

# **Tytuł: Fizjologiczne i genetyczne markery odporności pszenicy jarej na suszę w aspekcie interakcji zachodzących w ryzosferze**

**Okres realizacji:** wnioskowany 2017-2020, rzeczywisty 2018-2020

## **Kierownik:**

dr hab. Magdalena Szechyńska-Hebda  
szechynska@wp.pl

## **Główni wykonawcy:**

IFR PAN

mgr Natalia Hordyńska  
prof. Stanisław Grzesiak  
dr hab. Maciej Grzesiak  
dr Anna Maksymowicz

IO

dr hab. Lidia Sas Paszt  
dr Anna Lisek  
dr Beata Sumorok  
mgr inż. Edyta Derkowska  
mgr inż. Krzysztof Weszczak,  
mgr inż. Mateusz Frąc  
mgr Michał Przybył  
mgr Paweł Trzeciński  
mgr Sławomir Głuszek

## Celem projektu była weryfikacja hipotez badawczych:

**H1.** Istnieją specyficzne genotypowo interakcje roślina-mikroorganizmy glebowe, determinujące odporność roślin na stres suszy

- w strefie korzeniowej roślin odpornych i nieodpornych rozwija się jakościowo i ilościowo odmienna kompozycja mikroorganizmów glebowych;
- specyficzna kompozycja mikroorganizmów ryzosfery determinuje fizyczne i biochemiczne warunki glebowe, jak również indukuje ścieżki sygnałowe/mechanizmy/reakcje fizjologiczne umożliwiające roślinie aklimatyzację i przetrwanie stresu suszy;
- następuje indukcja/supresja specyficznych genów/grup genów w wyniku interakcji rośliny odpornej z mikroorganizmami ryzosfery w warunkach suszy, geny te stanowią markery molekularne tolerancji roślin na stres suszy;

**H2.** Wzrost korzeni oraz transpiracja roślin w warunkach suszy w obecności zmiennej kompozycji mikroorganizmów może być modulowana;

- rozwój systemu korzeniowego (i transpiracja roślin) będzie różny po inokulacji krzyżowej mikroorganizmów do ryzosfery roślin odpornych i ryzosfery roślin nieodpornych;

**H3.** Zoptymalizowanie składu mikroorganizmów w sztucznej pożywce imitującej warunki suszy umożliwi selekcję roślin odpornych;

- wzrost korzeni w warunkach naturalnych i w sztucznych warunkach hodowli *in vitro* są skorelowane;
- rozwój systemu korzeniowego (i transpiracja roślin) będzie ukierunkowana genotypowo w pożywce o odpowiednio zmodyfikowanym składzie (np. indukcja stresu suszy przez dodatek mannitolu) vs odpowiedni skład mikroorganizmów.

Cel osiągnięto; celu nie zrealizowano ze względu na ograniczenie finansowania (50%) w roku 2020; celu nie zrealizowano ze względu na opóźnienie finansowania projektu o jeden rok.

## **Material i metody**

### Material:

- genotypy pszenicy ozimej Telimena, Arabella, Mandaryna, Sirocco, Sharki, Cornetto, Tybalt, Goplana, Harenda, Kandela, Struna, Jarlanka, SMJ 2115, SMJ 3016, SMJ 1314, Ostka smolicka, Tdzo 1384, Tdoz 1403, Tdoz 1508, Tonika

### Warunki:

- tunel hodowlany;  
- susza glebowa (trzy typy suszy, dobrane eksperymentalnie, aby ok. 75%, 50% i 25% roślin przeżyło stres) vs warunki optymalnego dostępu wody;  
- standardowe konsorcja mikroorganizmów przygotowane w oparciu o szczepy dostępne w SYMBIO-BANKu (Instytut Ogrodnictwa); konsorcja mikroorganizmów przygotowane w oparciu o mikroorganizmy wyizolowane z ryzosfery roślin odpornych i nieodpornych, inokulacja 6 genotypów roślin (3 odporne, 3 nieodporne) w sposób ‘prosty’ (mikroorganizmy izolowane z ryzosfery roślin odpornych wprowadzone do ryzosfery roślin odpornych) lub ‘krzyżowy’ (mikroorganizmy ryzosfery roślin odpornych wprowadzone do ryzosfery roślin nieodpornych, i *vice versa*).

### Metody:

- tempo wzrostu korzeni, ich liczebność, sucha i świeża masa systemu korzeniowego vs zielona biomasa liści;  
- potencjał osmotyczny gleby vs korzeni vs liści;  
- fluorescencja chlorofilu *a*, gęstość aparatów szparkowych;  
- oznaczenie liczebności izolowanych mikroorganizmów, oznaczenie bioróżnorodności i aktywności mikroorganizmów zasiedlających ryzosferę;  
- analiza transkryptomu korzeni metodą RNAseq.

