984), Lúck H. (1962)*
- ❑ **Zawartość kwasów: salicylowego (SA), jasmonowego (JA) i abscysynowego (ABA)**; *Dziurka i in. (2016)*
- ❑ **Wskaźnik wrażliwości na stres suszy glebowej**
 - $SSI = (1 - Y_s / Y_p) / (1 - \bar{Y}_s / \bar{Y}_p)$ (*SSI, ang. Stress Susceptibility Index, wskaźnik wrażliwości na stres, Fischer i Maurer 1978*)
 - $DSI = (1 - Y_s / Y_p) / D$ (*ang. Drought Susceptibility Index; wskaźnik wrażliwości na suszę; Fischer i Maurer 1978*)
 - $TOL = Y_p - Y_s$ (*ang. Tolerance; tolerancja; Hossain i in. 1990*)
 - $STI = Y_p \times Y_s / (\bar{Y}_p)^2$ (*ang. Stress Tolerance Index; wskaźnik tolerancji stresu; Fernandez 1992*)
 - $YI = Y_s / \bar{Y}_s$ (*ang. Yield Index; wskaźnik plonowania; Gavuzzi 1997*)
 - $\%R = (Y_p - Y_s / Y_p) \times 100$ (*ang. %Reduction; spadek plonu; Choukan i in. 2006*)

WYNIKI 1: Analizy biochemiczne i obliczenie wskaźników SSI

Tabela 1. Wartości średnie badanych parametrów biochemicznych 30 rodów/odmian pszenicy ozimej poddanych stresowi suszy glebowej fazie krzewienia i kłoszenia.

