

## SPRAWOZDANIE MERYTORYCZNE

z realizacji zadania na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej w 2023 roku

### A. INFORMACJE OGÓLNE

Tytuł zadania: Wpływ stresu suszy na zmiany w transkryptomie, morfologii i składzie chemicznym roślin chmielu i tytoniu.
Numer zadania: (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. poz. 1170 z późn. zm.)) <b>40</b>
Planowany okres realizacji zadania: <b>2023 r.</b>
Planowane nakłady w zł: <b>505 000</b>

### B. DANE WNIOSKODAWCY

Imię i nazwisko osoby reprezentującej jednostkę badawczą, (tytuł lub stopień naukowy, stanowisko, nazwa i adres jednostki badawczej, telefon, fax)
<b>Wiesław Aleksander Oleszek, prof. dr hab. czł. koresp. PAN</b> <b>Dyrektor</b> <b>Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy</b> <b>ul. Czartoryskich 8</b> <b>24-100 Puławy</b> <b>tel. 81 4786 700</b> <b>fax: 81 4786 900</b>

## C. INFORMACJA O WYKONAWCACH

### 1. Zespół badawczy

kierownik zadania		
imię i nazwisko	stopień i tytuł naukowy	miejsce zatrudnienia
Marcin Przybyś	dr	IUNG-PIB
wykonawcy zadania		
imię i nazwisko	stopień i tytuł naukowy	miejsce zatrudnienia
Urszula Skomra	dr	IUNG-PIB
Anna Trojak-Goluch	dr hab.	IUNG-PIB

### 2. Kierownik zadania

Marcin Przybyś, dr  
Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy  
Zakład Hodowli i Biotechnologii Roślin  
ul. Czartoryskich 8  
24-100 Puławy  
tel. 81 4786 930  
tel. sekretariat: 81 4786 931  
e-mail: mprzybys@iung.pulawy.pl

Kontakt w przypadku nieobecności kierownika zadania  
Urszula Skomra, dr  
Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy  
Zakład Hodowli i Biotechnologii Roślin  
ul. Czartoryskich 8  
24-100 Puławy  
tel. 81 4786 943

## D. OPIS ZADANIA

### 1. Cele zadania

Lp.	Cel	Czy cel został zrealizowany (tak/nie <sup>1</sup> /częściowo <sup>1</sup> )
	Określenie wpływu stresu suszy na pole powierzchni liścia i wysokość badanych roślin oraz zawartość kwasów goryczkowych, olejków eterycznych, ksantohumolu i indeks zesterzenia w chmielu.	tak
	Określenie specyficznych genów mających wpływ na tolerancję chmielu na stres suszy.	tak

<sup>1</sup> Jeśli dotyczy – proszę opisać pod tabelą, w jakim stopniu cel został osiągnięty i podać przyczyny

## 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
1	Analiza morfologiczna i chemiczna roślin poddanych stresowi suszy	styczeń – październik	102 000
2	Analiza bioinformatyczna transkryptomu roślin poddanych stresowi suszy	czerwiec - grudzień	403 000
<b>Razem</b>			<b>505 000</b>

## 3. Opis tematów badawczych

### 3. 1. Temat badawczy 1

#### **Cel tematu badawczego 1:**

Celem prowadzonych badań jest określenie wpływu stresu suszy na pole powierzchni liścia i wysokość badanych roślin oraz zawartość kwasów goryczkowych, olejków eterycznych, ksantohumolu i indeks zesterzenia w chmielu.

Cel tematu badawczego 1 został osiągnięty.

#### **Materiały i metody**

W badaniach zostały użyte 2 genotypy chmielu Magnat i Perle różniące się reakcją na stres suszy. Zostały one użyte do określenia wpływu stresu suszy na zmiany morfologiczne roślin, zmiany w składzie chemicznym oraz do uzyskania RNA niezbędnego w temacie badawczym nr 2. W tym celu po 100 roślin każdej odmiany utrzymywane w IUNG-PIB od roku 2021 (pierwszego roku realizacji zadania) zostało przeniesione do fitotronów i było utrzymywane w kontrolowanych warunkach temperatury 22°C/18°C i przy fotoperiodzie 16/8 godzin oraz wilgotności względnej powietrza 50%. Po aklimatyzacji przeprowadzone zostały testy reakcji roślin na stres suszy. W tym celu w pierwszym dniu prowadzenia doświadczenia wszystkie rośliny zostały podlane wodą destylowaną do pełnego nasycenia podłoża wodą. Wilgotność względna podłoża była monitorowana przez cały okres prowadzenia doświadczenia. W przypadku roślin kontrolnych wilgotność względna podłoża była utrzymywana na stałym 85% poziomie zapewniającym prawidłowy wzrost. Rośliny poddawane stresowi suszy nie były podlewane. W 2, 6, 10 i 14 dniu doświadczenia określone zostały wysokość oraz pole powierzchni blaszki liściowej badanych roślin. Próbkę liści 10 roślin stresowanych i 10 kontrolnych były pobierane w 2, 6, 10 i 14 dniu doświadczenia. Próbkę natychmiast po pobraniu były zamrażane w ciekłym azocie i przechowywane w -80°C. Zamrożone próbki były wykorzystane do oceny zmian w składzie chemicznym chmielu oraz w badaniach molekularnych zaplanowanych w temacie badawczym nr 2.

## **Analizy chemiczne**

### Oznaczenie alfa- i beta-kwasów oraz ksantohumolu

Zawartość kwasów goryczkowych i ksantohumolu oznaczano przy użyciu metody HPLC. Wysuszone szyszki mielono, odważano po  $10\text{g} \pm 0,001$  i ekstrahowano przez 40 minut w 100 ml toluenu. Następnie 5 ml ekstraktu rozcieńczono w metanolu w kolbie o pojemności 50 ml. Rozcieńczony ekstrakt przeniesiono do vialek chromatograficznych. Rozdział związków prowadzono za pomocą wysokosprawnego chromatografu cieczowego HPLC Agilent Technologies 1200. Oznaczenie prowadzono za pomocą detektora UV\VIS przy długości fali 370nm i 314 nm. Czas analizy wynosił 25 minut.

Identyfikacja ksantohumolu następowała do 6 minuty retencji przy długości fali 370 nm. Rozdział kwasów goryczkowych na poszczególne alfa- i beta-kwasy następował po 6 min. retencji, a ich identyfikacja przy długości fali 314 nm.

### Warunki rozdziału chromatograficznego:

Objętość nastrzyku: 5 $\mu$ l

Prędkość przepływu fazy ruchomej: 1ml/min

Temperatura kolumny: 40°C

Poszczególne frakcje alfa- i beta-kwasów oraz ksantohumolu identyfikowano poprzez porównanie czasów retencji badanej próby z Międzynarodowym Wzorcem Zewnętrznym (ICE 3) o znanej kompozycji kwasów goryczkowych oraz wzorcem zewnętrznym ksantohumolu (Applichem) o czystości 99%. Zawartość kwasów goryczkowych i ksantohumolu wyznaczano przez porównanie otrzymanego pola powierzchni piku badanej próbki z polem powierzchni piku substancji wzorcowej o znanym stężeniu.

### Oznaczenie indeksu zestarzenia HSI metodą spektrofotometryczną

Wartość HSI została określona zgodnie z metodą Analytica-EBC 7.13.

50 ml toluenu dodano do zmielonej próbki chmielu (5 g) i ekstrahowano na wytrząsarce orbitalnej przez 45 min. Po ekstrakcji fragmenty chmielu zostały usunięte przez filtrowanie ekstraktu. Pięć mililitrów przefiltrowanego roztworu rozcieńczono do 100 ml metanolem (roztwór A). Następnie 3 ml roztworu A było rozcieńczone alkalicznym metanolem w kolbie miarowej do objętości 50 ml, w celu uzyskania roztworu B. Absorbancja roztworu B była mierzona spektrofotometrycznie w stosunku do próbki ślepej 275 nm i 325 nm. Wartość HSI wyraża stosunek między zmierzonymi absorbancjami przy tych długościach fal.

### Oznaczenie zawartości olejków chmielowych metodą destylacji z parą wodną według Analytica EBC 7.10

25g $\pm$ 0,001 zmielonego i wysuszonego materiału chmielowego destylowano w 500 ml wody za pomocą aparatu Derynga metodą destylacji z parą wodną. Destylację prowadzono przez 3h od chwili rozpoczęcia wrzenia. Po zakończeniu destylacji aparat studzono w temperaturze pokojowej przez 20 minut, a następnie w odbieralniku

aparatu odczytano objętość zebranego olejku chmielowego. Oddestylowany olejek przenoszono do vialek chromatograficznych.

#### Identyfikacja składników olejków eterycznych według Analytica EBC 7.12

Identyfikację składu olejków eterycznych przeprowadzono metodą chromatografii gazowej z detekcją za pomocą spektrometru mas (Agilent Technologies 7890A/5975C).

Analizie chromatograficznej poddano 10% roztwory olejku chmielowego otrzymane poprzez zmieszanie 100µl oddestylowanego olejku z 900µl heksanu o czystości HPLC w szkalnej vialce o pojemności 2 ml.

#### Warunki rozdziału chromatograficznego:

Kolumna chromatograficzna: 19091S-433UI– 30mx0,25mmx0,25µm (Agilent Techn.)

Gaz nośny: hel 6.0

Przepływ gazu: 0,6 ml/min

Temperatura dozownika: 200°C

Tryb dozowania: split 40:1

Objętość dozowania: 1µl

Temperatura początkowa: 50°C

Czas utrzymywania temperatury początkowej: 2 min.