## **Temat 1: Weryfikacja materiału roślinnego firm hodowlanych dla wytypowania modelowych genotypów odpornych/nieodpornych na stres suszy.**

### **Wnioski:**

- wytypowano genotypy spełniające kryteria eksperymentalnego systemu modelowego; Telimena, Sirocco, Goplana wybrane zostały jako genotypy wrażliwe na stres suszy; Struna, SMJ 2115, Sharki jako genotypy odporne na stres suszy;
- na podstawie wskaźników tolerancji i cech fizjologicznych możliwe jest zrozumienie podstawowych odpowiedzi pszenicy jarej na suszę; wskaźnik podatności na suszę (DSI), wskaźnik tolerancji stresu (STI), indeks naprężenia (SI), średnia geometryczna produktywność (GMP) są najbardziej użyteczne w celu selekcji genotypów skrajnych w odpowiedziach odpornościowych na suszę;
- PCA i WCA mogą być stosowane jako odpowiednia metoda statystyczna do badania złożonych mechanizmów oporności i zwiększenia wydajności plonów w programach hodowlanych; analizy potwierdziły silną korelację pomiędzy DSI, oraz produkcją różnych składników plonu;
- zaproponowano autorskie rozwiązania dla selekcji roślin wzg. architektury systemu korzeniowego (Grzesiak et al. 2019b).

## **Temat 2: Przygotowanie standardowych konsorcjów mikroorganizmów w oparciu o szczepy dostępne w SYMBIO-BANKu.**

### **Wnioski:**

- przygotowano konsorcja mikrobiologiczne dla oceny ograniczenia negatywnych skutków stresu suszy u roślin pszenicy poprzez stymulację ich wzrostu:

Konsorcjum 1 (DPB4 - *Bacillus* sp. i DLGB4 - *Microbacterium* sp.)

Konsorcjum 2 (Pszenica 23 - *Bacillus* sp. i Pszenica 28 - *Bacillus* sp.)

Konsorcjum 3 (DKB67 - *Pantoea* sp. i DPGB7 - *Pantoea* sp.).

### **Temat 3: Weryfikacja efektywności działania standardowych konsorcjów mikroorganizmów w aspekcie zwiększenia odporności roślin na stres suszy.**

#### **Wnioski:**

- największe oddziaływanie pożytecznych mikroorganizmów glebowych na fizjologię i wzrost roślin w warunkach kontrolnych stwierdzono dla genotypów Sharki, Struna, SMJ 2115 (odporne na warunki suszy); mniejsze różnice dla genotypów Telimena, Sirocco, Goplana (wrażliwe na warunki suszy);
- efektywność mikroorganizmów jest zależna od przebiegu pogody i stanowiska: w doświadczeniu kamionkowym (IO), zastosowanie Konsorcjum 3 w największym stopniu wpływa na zwiększenie wzrostu nadziemnych części roślin pszenicy w optymalnych warunkach wodnych (niezależnie od wrażliwości roślin na suszę); w warunkach suszy Konsorcjum 1 indukuje przyrost biomasy odmiany odpornej (Sharki), Konsorcjum 2 odmiany wrażliwej (Telimena);
- w doświadczeniu wazonowym w tunelu (IFR PAN) aplikacja wszystkich konsorcjów mikroorganizmów wpływa korzystnie na zwiększenie suchej masy roślin w warunkach optymalnego nawodnienia i warunkach suszy, chociaż efekt jest mniejszy po zastosowaniu warunków suszy;
- stosowanie pożytecznych mikroorganizmów glebowych jest bezpośrednio skorelowane z sprawniejszym prowadzeniem procesu fotosyntezy roślin traktowanych niezależnie od warunków nawodnienia;
- w ryzosferze genotypów odpornych formowanie struktur arbuskularnych grzybów mykoryzowych i zasiedlanie korzeni przez grzyby mykoryzowe jest wyższe, warunki suszy intensyfikują ten efekt dla genotypów odpornych i wrażliwych na suszę, chociaż dla genotypów odpornych efektywność jest większa; zastosowanie każdego typu konsorcjum zwiększa kolonizację korzeni roślin w porównaniu do korzeni roślin nieinokulowanych mikroorganizmami w optymalnych warunkach nawadniania oraz w warunkach stresu suszy, największą skuteczność ma Konsorcjum 2; w ryzosferze odnotowano zwiększenie ogólnej liczebności bakterii oraz bakterii wytwarzających formy przetrwalnikowe dla odmiany wrażliwej w warunkach optymalnego nawadniania, oraz dla odmiany odpornej rosnącej w warunkach stresu suszy; odnotowano zwiększenie populacji bakterii syntetyzujących kwas indoliloctowy w glebie ryzosferowej roślin pszenicy (niezależnie od wrażliwości na suszę) po zastosowaniu Konsorcjów 1 i 3.

