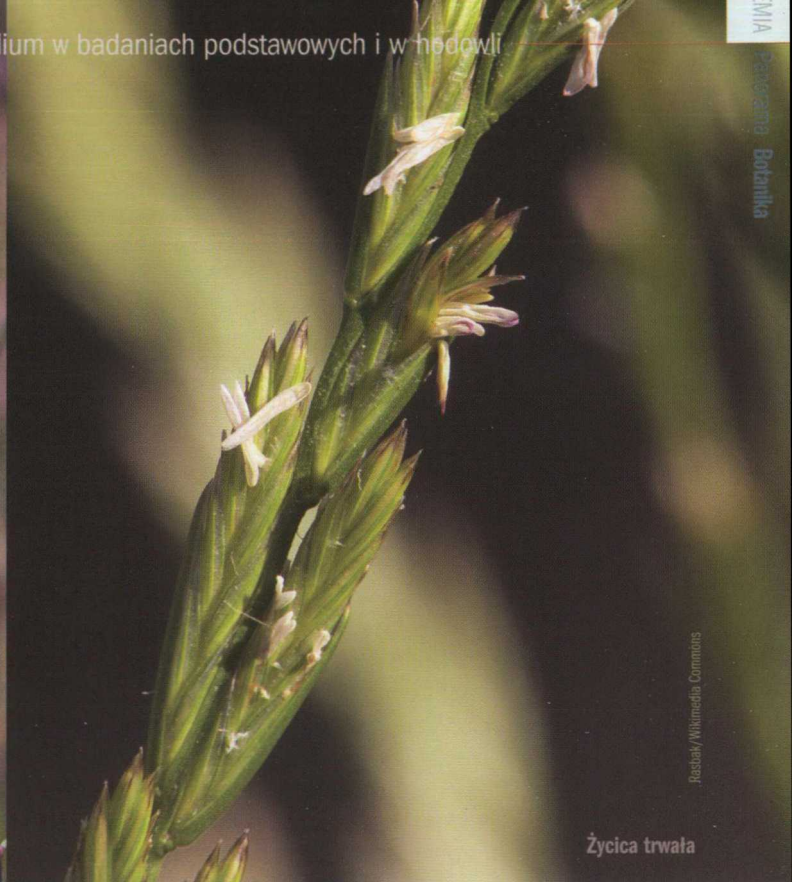




Tobiasz Wikimedia Commons

Kostrzewa łąkowa



Rostaw Wikimedia Commons

Życica trwała

Trawa bardzo pożyteczna



ARKADIUSZ KOSMAŁA

Instytut Genetyki Roślin
Polska Akademia Nauk, Poznań
akos@igr.poznan.pl

Dr hab. Arkadiusz Kosmala jest kierownikiem Zespołu Cytogenetyki i Fizjologii Molekularnej Traw w Zakładzie Biologii Stresów Środowiskowych IGR PAN w Poznaniu. Za zespołowe badania nad molekularnymi mechanizmami tolerancji stresów abiotycznych u traw kompleksu *Lolium-Festuca* otrzymał w 2013 roku nagrodę Wydziału II Nauk Biologicznych i Rolniczych PAN.

Zboża uprawne - to im przypisujemy największą wartość. Są jednak „zwykłe” trawy, które można wykorzystać zarówno jako materiał hodowlany do wytwarzania odmian uprawnych, jak i model do molekularnych badań tolerancji niskiej temperatury i suszy. To życica (*Lolium*) i kostrzewa (*Festuca*), które często określane są jako kompleks *Lolium-Festuca*

W centralnej i wschodniej Europie, także w Polsce, dominuje klimat umiarkowany, kontynentalny. Niskie temperatury w styczniu i lutym oraz okresowe mrozy w marcu mają negatywny wpływ na plonowanie roślin uprawnych. Podobnie jak bardzo częste okresy wysokich temperatur bez jednoczesnych opadów deszczu. Susza glebowa w niektórych rejonach (np. Wielkopolska) niszczy nawet 70% upraw. Pełne wykorzystanie potencjału paszowego traw pastewnych jako głównych komponentów użytków zielonych (łąk i pastwisk) jest więc uzależnione nie tylko od poziomu ich produktywności i jakości paszowej, lecz również od ich stopnia tolerancji stresu suszy i niskiej temperatury, jaki poszczególne gatunki traw i wytworzone z nich na drodze hodowli odmiany są zdolne osiągnąć.