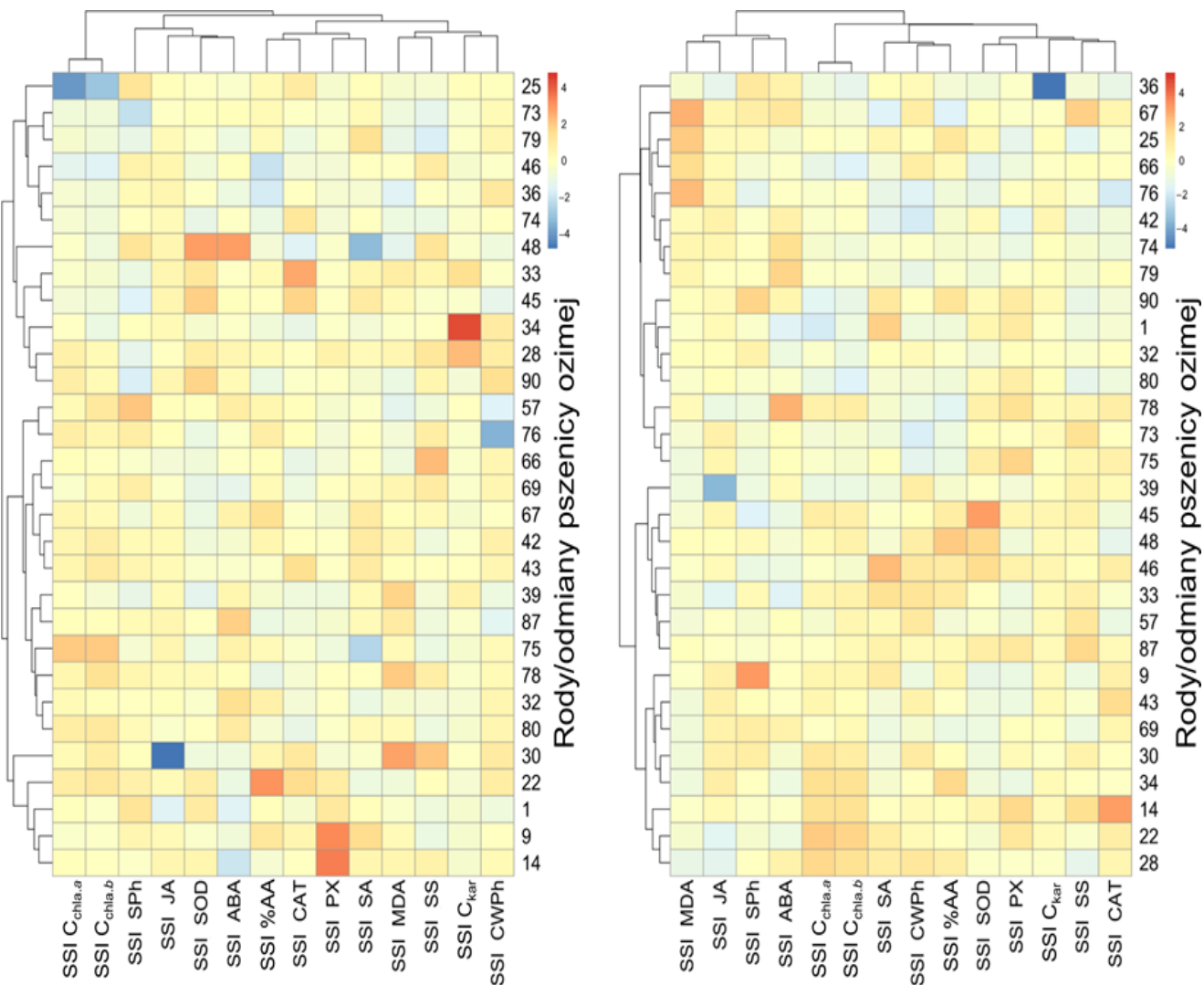
Parametr	Kontrola	Susza faza krzewienia	Kontrola	Susza faza kłoszenia
Chlorofil a [mg/g s.m.]	5,67	4,79	5,42	3,16
Chlorofil b [mg/g s.m.]	3,23	2,63	3,10	1,99
Karotenoidy [mg/g s.m.]	0,56	0,60	0,48	0,23
Wolne związki fenolowe [mg/g s.m.]	30,7	36,4	33,59	38,33
Związki fenolowe związane ze ścianą komórkową [mg/g s.m.]	21,64	19,97	23,66	18,21
Cukry rozpuszczalne [mg/g s.m.]	23,41	28,11	32,80	45,76
Peroksydacja lipidów (MDA) [nmol/g św.m.]	2,9	10,3	6,1	10,3
Zawartość przeciwutleniaczy [AA%]	74,0	68,0	70,5	74,5
SOD [Δ ABS/g białka]	2,82	3,12	3,01	3,95
CAT [Δ ABS/g białka]	177,49	277,32	153,45	311,39
POD [Δ ABS/g białka]	2892,83	3394,52	4039,63	4111,20
SA [ng/g s.m.]	2127,3	1798,3	1371,7	1372,0
JA [ng/g s.m.]	2409,9	850,2	3116,5	2800,0
ABA [ng/g s.m.]	218,1	1977,1	182,8	947,5

Badane rody/odmiany pszenicy ozimej charakteryzowały się istotną zmiennością wybranych parametrów biochemicznych w zależności od fazy rozwojowej, w której zastosowano stres suszy glebowej.

Susza w fazie krzewienia spowodowała spadek zawartości barwników fotosyntetycznych, kwasów: salicylowego (SA) i jasmonowego (JA), a wzrost wolnych związków fenolowych, cukrów, MDA, enzymów antyoksydacyjnych: SOD, CAT i POD oraz kwasu abscysynowego (ABA).

Susza w fazie kłoszenia spowodowała spadek zawartości barwników fotosyntetycznych, związków fenolowych związanych ze ścianą komórkową, a wzrost wolnych związków fenolowych, cukrów, MDA, przeciwutleniaczy, enzymów antyoksydacyjnych: SOD i CAT oraz kwasu abscysynowego (ABA). Natomiast aktywność POD oraz zawartość kwasów salicylowego (SA) i jasmonowego (JA) utrzymywała się na podobnym poziomie.