Wzrost temperatury: 3°C /min

Temperatura końcowa: 220°C

Temperatura detektora 250°C

Detektor: spektrometr mas – kwadrupol

Jonizacja: elektronowa

Energia jonizacji: 70eV

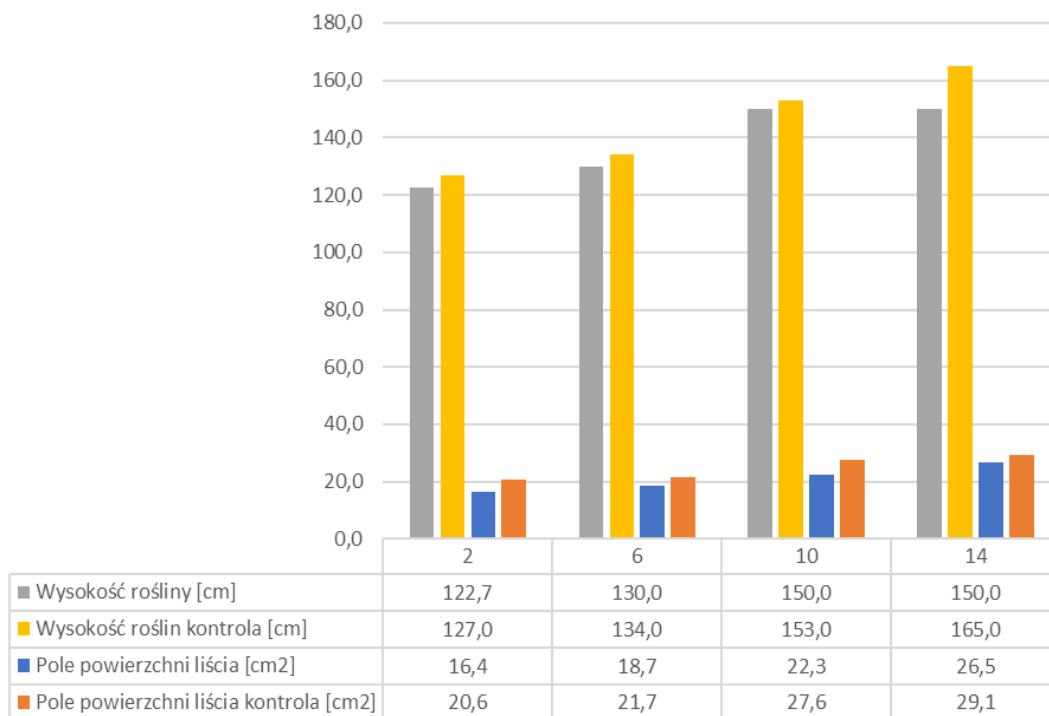
Całkowity czas analizy: 86 minut

W celu identyfikacji wybranych składników olejków eterycznych wykorzystano wzorce zewnętrzne (Sigma – Aldrich). Procentową powierzchnię każdego zidentyfikowanego składnika podano jako część całkowitej powierzchni chromatograficznej zgodnie z metodą EBC 7.12.

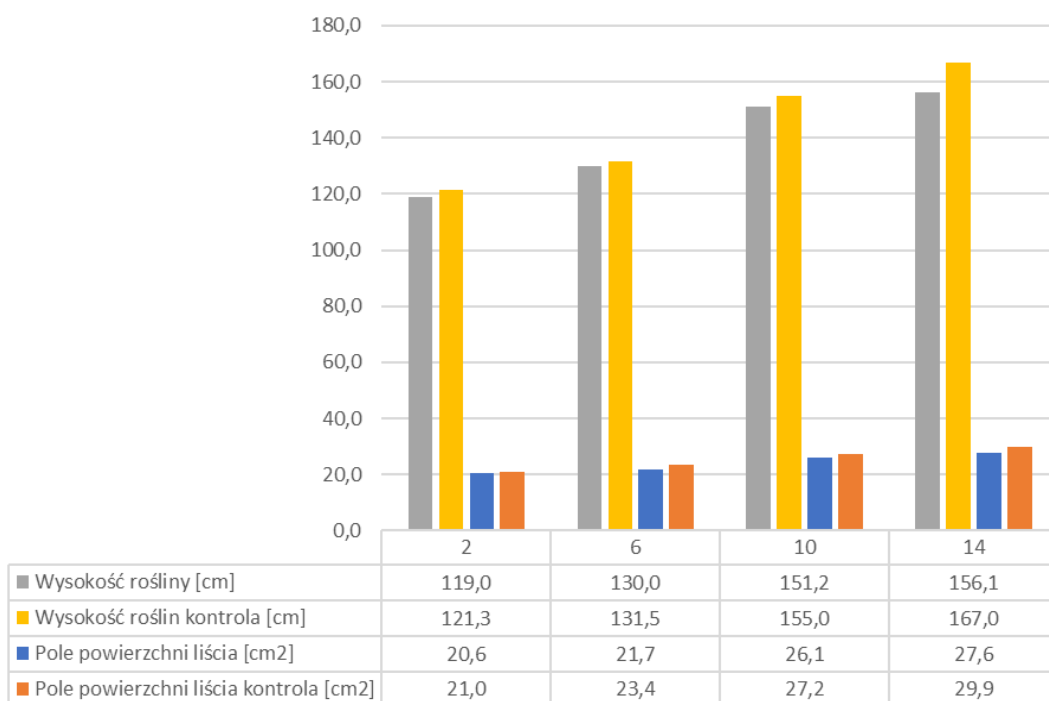
#### **Wyniki**

W wyniku prowadzonych badań obserwowano zróżnicowaną reakcję odmian Perle i Magnat na stres suszy. Na rys. 1 i 2 przedstawiono zmiany zachodzące w wysokości roślin i polu powierzchni liści. Wysokość roślin poddawanych stresowi suszy wahała się od 119 cm (odm. Perle) do 122,7 cm (odm. Magnat) w drugim dniu doświadczenia i od 150 cm (odm. Perle) do 156 cm (odm. Magnat) w 14 dniu.

Pole powierzchni 10 liścia roślin badanych wahało się od 16,4 cm<sup>2</sup> (odm. Perle) i 20,6 cm<sup>2</sup> (odm. Magnat) w drugim dniu doświadczenia do 26,5 cm<sup>2</sup> i 27,6 cm<sup>2</sup> w 14 dniu doświadczenia. Odmiana Magnat wykazywała niewielkie wzrosty pola powierzchni liścia pomiędzy 10, a 14 dniem doświadczenia, ale zachowała zdolność zwiększania wysokości całej rośliny. Odmiana Perle, zwiększała pole powierzchni 10 liścia nawet w warunkach silnego stresu suszy, ale obserwowano u niej całkowite zahamowanie wzrostu na wysokość w 14 dniu doświadczenia.



Rys. 1. Wpływ stresu suszy na zmiany w morfologii odmiany Perle, w zależności od długości trwania stresu suszy.



Rys. 2. Wpływ stresu suszy na zmiany w morfologii odmiany Magnat, w zależności od długości trwania stresu suszy.

W dalszych badaniach określono zmiany zachodzące w zawartości alfa-kwasów (cohumulon, adhumulon, humulon) i beta-kwasów (colupulon, adlupulon, lupulon) w szyszkach chmielu odmiany Perle w zależności od długości trwania stresu suszy (rys. 3-6).

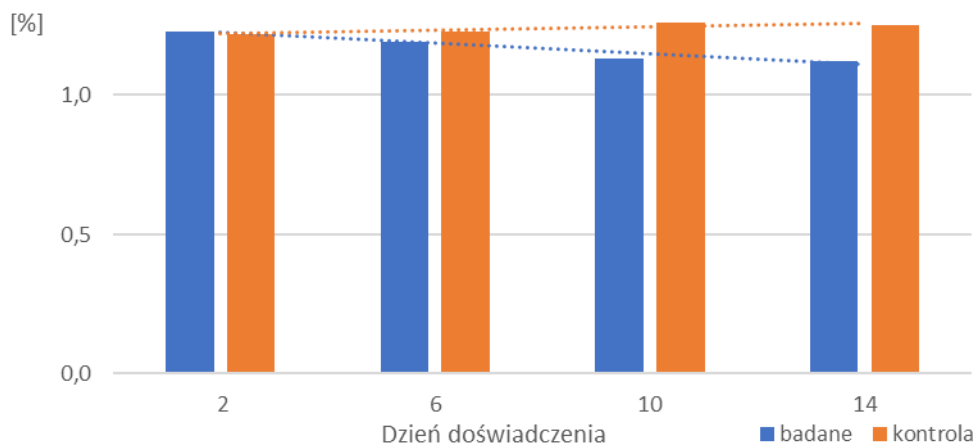
Zawartość procentowa cohumulon w suchej masie w 2 dniu suszy wynosiła średnio 1,23% i nieznacznie spadała do 1,12% w 14 dniu doświadczenia. W przypadku roślin kontrolnych zawartość cohumulon utrzymywała się na zbliżonym poziomie.