Biorąc to pod uwagę, życice i kostrzewy należy uznać za wyjątkowy materiał roślinny zarówno w badaniach podstawowych, jak i w pracach hodowlanych ukierunkowanych na wytwarzanie nowych, produktywnych i tolerujących stresy środowiskowe odmian uprawnych.

Mieszzańce Festulolium w badaniach podstawowych i w hodowli

Dwa najważniejsze gatunki pastewne z rodzaju życica – życica wielokwiatowa (*Lolium multiflorum*) oraz trwała (*Lolium perenne*) – to trawy o wysokiej produktywności, czyli plonie zielonej i suchej masy, oraz jakości, na którą składa się m.in. wysoka zawartość rozpuszczalnych węglowodanów i strawność paszy. Niestety, wykazują one niską tolerancję stresów abiotycznych i biotycznych. Z kolei gatunki z rodzaju kostrzewa, w tym kostrzewa łąkowa (*Festuca pratensis*) i trzcinowa (*Festuca arundinacea*), odznaczają się dużym stopniem tolerancji mrozu, suszy i wysokiego zasolenia gleby, jednak nie dorównują życicom pod względem wartości paszowej. Gatunki te krzyżują się ze sobą, tworząc międzyrodzajowe mieszzańce, z których wiele pozostaje płodnych dzięki temu, że chromosomy gatunków rodzicielskich swobodnie u nich koniugują i rekombinują. Dzięki temu możliwe jest przenoszenie na drodze krzyżowania korzystnych cech z gatunków jednego rodzaju do gatunków drugiego rodzaju.

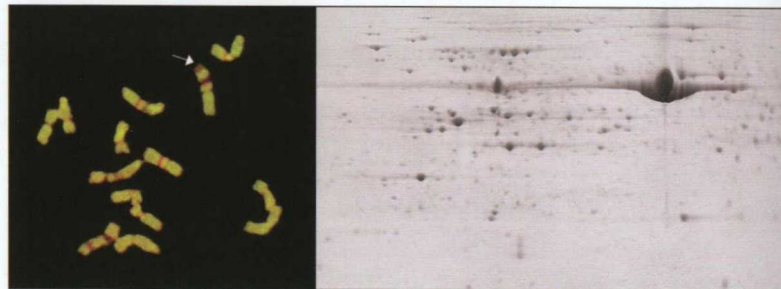
Takie połączenie można osiągnąć albo przez amfiploidyzację – łączenie kompletnych genomów dwóch gatunków rodzicielskich i podwojenie liczby chromosomów (np. przy użyciu kolchicyny) u mieszańca międzyrodzajowego, albo introgresję – przeniesienie genów z jednego gatunku do drugiego na drodze krzyżowań wstecznych mieszańca międzyrodzajowego z jednym z jego gatunków rodzicielskich. Gatunki *Festuca* i *Lolium* wykorzystywane są w celu otrzymywania diploidalnych i poliploidalnych (czyli posiadających podwojony garnitur chromosomów) mieszańców, a następnie do tworzenia form amfiploidalnych i/lub introgresywnych, często nazywanych *Festulolium*. *Festuca arundinacea* wykorzystywana jest jako źródło genów tolerancji suszy oraz niskiej temperatury, z kolei *Festuca pratensis* to podstawowe źródło genów tolerancji mrozu.