WYNIKI 1 : Analizy biochemiczne i obliczenie wskaźników SSI



A. SSI: Susza w fazie krzewienia

B. SSI: Susza w fazie kłoszenia

Rycina 1. Mapa cieplna (ang. *heatmap*) oraz analiza skupień różnicująca badanerody/odmiany pszenicy ozimej pod względem wskaźników wrażliwości na suszę glebową (SSI, ang. *Stress Susceptibility Index*) (Fischer i Maurer 1978) w fazie krzewienia (A) i kłoszenia (B) obliczonych dla każdego rodzaju/odmiany na podstawie: zawartości chlorofilu *a* ($C_{chl.a}$), zawartości chlorofilu *b* ($C_{chl.b}$), stężenia sumy karotenoidów (C_{kar}), zawartości wolnych związków fenolowych (SPh), zawartości związków fenolowych wbudowanych w ściany komórkowe (CWPh), zawartości dialdehydu malnowego (MDA), zawartości cukrów rozpuszczalnych (SS), stopnia zmiatania (zaniku absorbancji) rodnika DPPH• (%AA), aktywności enzymów antyoksydacyjnych: dysmutazy anionorodnika ponadtlenu (SOD), katalazy (CAT) i peroksydaz (PX), zawartości kwasów: salicylowego (SA), jasmonowego (JA) i abscysynowego (ABA). Każda kolumna reprezentuje inną zmienną, a każdy rząd inny ród/odmianę pszenicy. Skala kolorów przedstawia poszczególne wartości, wskaźników po ich standaryzacji. Różnice w intensywności koloru w obrębie danej zmiennej wskazują na różnice między rodami/odmianami pszenicy.

Uwzględniając wartości wskaźnika SSI dla wszystkich analizowanych związków zestawiono badanerody/odmiany pszenicy ozimej w postaci mapy cieplnej i analizy skupień. Mapa cieplna została przygotowana w oparciu o zeskalowane wartości dla każdego z analizowanych wskaźników osobno (skalowanie kolumnami).

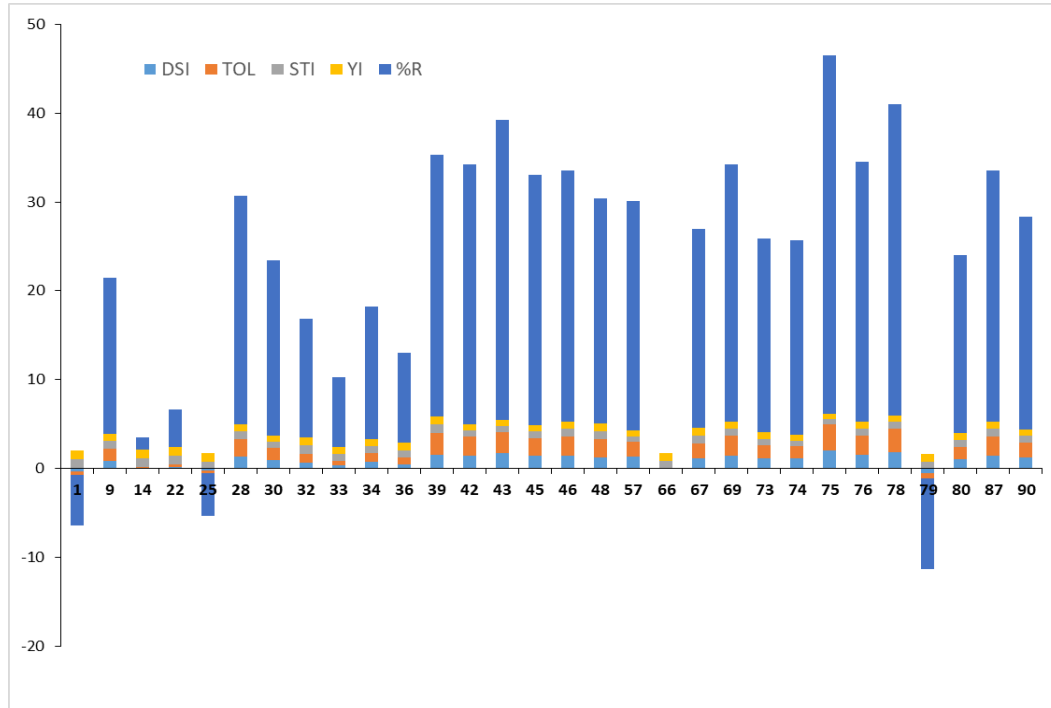
Na Ryc. 1A wykonanej dla obiektów traktowanych suszą w **fazie krzewienia** odróżniały sięrody/odmiany 9, 14, 22, 30, 34, 48 i 75 o wysokich wartościach: SSI PX, SSI %AA, SSI MDA, SSI C_{kar} orazrody/odmiany 25, 30, 57, 76 o niskich wartościach: SSI $C_{chl.a}$, SSI $C_{chl.b}$, SSI JA, SSI SA.