Zawartość adhumulon i humulon z każdym dniem doświadczenia spadała od 3,86% w 2 dniu, do 3,32% w 14 dniu. W przypadku roślin kontrolnych trend był odwrotny i

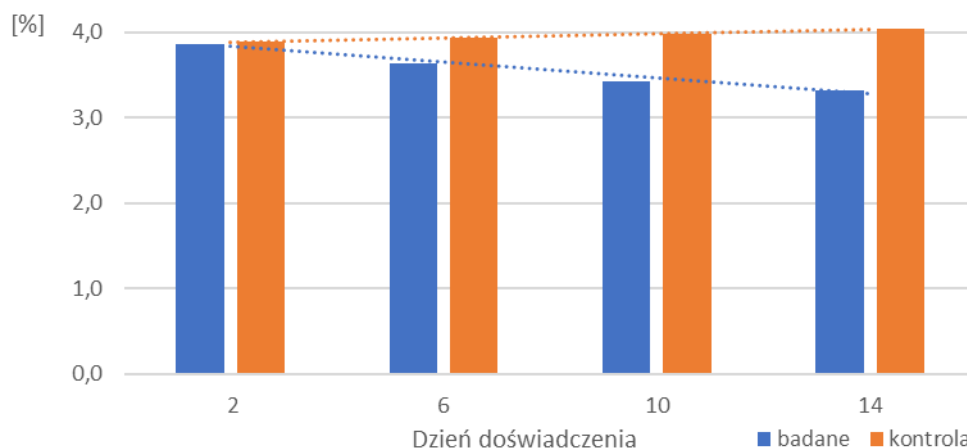
zawartość adhumuloniu i humuloniu rosła od 3,89% w 2 dniu doświadczenia i osiągała wartość 4,04% w 14 dniu.

W prowadzonych badaniach określono również zawartość beta-kwasów. Zawartość procentowa colupulonu w suchej masie w 2 dniu suszy wynosiła średnio 1,35% i wzrastała do 1,44% w 14 dniu doświadczenia. W przypadku roślin kontrolnych zawartość colupulonu utrzymywał się na zbliżonym poziomie 1,37%.

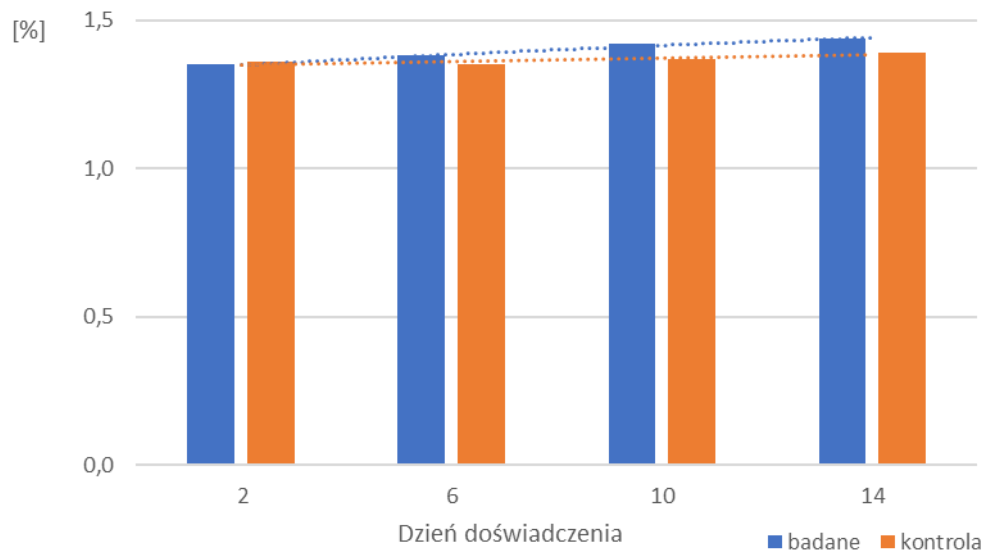
Zawartość adlupulonu i lupulonu z każdym dniem doświadczenia rosła u roślin badanych od 1,44% w 2 dniu, do 1,56% w 14 dniu. W przypadku roślin kontrolnych zawartość adlupulonu i lupulonu utrzymywała się na zbliżonym poziomie 1,48%.



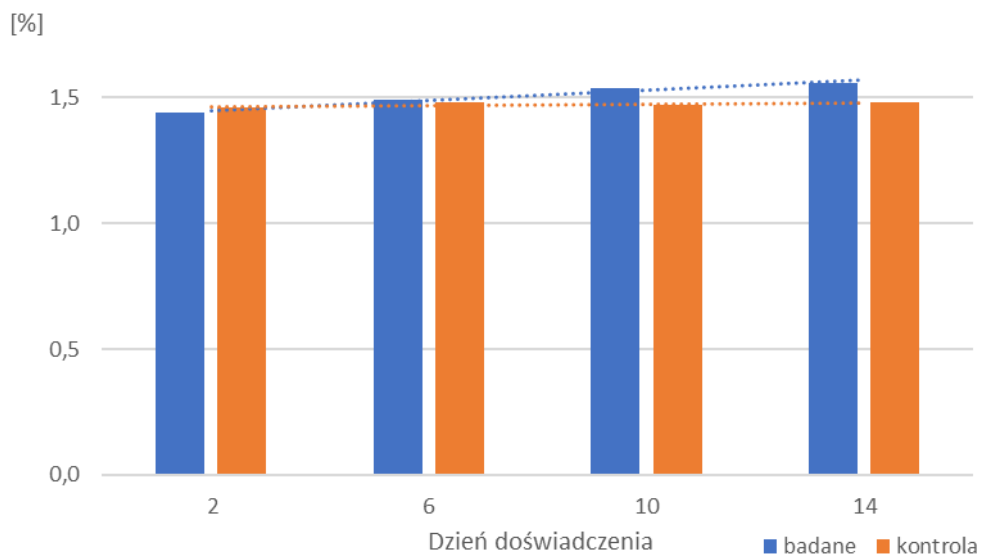
Rys. 3. Wpływ stresu suszy na zmiany w średniej zawartości cohumulonu w szyszkach odmiany Perle, w zależności od długości trwania stresu suszy.



Rys. 4. Wpływ stresu suszy na zmiany w średniej zawartości adhumuloniu i humuloniu w szyszkach odmiany Perle, w zależności od długości trwania stresu suszy.



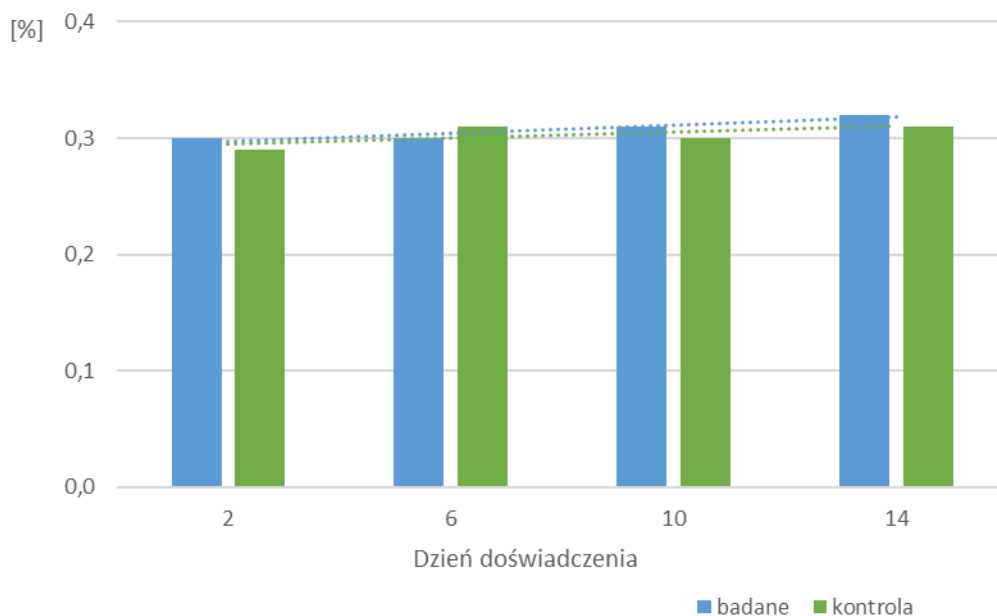
Rys. 5. Wpływ stresu suszy na zmiany w średniej zawartości colupulonu w szyszkach odmiany Perle, w zależności od długości trwania stresu suszy.



Rys. 6. Wpływ stresu suszy na zmiany w średniej zawartości adlupulonu i lupulonu w szyszkach odmiany Perle, w zależności od długości trwania stresu suszy.

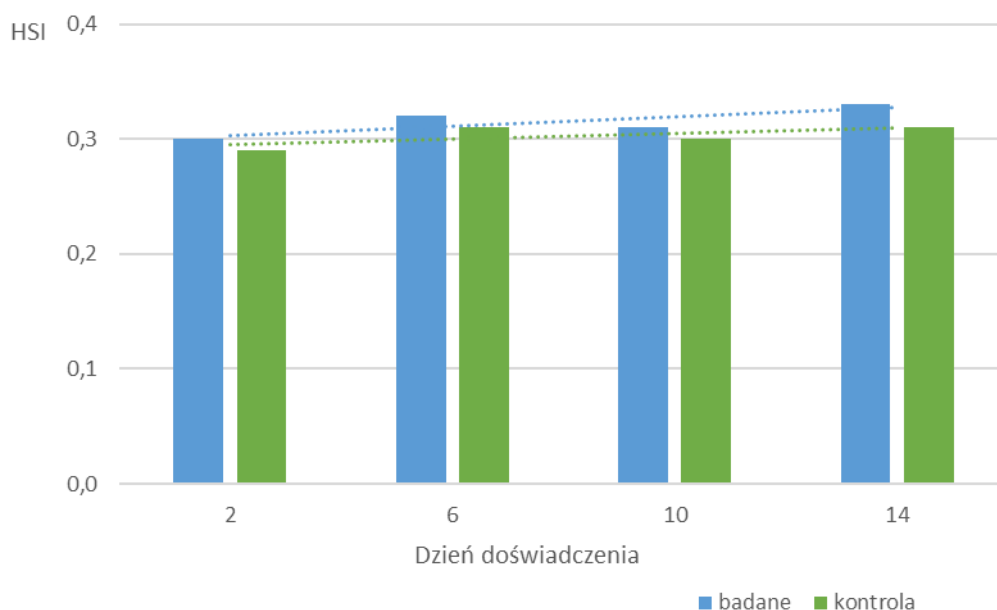
W prowadzonych badaniach określono również zawartość ksantohumolu, czyli flawonoidu o silnym działaniu przeciwutleniającym (rys. 7). Zawartość tego związku w szyszkach chmielu tylko nieznacznie wzrastała od 2 do 14 dnia doświadczenia zarówno wśród roślin badanych jak i kontrolnych odpowiednio od 0,30% do 0,32% i 0,29 do 0,31%.