Po pierwsze: badać

Odpowiedź rośliny na czynniki stresowe na poziomie molekularnym analizować można m.in. w oparciu o ekspresję wybranych genów, akumulację wybranych białek i parametry fizjologiczne związane np. z funkcjonowaniem aparatu fotosyntetycznego. Badania w tym zakresie prowadzone od wielu lat w Instytucie Genetyki Roślin PAN, w Zespole Cytogenetyki i Fizjologii Molekularnej Traw. Koncentrują się

głównie na poznaniu niektórych elementów reakcji kostrzewy łąkowej na niską temperaturę oraz kostrzewy trzcinowej na suszę, w oparciu o analizy fizjologiczne – obejmujące m.in. pomiar relatywnej zawartości wody w liściach, wycieku elektrolitów, pobierania wody, parametrów fluorescencji chlorofilu i wymiany gazowej (transpiracji i intensywności fotosyntezy) oraz proteomiczne – wykorzystujące elektroforezę dwukierunkową (2-D) i spektrometrię mas.

U wielu gatunków roślin, w tym u traw, indukcja tolerancji mrozu pojawia się pod wpływem hartowania w niskich temperaturach. Podczas badań molekularnych zidentyfikowano białka, których poziom akumulacji w warunkach hartowania na mroz był odmienny dla genotypów kostrzewy łąkowej o różnym potencjale tolerancji stresu. Były to m.in. kinaza fosfoglicerynianowa i RuBisCo aktywaza beta – enzymy zaangażowane w cykl Calvina



Z lewej: struktura genomu *Festulolium*. Z prawej: elektroforeza traw. Obok: trawy *Festulolium*

i proces asymilacji CO₂ w trakcie fotosyntezy. Zidentyfikowano również białka chloroplastowe, których poziom akumulacji w warunkach deficytu wodnego i/lub po powtórnym nawodnieniu roślin był odmienny dla genotypów kostrzewy trzcinowej o różnym potencjale tolerancji suszy. Wśród zidentyfikowanych białek były m.in. metaloproteaza FtsH2, cyklofilina CYP 38, fibrylna i lipokalina, a więc białka zaangażowane w ochronę aparatu fotosyntetycznego przed skutkami działania deficytu wody. Poziom akumulacji tych białek obserwowany u kostrzew może być kluczowy dla potencjału ekspresji tolerancji stresów abiotycznych także u życic.

Formy introgresywne *Festulolium*, obok opisanych wcześniej obu modelowych gatunków traw, są również doskonałym, unikatowym materiałem roślinnym do prowadzenia badań nad podłożem molekularnym tolerancji stresów śro-

dowiskowych u roślin. Z jednej strony charakteryzują się one tym samym tłem genetycznym, z drugiej zaś mogą reprezentować różną odpowiedź na ten sam czynnik stresowy. Na szczególną uwagę w kontekście poznania reakcji komórki roślinnej na stres deficytu wody zasługują nasze badania prowadzone w oparciu o tetraploidalne formy introgressywne życicy wielokwiatowej z genami kostrzewy trzcinowej. Wskazano potencjalny mechanizm regulujący poziom intensywności fotosyntezy w warunkach stresu suszy, niezależny od stopnia otwarcia aparatów szparkowych, lecz związany prawdopodobnie z intensywnością cyklu Calvina i poziomem akumulacji chloroplastowej aldolazy.

Formy *Festulolium* stanowią także niezwykle interesujący materiał roślinny do badań cytogenetycznych związanych m.in. z mapowaniem segmentów chromosomowych z genami dla pożądaných cech użytkowych, w tym tolerancji stresów abiotycznych. Wykorzystując technikę genomowej hybrydyzacji in situ (GISH) i fluorescencyjnej hybrydyzacji in situ (FISH) z sondami rDNA, zlokalizowano w krótkim ramieniu chromosomu nr 2 niektóre geny związane z zimotrwałością i tolerancją mrozu u diploidalnych form introgressywnych życicy wielokwiatowej z genami kostrzewy łąkowej lub kostrzewy trzcinowej.