Na Ryc. 1B wykonanej dla obiektów traktowanych suszą w **fazie kłoszenia** odróżniały sięrody/odmiany: 9, 14, 25, 45, 46, 66, 67, 76 i 78 o wysokich wartościach SSI SPh, SSI CAT, SSI SOD, SSI MDA, SSI ABA orazrody/odmiany: 36 i 39 o niskich wartościach SSI PX i SSI JA.

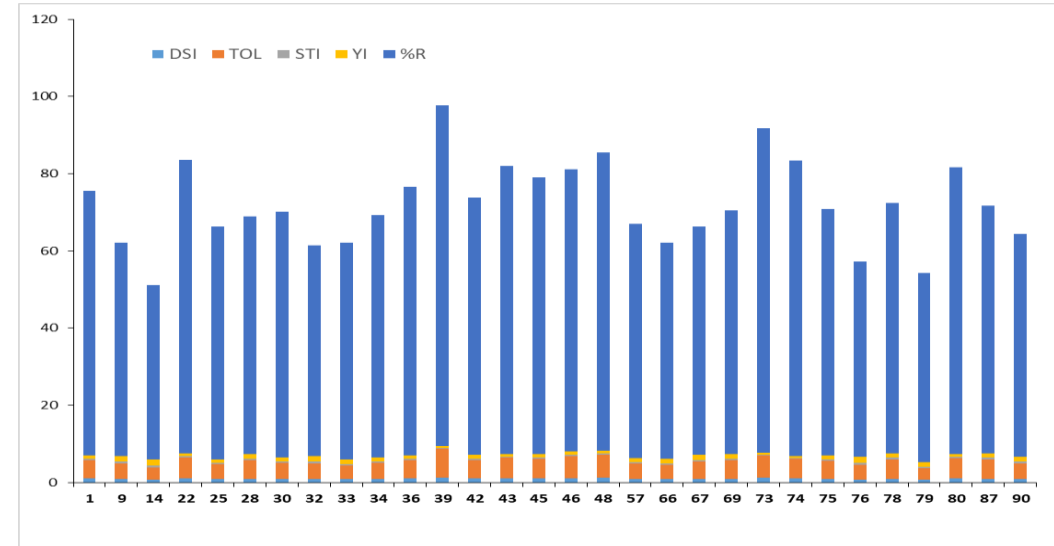
WYNIKI 3: Określenie tolerancji na suszę na podstawie korelacji między wskaźnikami SSI, a indeksami DSI, TOL, STI, YI, %R

Rycina 2. Wskaźniki: wskaźnik wrażliwości na suszę (DSI, ang. *Drought Susceptibility Index*), tolerancja (TOL, ang. *Tolerance*), wskaźnik tolerancji stresu (STI, ang. *Stress Tolerance Index*), wskaźnik plonowania (YI, ang. *Yield Index*) oraz spadek plonu (%R, ang. *%Reduction*) obliczone dla każdego rodu/odmiany pszenicy (*Triticum aestivum* L.) na podstawie masy ziaren/roślinę w fazie krzewienia i kłoszenia.

Susza faza krzewienia



Susza faza kłoszenia



Wskaźniki DSI, TOL, STI, YI oraz %R różnicowały badane rody/odmiany pszenicy ozimej (*Triticum aestivum* L.) pod względem tolerancji na suszę glebową.