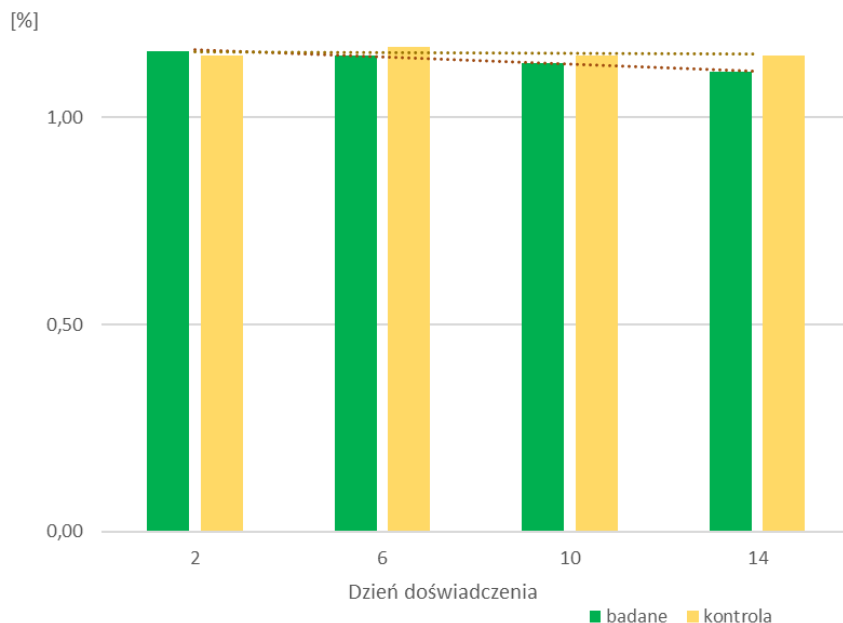
Rys. 7. Wpływ stresu suszy na zmiany w średniej zawartości ksantohumolu w szyszkach odmiany Perle, w zależności od długości trwania stresu suszy.

W ramach analiz chemicznych określono również indeks zestarzenia chmielu (HSI) określający stopień degradacji alfa- i beta-kwasów w szyszkach chmielu zachodzącej głównie w czasie obróbki i przechowywania surowca, ale również pod wpływem niekorzystnych warunków w czasie dojrzewania szyszek. Zarówno w przypadku roślin badanych jak i kontrolnych HSI rósł, chociaż w przypadku roślin badanych nieznacznie szybciej od 0,30 do 0,33 (rys. 8).



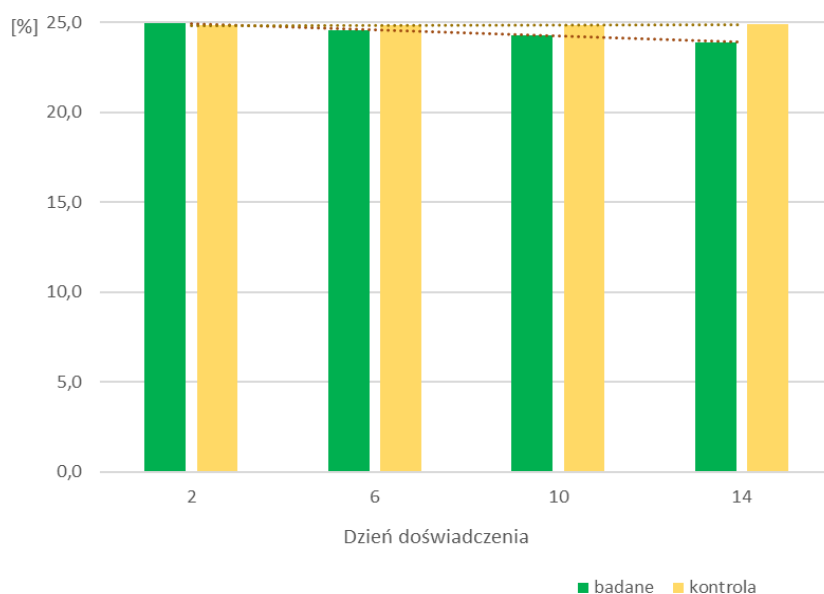
Rys. 8. Wpływ stresu suszy na zmiany w indeksie zestarzenia HSI odmiany Perle, w zależności od długości trwania stresu suszy.

W dalszym etapie realizacji tematu badawczego 1 określono wpływ stresu suszy na zawartość olejków eterycznych (beta-pinenu, myrcenu, humulenu, kariofilenu, geraniolu, limonenu, linaloolu, farnezeny) w szyszkach chmielu (rys. 9-16). Zawartość beta-pinenu z każdym dniem doświadczenia nieznacznie spadała od 1,16% w 2 dniu, do 1,11% w 14 dniu. W przypadku roślin kontrolnych zawartość beta-pinenu utrzymywała się na stałym poziomie 1,15% (rys. 9).

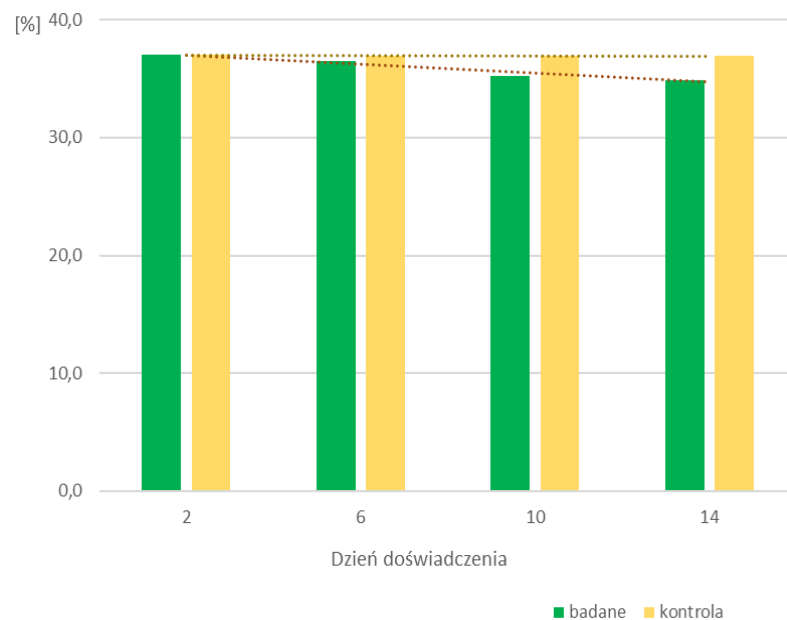


Rys. 9. Wpływ stresu suszy na zmiany w średniej zawartości beta-pinenu w szyszkach odmiany Perle, w zależności od długości trwania stresu suszy.

Podobny trend obserwowano w przypadku myrcenu i humulenu. Z każdym dniem doświadczenia, zawartość tych związków spadała odpowiednio od 24,95% i 37% w 2 dniu, do 23,91% i 34,83% w 14 dniu. W przypadku roślin kontrolnych zawartość myrcenu i humulenu utrzymywała się na stałym poziomie odpowiednio 24,85% i 37% (rys. 10, 11)

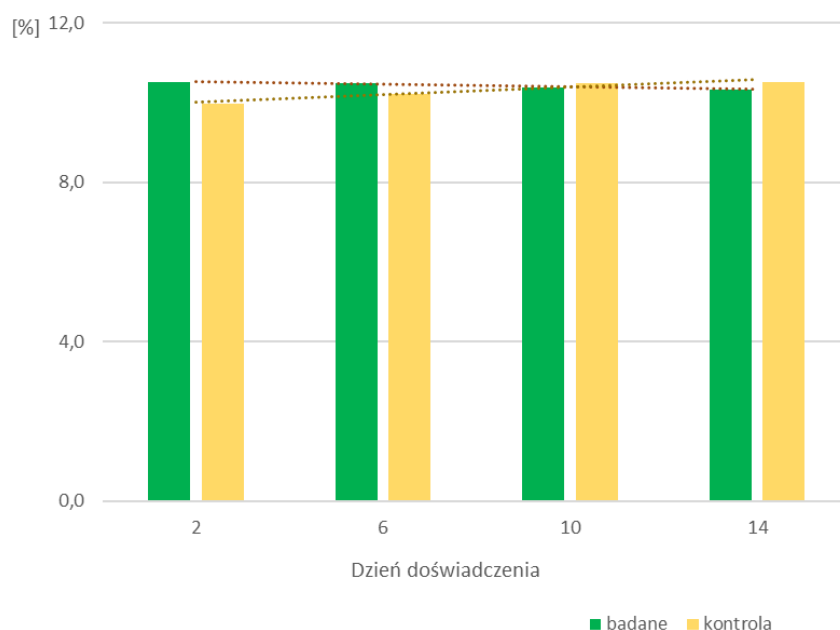


Rys. 10. Wpływ stresu suszy na zmiany w średniej zawartości myrcenu w szyszkach odmiany Perle, w zależności od długości trwania stresu suszy.