## **Temat 4: Skorelowanie dynamiki wzrostu systemu korzeniowego z odpornością roślin na suszę w warunkach glebowych.**

### Wnioski:

- zmniejszanie powierzchni części nadziemnej roślin (liczby liści, suchej masy, liczby aparatów szparkowych) przy jednoczesnym utrzymaniu wysokiej efektywności procesu fotosyntezy (parametry fluorescencji), ograniczenie uwodnienia roślin i zwiększenie zawartości substancji osmotycznie czynnych, są cechami części nadziemnej roślin, które determinują odporność roślin do warunków suszy;
- specyficzną cechą roślin odpornych jest mocno rozgałęziony głęboki system korzeniowy, umożliwiający uniknięcie stresu suszy / zmniejszenie skutków suszy; jednakże rozbudowana architektura korzeni musi być równomierna, wzrost korzeni również w górnej warstwie gleby jest niezbędny, aby zapewnić roślinom przewagę konkurencyjną w pobieraniu składników pokarmowych i ostatecznym plonie.

## **Temat 5: Izolacja, charakterystyka i oczyszczenie mikroorganizmów ryzosfery roślin odpornych i nieodpornych na suszę ze stanowisk glebowych (tunel hodowlany) oraz opracowanie konsorcjów mikroorganizmów.**

### Wnioski:

- ze względu na istotne różnice pomiędzy kompozycją mikroorganizmów ryzosfery roślin odpornych i nieodpornych po zastosowaniu suszy, pozyskano mikroorganizmy i przygotowano konsorcja:

Konsorcjum 1 - szczepy wyizolowane z gleby odmiany Goplana  
(GOS5B7 - *Bacillus* sp. i GOS5B17b - *Bacillus subtilis*)

Konsorcjum 2 - szczepy wyizolowane z gleby odmiany Telimena  
(TES5B7, TES5B10a i TES5B10b-2 - *Streptomyces* sp.)

Konsorcjum 3 - szczepy wyizolowane z gleby odmiany Sharki  
(SHS10B5a - *Bacillus megaterium*/ *Bacillus aryabhattai* i SHS5B14a - *Streptomyces* sp.)

Konsorcjum 4 - szczepy wyizolowane z gleby odmiany SMJ 2115  
(SMS5B3 - *Bacillus licheniformis* i SMS10B12a - *Streptomyces* sp.)



## **Temat 6: Skorelowanie dynamiki wzrostu systemu korzeniowego z odpornością roślin na suszę w warunkach *in vitro*.**

Tematu nie zrealizowano ze względu na ograniczenie finansowania (50%) w roku 2020.

## **Temat 7: Określenie efektywności działania opracowanych konsorcjów mikroorganizmów w aspekcie zwiększenia tolerancji roślin na suszę glebową.**

Wnioski:

- w warunkach kontrolnych wszystkie konsorcja mikroorganizmów znacznie bardziej wspomagają wzrost korzeni roślin, niżeli ich części nadziemnych (sucha masa pędów i korzeni); bardziej efektywne są konsorcja uzyskane z ryzosfery roślin odpornych (niezależnie, czy zastosowane w systemie prostym, czy krzyżowym); w warunkach suszy po zastosowaniu mikroorganizmów, zwiększony przyrost biomasy roślin stwierdzono zarówno w przypadku pędów, jak też korzeni; rośliny wrażliwe reagują silniej na stymulację przez pożyteczne mikroorganizmy glebowe izolowane z ryzosfery odmian rosnących uprzednio w warunkach suszy; spośród konsorcjów najlepszy efekt mają konsorcja K2 i K3;
- pozytywny wpływ konsorcjów mikrobiologicznych obserwowany jest jako wzrost wskaźnika witalności PSII (parametr fluorescencji chlorofilu *a*) dla wszystkich genotypów; jednak odmiany odporne wykazują generalnie wyższe wartości parametru;
- aplikacja konsorcjów pożytecznych mikroorganizmów ma korzystny wpływ na zwiększenie bioróżnorodności i wielkości populacji pożytecznych grup mikroorganizmów w ryzosferze roślin w warunkach optymalnego nawadniania i w warunkach suszy; stwierdzono zwiększenie liczebności bakterii wytwarzających przetrwalniki oraz bakterii wykazujących zdolność do wzrostu na pożywce zawierającej NaCl, odnotowano korzystny wpływ stosowania Konsorcjum K2 na aktywność metaboliczną bakterii zasiedlających ryzosferę roślin pszenicy odmiany odpornej oraz Konsorcjum K3 dla odmiany wrażliwej, największy wpływ na pozostałe mikroorganizmy ryzosfery roślin odpornych nawadnianych optymalnie i w warunkach suszy miała aplikacja konsorcjum K4.