Najniższe wartości DSI, TOL, %R (susza w fazie krzewienia) obserwowano u rodów/odmian 1, 25, 66 i 79, natomiast w fazie kłoszenia u rodów/odmian 14, 25, 33, 39 i 79. Niskie wartości wskaźników DSI, TOL, %R wg. Fischer i Maurer (1978) mogą wskazywać na wyższą tolerancję tych rodów/odmian na suszę glebową.

WYNIKI 3: Określenie tolerancji na suszę na podstawie korelacji między wskaźnikami SSI, a indeksami DSI, TOL, STI, YI, %R

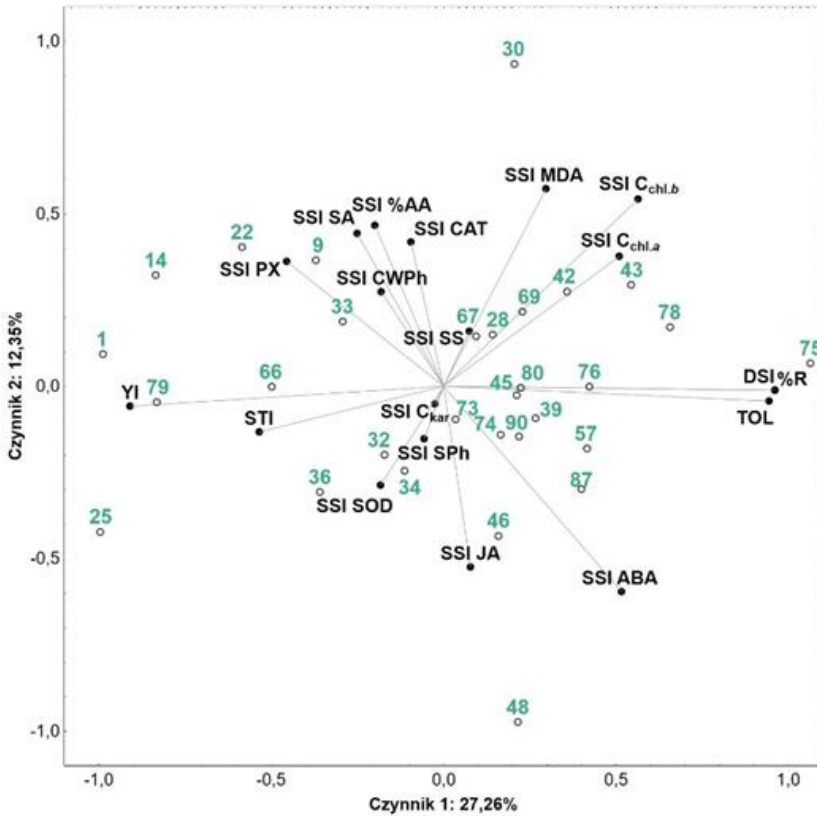
Tabela 2. Wartości współczynników korelacji liniowej Pearsona pomiędzy wskaźnikami wrażliwości na suszę glebową (SSI, ang. *stress susceptibility index*) w fazie krzewienia i kłoszenia wyliczonymi na podstawie: zawartości chlorofilu *a* ($C_{chl.a}$), zawartości chlorofilu *b* ($C_{chl.b}$), zawartości sumy karotenoidów (C_{kar}), zawartości wolnych związków fenolowych (SPh), zawartości związków fenolowych wbudowanych w ściany komórkowe (CWPh), zawartości dialdehydu malnowego (MDA), zawartości cukrów rozpuszczalnych (SS), stopnia zmiatania (zaniku absorbancji) rodnika DPPH• (%AA), aktywności enzymów antyoksydacyjnych: dysmutazy anionorodnika ponadtlenkowego (SOD), katalazy (CAT) i peroksydazy (PX), zawartości kwasów: salicylowego (SA), jasmonowego (JA) i abscysynowego (ABA), a indeksami wyliczonymi na podstawie masy ziaren/roślinę: wskaźnik wrażliwości na suszę (DSI), tolerancja (TOL), wskaźnik tolerancji stresu (STI), wskaźnik plonowania (YI) oraz spadek plonu (%R). Oznaczone na czerwono współczynniki korelacji są istotne ($p \leq 0,05$).