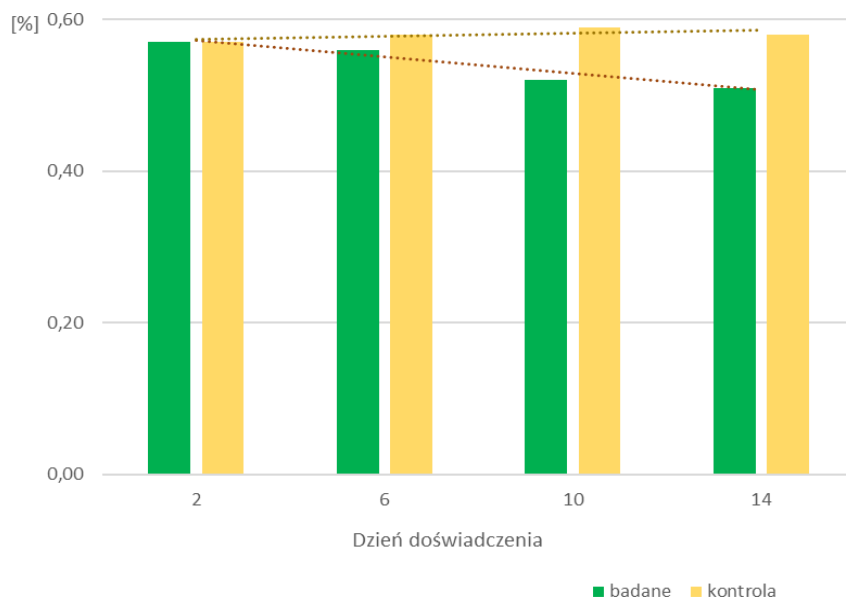


Rys. 11. Wpływ stresu suszy na zmiany w średniej zawartości humulenu w szyszkach odmiany Perle, w zależności od długości trwania stresu suszy.

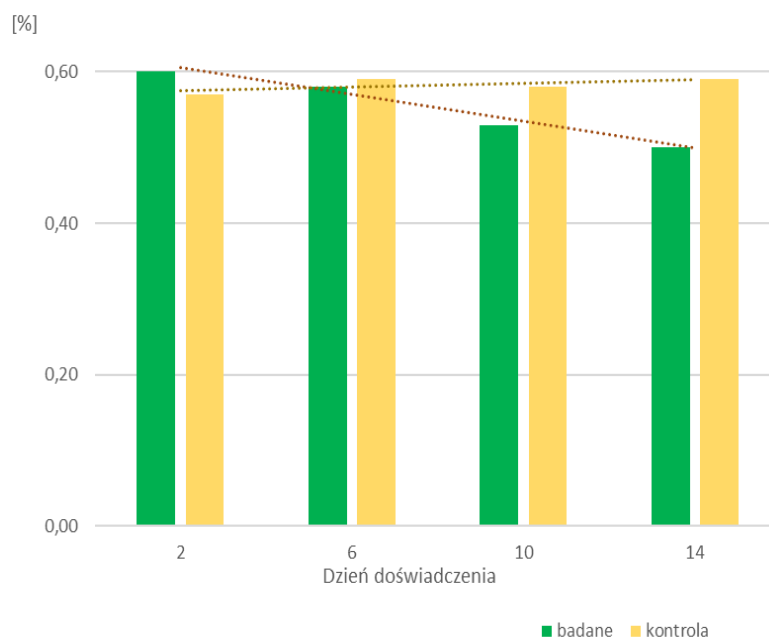
W odniesieniu do zawartości kariofilenu, geraniolu i limonenu wśród roślin badanych obserwowano spadek zawartości tych związków od odpowiednio 10,52%, 0,57%, 0,60% w 2 dniu doświadczenia do 10,34%, 0,51%, 0,50% w 14 dniu. U roślin kontrolnych widoczny był wzrost zawartości kariofilenu od 9,98% do 10,53% oraz utrzymująca się stała zawartość geraniolu i limonenu odpowiednio na jednakowym poziomie 0,58% (rys. 12-14).



Rys. 12. Wpływ stresu suszy na zmiany w średniej zawartości kariofilenu w szyszkach odmiany Perle, w zależności od długości trwania stresu suszy.



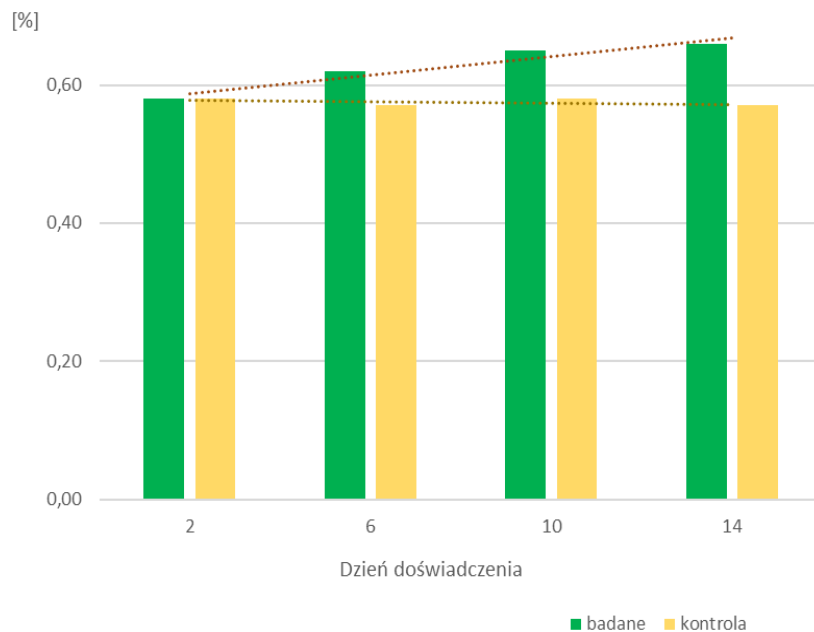
Rys. 13. Wpływ stresu suszy na zmiany w średniej zawartości geraniolu w szyszkach odmiany Perle, w zależności od długości trwania stresu suszy.



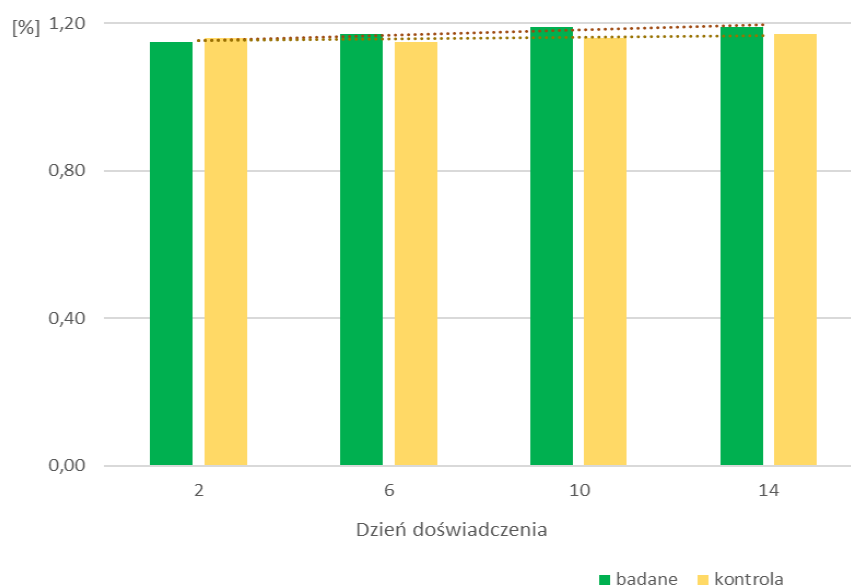
Rys. 14. Wpływ stresu suszy na zmiany w średniej zawartości limonenu w szyszkach odmiany Perle, w zależności od długości trwania stresu suszy.

W odniesieniu do linaloolu, jego zawartość rosła od 0,58% w 2 dniu doświadczenia do 0,66% w 14 dniu doświadczenia. W roślinach kontrolnych jego zawartość utrzymywała się na stałym poziomie 0,58% (rys.15).

Zawartość farnenezenu u roślin badanych rosła od 1,15% w 2 dniu do 1,19% w 10 dniu i potem utrzymywała się na niezmiennym poziomie do 14 dnia. U roślin kontrolnych obserwowano brak zmian w zawartości tego związku utrzymujący się na poziomie 1,16% (rys. 16).



Rys. 15. Wpływ stresu suszy na zmiany w średniej zawartości linaloolu w szyszkach odmiany Perle, w zależności od długości trwania stresu suszy.



Rys. 16 Wpływ stresu suszy na zmiany w średniej zawartości farnezenu w szyszkach odmiany Perle, w zależności od długości trwania stresu suszy.

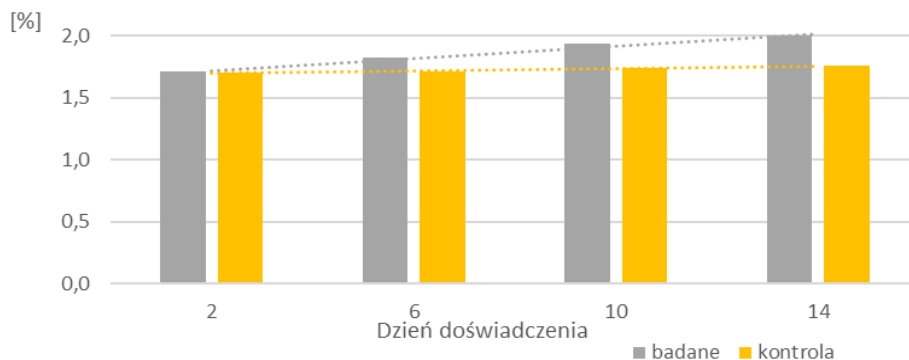
Drugim genotypem, w którym określono wpływ stresu suszy na zmiany w składzie chemicznym była odmiana Magnat. Określono zmiany zachodzące w zawartości alfa-kwasów i beta-kwasów w szyszkach chmielu w zależności od długości trwania stresu suszy (rys. 17-20).