## Osiągnięcia projektu:

- genotypy sklasyfikowano wg tolerancji na warunki suszy: od genotypów, które produkują stabilnie wysoką wydajność biomasy i ziarna, zarówno w warunkach suszy i warunkach optymalnego nawodnienia do wysoce wrażliwych genotypów o najniższej wydajności biomasy i ziarna w warunkach suszy (Grzesiak et al. 2019a); do celów eksperymentalnych wytypowano 6 genotypów: Telimena, Sirocco, Goplana wybrane zostały jako genotypy wrażliwe na stres suszy; Struna, SMJ 2115, Sharki jako genotypy odporne na stres suszy;
- zaproponowano, aby w programach hodowlanych, których celem jest poprawa pobierania wody z gleby i stabilizacja plonów w warunkach stresu wodnego, prowadzić selekcję roślin pod względem architektury systemu korzeniowego; należy brać pod uwagę rośliny o korzeniach głębokich, ale i rozgałęzionych w całym profilu glebowym; cechy korzenia, takie jak długość, głębokość i gęstość struktury powinny być rozpatrywane jednocześnie z cechami determinującymi wzrost korzenia pod szerokim kątem;
- zaproponowano autorskie rozwiązania dla selekcji roślin wzg. architektury systemu korzeniowego (Grzesiak et al. 2019b);
- wskazano możliwość zastosowania konsorcjów mikrobiologicznych w uprawie roślin pszenicy przy optymalnym zaopatrzeniu roślin w wodę, jak również w warunkach stresu suszy; wytypowano grupy mikroorganizmów z SYMBIO-BANKu (IO), które można zastosować celem ograniczania skutków stresu suszy u roślin pszenicy, oraz opracowano i potwierdzono efektywność działania mikroorganizmów izolowanych z ryzosfery roślin, które uprzednio przetrwały okres suszy; opracowane konsorcja mogą stanowić innowacyjne bioprodukty / bionawozy przeznaczone do uprawy roślin pszenicy rosnących w warunkach stresu suszy.

## Wykaz publikacji

Natalia Hordyńska, Angelika Noga, Piotr Szczyrek, Maciej T. Grzesiak, Stanisław Grzesiak, Magdalena Szechyńska-Hebda. Selection of wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes with improved drought tolerance. 11<sup>th</sup> International Conference "Plant Functioning Under Environmental Stress". September 12 - 15, 2018, Cracow, Poland.

Natalia Hordyńska, Maciej T. Grzesiak, Stanisław Grzesiak, Magdalena Szechyńska-Hebda. Morphological, physiological and molecular responses of wheat (*Triticum aestivum* L.) to drought stress under different temperature conditions. 11<sup>th</sup> International Conference "Plant Functioning Under Environmental Stress". September 12 - 15, 2018, Cracow, Poland.

Stanisław Grzesiak, Natalia Hordyńska, Piotr Szczyrek, Maciej T. Grzesiak, Angelika Noga, Magdalena Szechyńska-Hebda. 2019a. Variation among wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes in response to the drought stress: I – selection approaches. *Journal of Plant Interactions*, 14:1, 30-44.

Magdalena Szechyńska-Hebda, Stanisław Grzesiak, Maciej Grzesiak, Natalia Hordyńska, Lidia Sas-Paszt, Anna Lisek, Beata Sumorok, Edyta Derkowska, Krzysztof Weszczak, Mateusz Frąc, Michał Przybył, Paweł Trzciniński, Sławomir Głuszek. Specific rhizosphere bacteria improve wheat (*Triticum aestivum* L.) growth under drought. 49<sup>th</sup> Annual Meeting of the Ecological Society of Germany, Austria, and Switzerland "Science meets practice" Münster, Germany, September 9-13, 2019.

Natalia Hordyńska, Maciej T. Grzesiak, Stanisław Grzesiak, Magdalena Szechyńska-Hebda. Plant genotype can determine the interaction with soil microorganisms during drought. 49<sup>th</sup> Annual Meeting of the Ecological Society of Germany, Austria, and Switzerland "Science meets practice" Münster, Germany, September 9-13, 2019.

Maciej T. Grzesiak, Natalia Hordyńska, Anna Maksymowicz, Stanisław Grzesiak, Magdalena Szechyńska-Hebda. 2019b. Variation among spring wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes in response to the drought stress. II – Root system structure. *Plants (Basel)* 8(12):584.