Susza faza krzewienia						Susza faza kłoszenia						
Cecha	TOL	STI	YI	%R	DSI	Cecha	TOL	STI	YI	%R	DSI	
SSI	$C_{chl.a}$	0,39	-0,1	-0,31	0,41	0,41	$C_{chl.a}$	-0,13	-0,11	0,16	0,15	-0,13
	$C_{chl.b}$	0,43	-0,26	-0,43	0,46	0,46	$C_{chl.b}$	-0,15	-0,1	0,2	0,18	-0,15
	C_{kar}	-0,03	-0,06	-0,02	-0,03	-0,03	C_{kar}	-0,04	0,01	0,06	0,05	-0,04
	SPh	-0,05	0,1	0,09	-0,04	-0,04	SPh	-0,27	-0,26	0,25	0,27	-0,27
	CWPh	-0,23	-0,05	0,11	-0,2	-0,2	CWPh	0,04	0,09	-0,03	-0,04	0,04
	MDA	0,35	0,02	-0,2	0,32	0,32	MDA	-0,37	-0,35	0,32	0,36	-0,37
	SS	0,09	0,15	0,04	0,08	0,08	SS	0,02	0,08	0,03	0,01	0,02
	%AA	-0,21	0,13	0,21	-0,2	-0,2	%AA	-0,07	-0,07	0	0,04	-0,07
	SOD	-0,16	0,18	0,21	-0,16	-0,16	SOD	0,3	0,35	-0,16	-0,24	0,3
	CAT	-0,12	-0,32	-0,13	-0,07	-0,07	CAT	-0,14	-0,03	0,23	0,19	-0,14
	PX	-0,31	0,44	0,46	-0,31	-0,31	PX	-0,08	0,02	0,22	0,16	-0,08
	SA	-0,17	-0,02	0,09	-0,17	-0,17	SA	-0,06	-0,06	0,05	0,06	-0,06
	JA	0,18	0,06	-0,06	0,15	0,15	JA	-0,3	-0,42	0,23	0,28	-0,3
ABA	0,48	-0,04	-0,32	0,46	0,46	ABA	-0,06	-0,03	0,08	0,07	-0,06	

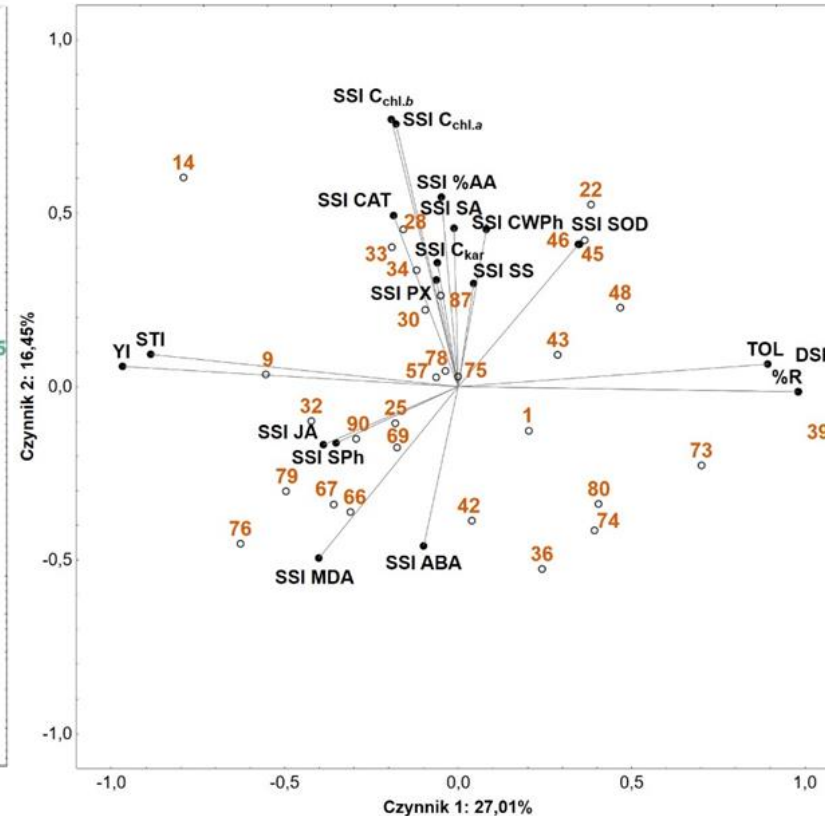
Analiza korelacji liniowej Pearsona pomiędzy wskaźnikami wrażliwości na suszę glebową SSI wyliczonymi dla parametrów biochemicznych w fazie krzewienia (barwników fotosyntetycznych, PX, JA, ABA) i kłoszenia (MDA i JA) a indeksami wyliczonymi na podstawie masy ziaren/roślinę, wykazała istotne korelacje liniowe pomiędzy tymi wskaźnikami wśród badanych rodów/odmian pszenicy.