Zawartość procentowa cohumulonu w suchej masie w 2 dniu suszy wynosiła średnio 1,71% i rosła do 2% w 14 dniu doświadczenia. W przypadku roślin kontrolnych zawartość cohumulonu również rosła, ale wolniej i osiągała w 14 dniu 1,76% (rys. 17). Podobną zależność obserwowano w przypadku zawartości adhumuloniu i humuloniu. W 2 i 6 dniu zmieniała się ona od 7,51% do 7,76%, by w 14

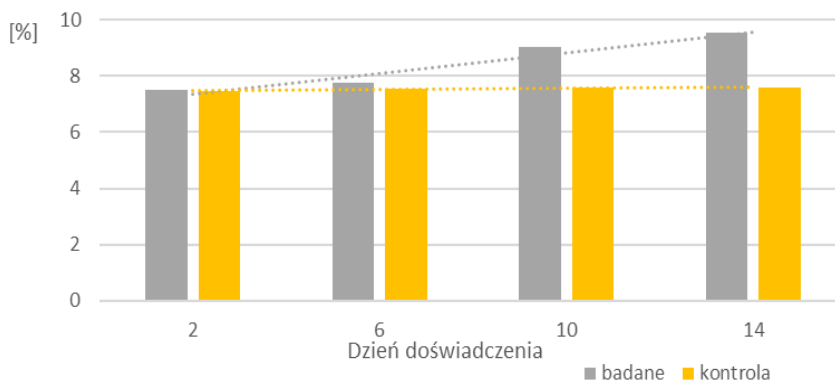
dniu osiągnąć 9,55%. Rośliny kontrolne wykazały jedynie nieznaczny wzrost zawartości tych związków od 7,48% w 2 dniu do 7,6% (rys. 18)

W prowadzonych badaniach określono również zawartość beta-kwasów. Zawartość procentowa colupulonu w suchej masie w 2 dniu suszy wynosiła średnio 0,97% i wzrastała do 1,22% w 14 dniu doświadczenia. W przypadku roślin kontrolnych zawartość colupulonu utrzymywała się na zbliżonym poziomie 0,99% (rys. 19).

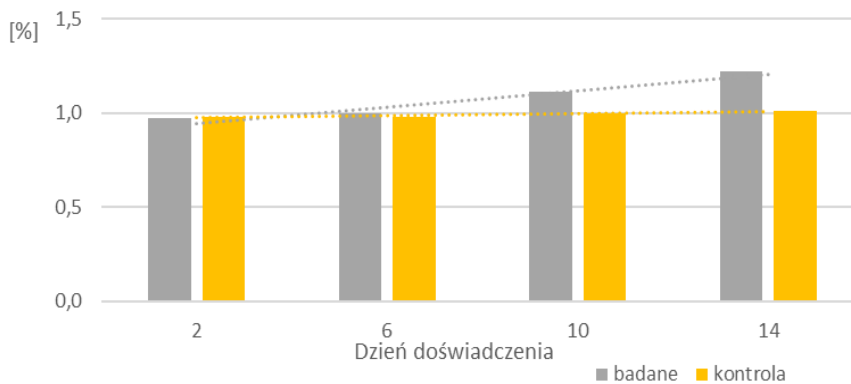
Zawartość adlupulonu i lupulonu z każdym dniem doświadczenia rosła u roślin badanych od 1,28% w 2 dniu, do 1,72% w 14 dniu. W przypadku roślin kontrolnych zawartość adlupulonu i lupulonu utrzymywała się na zbliżonym poziomie 1,3% (rys. 20).



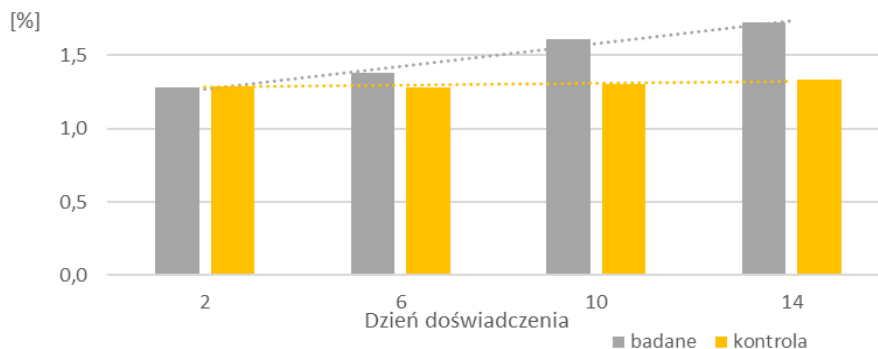
Rys. 17. Wpływ stresu suszy na zmiany w średniej zawartości cohumulonu w szyszkach odmiany Magnat, w zależności od długości trwania stresu suszy.



Rys. 18. Wpływ stresu suszy na zmiany w średniej zawartości adhumulonu i humulonu w szyszkach odmiany Magnat, w zależności od długości trwania stresu suszy.

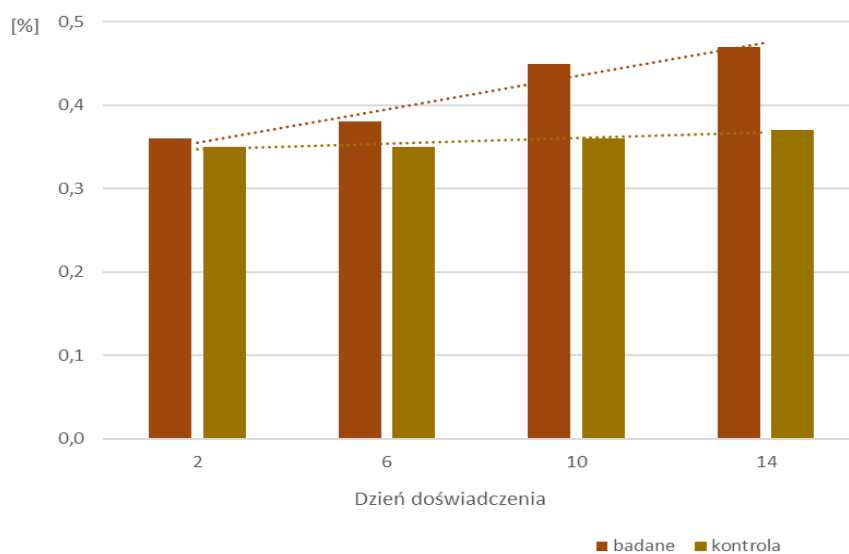


Rys. 19. Wpływ stresu suszy na zmiany w średniej zawartości colupulonu w szyszkach odmiany Magnat, w zależności od długości trwania stresu suszy.



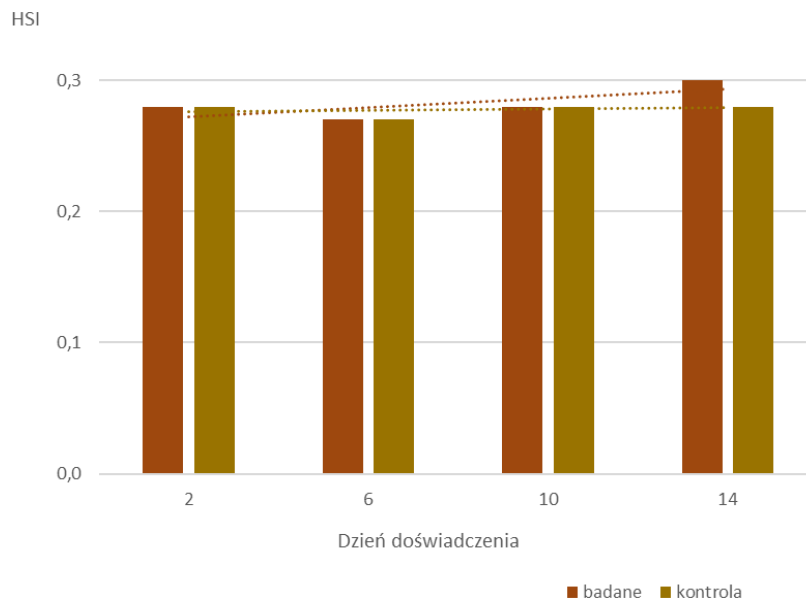
Rys. 20. Wpływ stresu suszy na zmiany w średniej zawartości adlupulonu i lupulonu w szyszkach odmiany Magnat, w zależności od długości trwania stresu suszy.

W prowadzonych badaniach określono zawartość ksantohumolu (rys. 21). Zawartość tego związku w szyszkach chmielu od 2 do 14 dnia doświadczenia rosła odpowiednio od 0,36% do 0,47%, zaś u roślin kontrolnych stabilizowała się na poziomie 0,36%.