Po drugie: hodować

Przenoszenie genów dla ważnych cech rolniczych między gatunkami życicy i kostrzewy zarówno poprzez amfiploidyzację, jak i introgressję jest szeroko wykorzystywane w programach hodowlanych. Osiągnięcia na polu prac badawczych i hodowlanych, związanych z transferem genów pomiędzy gatunkami życicy i kostrzewy, były i są owocem wieloletniej już współpracy pomiędzy Instytutem Genetyki Roślin PAN, Hodowlą Roślin Szelejewo (obecnie DANKO Hodowla Roślin, Oddział w Szelejewie) i Katedrą Fizjologii Roślin Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie. Z mieszańców międzyrodzajowych, a zwłaszcza z tetraploidalnych mieszańców kostrzewy łąkowej i życicy wielokwiatowej (*Festuca pratensis* × *Lolium multiflorum*) wyprowadzono już, głównie w Europie, wiele odmian uprawnych *Festulolium*, w tym cztery odmiany amfiploidalne (*Felopa*, *Sulino*, *Rakopan* i *Agula*) uzyskano w Polsce.

Jak już wspomniano wcześniej, chromosomy homeologiczne życicy i kostrzewy wykazują zdol-

ność do koniugacji w metafazie I mejozy, są one jednak na tyle różne, że można je identyfikować u mieszańców i ich form pochodnych (amfiploidalnych i introgressywnych) przy użyciu techniki GISH. Na podstawie analizy struktury genomowej wybranych form amfiploidalnych *Festulolium* w kolejnych pokoleniach generatywnych wykazano wysoki poziom rekombinacji homeologicznej i dominację genomu życicy nad genomem kostrzewy. Przypuszcza się, że cechy te mogą być jedną z przyczyn niestabilności genetycznej często obserwowanej u mieszańców oddalonych.

Dalsze nasze badania wykazały, że introgressja wybranych tylko genów kostrzewy do życicy na drodze krzyżowania wstecznego mieszańca międzyrodzajowego z diploidalną lub tetraploidalną formą rodzicielską życicy może być bardziej wydajną drogą uzyskania stabilnych i dostatecznie płodnych genotypów o wyższym potencjale tolerancji stresów środowiskowych. W wyniku współpracy z Hodowlą Roślin DANKO (Oddział w Szelejewie) i Katedrą Fizjologii Roślin Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie uzyskano formy introgressywne życicy wielokwiatowej: diploidalne – z genami kostrzewy łąkowej lub kostrzewy trzcinowej, o istotnie wyższym poziomie mrozoodporności, oraz tetraploidalne – z genami kostrzewy trzcinowej, o istotnie wyższym potencjale tolerancji suszy, w porównaniu z aktualnie uprawianymi diploidalnymi/tetraploidalnymi odmianami życicy wielokwiatowej. Uzyskane formy introgressywne zostały włączone do programów hodowlanych, których celem jest wyprowadzenie nowych odmian życicy wielokwiatowej o poprawionych parametrach tolerancji stresów abiotycznych. ■

Chcesz wiedzieć więcej?

- Ghesquire M., Humphreys M.W., Zwierzykowski Z. (2010). *Festulolium*. In: B. Boller, U.K. Posselt and F. Veronesi (eds.), *Fodder Crops and Amenity Grasses*. pp. 288-311. Series: Handbook of Plant Breeding, Vol. 5. Springer Science+Business Media.
- Kosmala A., Bocian A., Rapacz M., Jurczyk B., Zwierzykowski Z. (2009). Identification of leaf proteins differentially accumulated during cold acclimation between *Festuca pratensis* plants with distinct levels of frost tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 60, 3595-3609.
- Kosmala A., Perlikowski D., Pawłowicz I., Rapacz M. (2012). Changes in the chloroplast proteome following water deficit and subsequent watering in a high and a low drought tolerant genotype of *Festuca arundinacea*. *Journal of Experimental Botany*, 63, 6161-6172.