WYNIKI 3: Określenie tolerancji na suszę na podstawie korelacji między wskaźnikami SSI, a indeksami DSI, TOL, STI, YI, %R

Susza faza krzewienia



Susza faza kłoszenia



Rycina 3. Analiza głównych składowych (PCA, ang. *principal component analysis*) przedstawiona jako biplot (projekcja zmiennych oraz rzut przypadków) na płaszczyźnie dwóch pierwszych osi czynnikowych wykonana dla zmiennych różnicujących badane rody/odmiany pszenicy ozimej (*Triticum aestivum* L.) pod względem wskaźników wrażliwości na suszę glebową w fazie **krzewienia** i kłoszenia obliczonych dla każdego rodu/odmiany pszenicy na podstawie masy ziaren/roślinę wskaźnika wrażliwości na suszę (DSI, ang. *Drought Susceptibility Index*), tolerancji (TOL, ang. *Tolerance*), wskaźnika tolerancji stresu (STI, ang. *Stress Tolerance Index*), wskaźnika plonowania (YI, ang. *Yield Index*) oraz spadku plonu (%R, ang. %Reduction) oraz pod względem wskaźników wrażliwości na suszę glebową (SSI, ang. *Stress Susceptibility Index*) (Fischer i Maurer 1978) obliczonych dla każdego rodu/odmiany na podstawie: zawartości chlorofilu a ($C_{chl.a}$), zawartości chlorofilu b ($C_{chl.b}$), stężenia sumy karotenoidów ($C_{kar.}$), zawartości wolnych związków fenolowych (SPh), zawartości związków fenolowych wbudowanych w ściany komórkowe (CWPPh), zawartości dialdehydu malnowego (MDA), zawartości cukrów rozpuszczalnych (SS), stopnia zmiatania (zaniku absorbancji) rodnika DPPH• (%AA), aktywności enzymów antyoksydacyjnych: dysmutazy anionorodnika ponadtlenkowego (SOD), katalazy (CAT) i peroksydaz (PX), zawartości kwasów: salicylowego (SA), jasmonowego (JA) i abscysynowego (ABA).

Analiza PCA przeprowadzona dla wskaźników wrażliwości na suszę w **fazie krzewienia** wykazała, że indeksy %R, DSI, TOL, YI oraz wskaźniki SSI obliczone dla zawartości $C_{chl.a}$ MDA oraz ABA w największym stopniu różnicują badane rody/odmiany, o czym świadczą o tym najdłuższe wektory odpowiadające poszczególnym zmiennym. Analizowane zmienne sumarycznie wyjaśniały 39,61% zmienności wśród obiektów badawczych.

Analiza PCA przeprowadzona dla wskaźników wrażliwości na suszę w **fazie kłoszenia** wykazała, że indeksy %R, DSI, TOL, YI, STI oraz wskaźniki SSI obliczone dla zawartości $C_{chl.a}$, $C_{chl.b}$, MDA oraz ABA w największym stopniu różnicują badane rody, o czym świadczą o tym najdłuższe wektory odpowiadające poszczególnym zmiennym. Analizowane zmienne sumarycznie wyjaśniały 43,46% zmienności wśród obiektów badawczych.