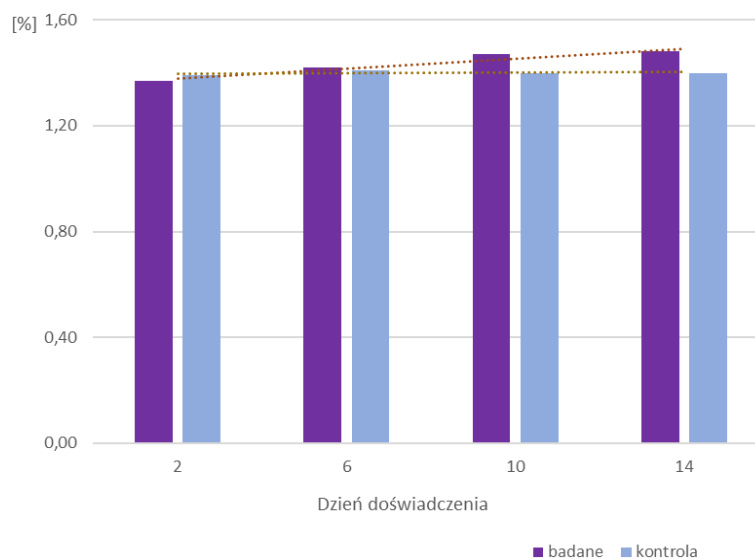
Rys. 21. Wpływ stresu suszy na zmiany w średniej zawartości ksantohumolu w szyszkach odmiany Magnat, w zależności od długości trwania stresu suszy.

Indeks zesterzenia chmielu (HSI) określający stopień degradacji alfa- i beta-kwasów w szyszkach chmielu w przypadku roślin badanych nieznacznie wzrastał od 0,28 do 0,30 natomiast u roślin kontrolnych HSI utrzymywał się na stałym poziomie 0,28 (rys. 22).



Rys. 22. Wpływ stresu suszy na zmiany w indeksie zestarzenia HSI odmiany Magnat, w zależności od długości trwania stresu suszy.

W dalszym etapie realizacji tematu badawczego 1 określono wpływ stresu suszy na zawartość olejków eterycznych w szyszkach chmielu odmiany Magnat (rys. 23-30). Zawartość beta-pinenu z każdym dniem doświadczenia rosła od 1,37% w 2 dniu, do 1,48% w 14 dniu. W przypadku roślin kontrolnych zawartość beta-pinenu utrzymywała się na stałym poziomie 1,4% (rys. 23).

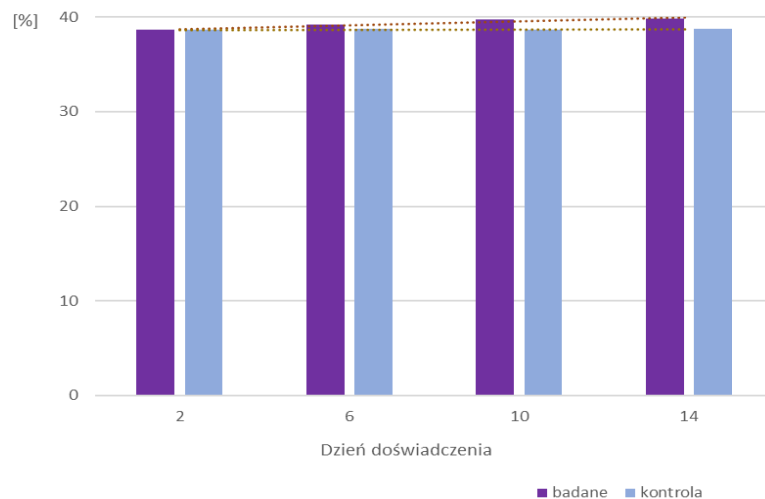


Rys. 23. Wpływ stresu suszy na zmiany w średniej zawartości beta-pinenu w szyszkach odmiany Magnat, w zależności od długości trwania stresu suszy.

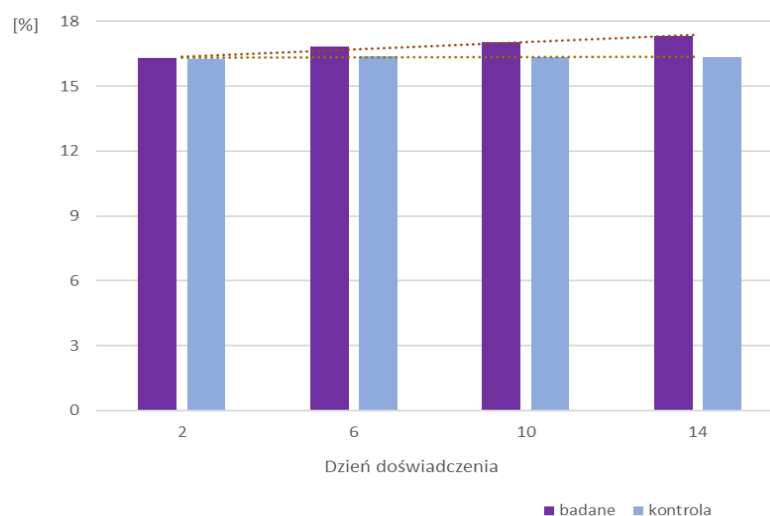
Podobny trend obserwowano w przypadku myrcenu i humulenu. Z każdym dniem doświadczenia, zawartość tych związków rosła odpowiednio od 38,66% i 16,29% w 2 dniu, do 39,86% i 17,34% w 14 dniu. W przypadku roślin kontrolnych zawartość myrcenu i humulenu utrzymywała się na stałym poziomie odpowiednio 38,70% i 16,36% (rys. 24, 25)

W odniesieniu do zawartości kariofilenu wśród roślin badanych i kontrolnych obserwowano niewielki wzrost zawartości tych związków od odpowiednio 7,60% i 7,62% w 2 dniu doświadczenia do 8,14% i 7,83% w 14 dniu (rys. 26).

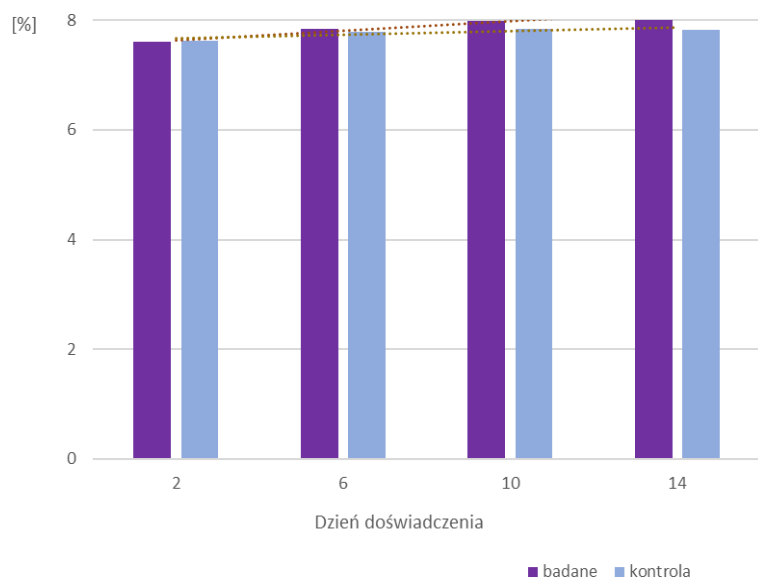




Rys. 24. Wpływ stresu suszy na zmiany w średniej zawartości myrcenu w szyszkach odmiany Magnat, w zależności od długości trwania stresu suszy.



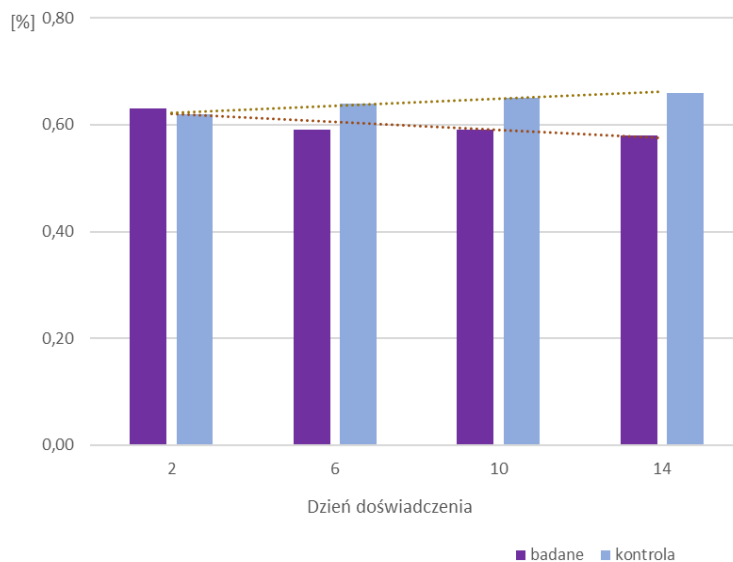
Rys. 25. Wpływ stresu suszy na zmiany w średniej zawartości humulenu w szyszkach odmiany Magnat, w zależności od długości trwania stresu suszy.



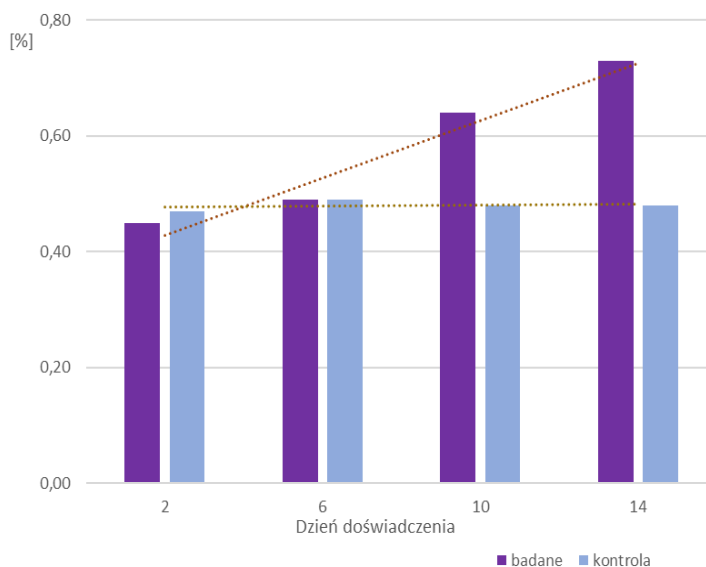
Rys. 26. Wpływ stresu suszy na zmiany w średniej zawartości kariofilenu w szyszkach odmiany Magnat, w zależności od długości trwania stresu suszy.