Wnioski i podsumowanie

- Na podstawie analizy zawartości barwników fotosyntetycznych, związków fenolowych, MDA, cukrów rozpuszczalnych, antyoksydantów, fitohormonów: SA, JA, ABA oraz aktywności enzymów antyoksydacyjnych: SOD, CAT, PX wytypowano rody pszenicy ozimej (*Triticum aestivum* L.) mogące lepiej funkcjonować w warunkach niedoboru wody w fazie krzewienia i kłoszenia.
- Analizując wartości wskaźnika SSI dla wszystkich oznaczonych związków biochemicznych wykazano, że rody/odmiany: 9, 14, 22, 30, 34, 48 i 75 traktowane suszą w fazie krzewienia charakteryzowały się wysokimi wartościami: SSI PX, SSI %AA, SSI MDA, SSI C_{kar} a rody/odmiany: 25, 30, 57, 76 niskimi wartościami: SSI $C_{chl.a}$, SSI $C_{chl.b}$, SSI JA, SSI SA. Natomiast rody/odmiany: 9, 14, 25, 45, 46, 66, 67, 76 i 78 traktowane suszą w fazie kłoszenia charakteryzowały się wysokimi wartościami SSI SPh, SSI CAT, SSI SOD, SSI MDA, SSI ABA a rody/odmiany: 36 i 39 niskimi wartościami SSI PX i SSI JA.
- Analiza PCA przeprowadzona dla wskaźników wrażliwości na suszę wykazała, że indeksy %R, DSI, TOL, YI oraz wskaźniki SSI obliczone dla zawartości $C_{chl.a}$ MDA oraz ABA w największym stopniu różnicują badane rody/odmiany podczas traktowania suszą w fazie krzewienia, natomiast wskaźniki SSI obliczone dla zawartości $C_{chl.a}$, $C_{chl.b}$, MDA oraz ABA w największym stopniu różnicują badane rody podczas traktowania suszą w fazie kłoszenia.
- Analiza korelacji liniowej Pearsona pomiędzy wskaźnikami wrażliwości na suszę glebową SSI wyliczonymi dla parametrów biochemicznych w fazie krzewienia (barwników fotosyntetycznych, PX, JA, ABA) i kłoszenia (MDA i JA) a indeksami wyliczonymi na podstawie masy ziaren/roślinę, wykazała istotne korelacje liniowe pomiędzy tymi wskaźnikami wśród badanych rodów/odmian pszenicy.

Prezentacja wyników na konferencjach

Poster

Skrzypek E, Warchoł M, Czyczyło-Mysza I, Dziurka K, Laskoś K, Ostrowska A, Juzoń-Sikora K. Analysis of parameters related to water management of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) under soil drought. 9th Central European Congress of Life Sciences, 27-28 June 2024, Kraków, Poland, Book of Abstracts, P3.14, p. 59 (strony od 3 do 12 w sprawozdaniu za 2023 r.)

Poster

Warchoł M, Skrzypek E, Czyczyło-Mysza I, Dziurka K, Laskoś K, Ostrowska A, Juzoń-Sikora K. Changes of gas exchange parameters of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) under soil drought. 9th Central European Congress of Life Sciences, 27-28 June 2024, Kraków, Poland, Book of Abstracts, P3.15, p. 60 (strony od 12 do 21 w sprawozdaniu za 2023 r.)

Publikacje w monografiach/czasopismach recenzowanych

Publikacja oryginalna

Juzoń-Sikora K, Laskoś K, Warchoł M, Czyczyło-Mysza IM, Dziurka K, Grzesiak M, Skrzypek E. Water Relations and Physiological Traits Associated with the Yield Components of Winter Wheat (*Triticum aestivum* L.). Agriculture 2024, 14, 1887, <https://doi.org/10.3390/agriculture14111887> (strony od 3 do 41 w sprawozdaniu za 2021 r.)

Plany badawcze na 2025 r.

Ocena tolerancji pszenicy ozimej (*Triticum aestivum* L.) na suszę i stres wysokiej temperatury w fazie kłoszenia

Temat badawczy 1: Analiza wybranych parametrów fizjologicznych i biochemicznych

Temat badawczy 2: Określenie elementów składowych plonu oraz wyliczenie indeksów: DSI, TOL, STI, YI, %R