Zawartość geraniolu u roślin badanych nieznacznie spadała od 0,63% do 0,58%, podczas gdy u roślin nie poddawanych stresowi suszy delikatnie rosła od 0,62% do 0,66% (rys. 27).

W przypadku limonenu widoczny był wyraźny wzrost jego zawartości pomiędzy 2 i 14 dniem doświadczenia – od 0,45% do 0,73%. U roślin kontrolnych nie obserwowano zmian w zawartości tego związku, która wynosiła 0,48% (rys. 28).



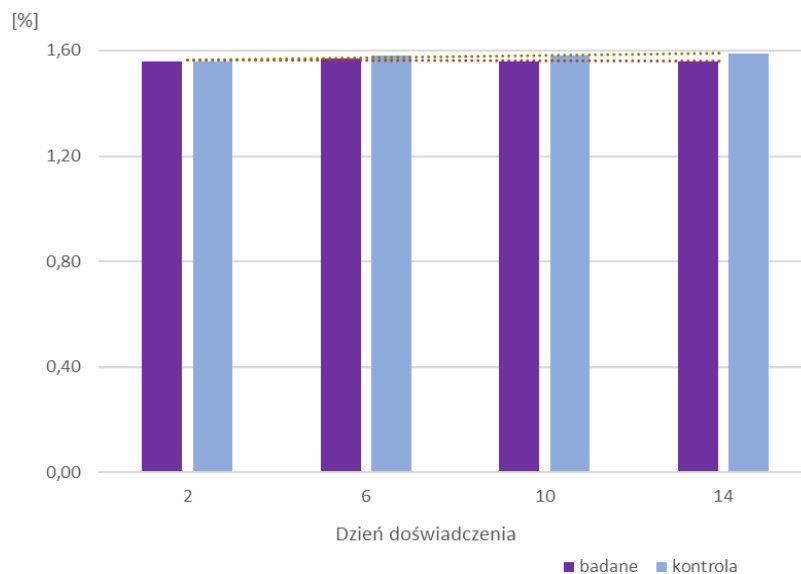
Rys. 27. Wpływ stresu suszy na zmiany w średniej zawartości geraniolu w szyszkach odmiany Magnat, w zależności od długości trwania stresu suszy.



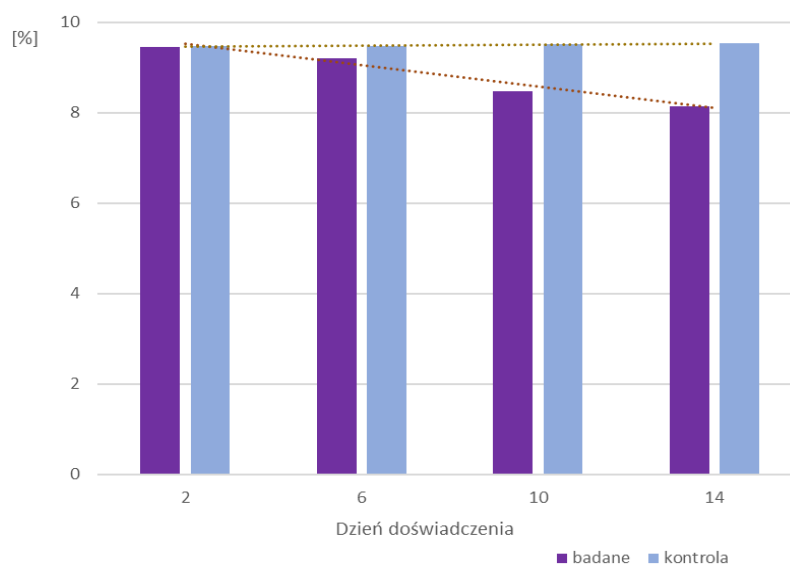
Rys. 28. Wpływ stresu suszy na zmiany w średniej zawartości limonenu w szyszkach odmiany Magnat, w zależności od długości trwania stresu suszy.

W odniesieniu do linaloolu, jego zawartość utrzymywała się na stałym poziomie 1,56% u roślin badanych i 1,58% u roślin kontrolnych (rys. 29).

Zawartość farnenezenu u roślin badanych spadała od 9,46% w 2 dniu do 8,14% w 14 dniu. U roślin kontrolnych obserwowano brak zmian w zawartości tego związku, który utrzymywał się na poziomie 9,5% (rys. 30).



Rys. 29. Wpływ stresu suszy na zmiany w średniej zawartości linaloolu w szyszkach odmiany Magnat, w zależności od długości trwania stresu suszy.



Rys. 30. Wpływ stresu suszy na zmiany w średniej zawartości farnenezenu w szyszkach odmiany Magnat, w zależności od długości trwania stresu suszy.

## Dyskusja

Globalne zmiany klimatyczne obserwowane w ostatnich dziesięcioleciach wskazują na pojawianie się coraz częstszych i dłuższych okresów suszy (Li i in. 2009). Chmiel jest gatunkiem o dość dużych wymaganiach wodnych w porównaniu z innymi uprawami przemysłowymi. U chmielu zapotrzebowanie na wodę kształtuje się na poziomie około 600 – 700 mm rocznie (Evans, 2003; Nakawuka i in. 2017). Około 75-80% całego zapotrzebowania chmielu na wodę przypada na okres od połowy czerwca do sierpnia (Rybaček, 1991). Ograniczony dostęp do wody wpływa negatywnie na przebieg wielu procesów fizjologicznych. Uzyskane wyniki pozwalają stwierdzić, że istnieje zróżnicowanie odmianowe pod względem wrażliwości na stres suszy. Obserwowane w prowadzonych w ramach zadania nr 40 badaniach zahamowanie wzrostu oraz ograniczenia w rozwoju powierzchni liści potwierdzają badania prowadzone przez Mozny i in., 2009. Wykazano w nich że silny stres suszy

powodował redukcję świeżej masy roślin i niższy plon szyszek, w porównaniu do warunków optymalnego nawodnienia.

Kwasy goryczkowe i skład olejków eterycznych chmielu to podstawowe parametry technologiczne wpływające na przydatność surowca dla przemysłu piwowarskiego. W warunkach dobrego nawodnienia nie zaobserwowano istotnych różnic w czasie, w zawartości kwasów goryczkowych u dwóch badanych odmian. U roślin poddawanych stresowi suszy zawartość alfa-kwasów obniżała się u odmiany Perle i rosła u odmiany Magnat. Jednocześnie średnia zawartość alfa-kwasów u odmiany Perle była niższa niż u Magnat. W badaniach prowadzonych w USA wykazano, że wysokie temperatury i stres suszy w okresie wegetacyjnym zmniejszają plon szyszek chmielu (Nakawuka i in., 2017). Inne, trwające 25 lat badania prowadzone w Czechach wykazały pozytywną korelację pomiędzy plonami i nawadnianiem u odmian Saaz, Sladek, Premiant i Agnus. Wykazano w nich także ujemną korelację pomiędzy temperaturą powietrza w lecie, a zawartością alfa-kwasów w odmianach Saaz, Sladek i Premiant, ale nie w odmianie Agnus (Donner i in., 2020). Srećec i in. (2004) stwierdzili podobne zmniejszenie plonów i zawartości alfa-kwasów powodowane suszą w odmianie Aurora w Chorwacji. Nieco odmienne wyniki uzyskał Nakawuka i in. (2017), którzy stwierdzili znaczny spadek plonów przy zmniejszonym nawadnianiu, ale nie stwierdzili oni wpływu na zawartość kwasów goryczkowych w odmianach. Mt Hood, Columbus, Chinook i Willamette.

Zmiany zawartości i składu olejków eterycznych chmielu zachodziły w niewielkim stopniu u odmiany Perle. Nieznacznie spadała zawartość 6 z badanych związków, rosła zawartość linaloolu, a farnenezenu nie ulegała zmianie. W przypadku odmiany Magnat zawartość większości badanych związków eterycznych rosła za wyjątkiem geraniolu i farnenezenu, których zawartość malała oraz linaloolu, którego zawartość nie ulegała zmianom pod wpływem stresu suszy.

W badaniach Eriksen i in. (2021) u odmiany Cascade również obserwowano różnorodną reakcję na stres suszy. W przypadku niektórych olejków eterycznych szczególnie z grupy terpenów obserwowano spadek ich zawartości podczas gdy wśród związków z grupy seskwiterpenów występował wzrost ich zawartości.

#### Literatura:

- Donner P., Pokorny J., Ježek J., Krofta K., Patzak J., Pulkrabek J. 2020. Influence of weather conditions, irrigation and planta age on yield and alpha acid content of Czech hop (*Humulus lupulus* L.) cultivars. *Plant, Soil and Environment*, 66: 41-46
- Evans, R., 2003. Hop management in water-short periods. Washington State University Fact Sheet: EM4816, Drought Advisory. <http://cru.cahe.wsu.edu/CEPublications/em4816/em4816.pdf>
- Li Y.P., Ye W., Wang M., Yan X.D. 2009. Climate change and drought: a risk assessment of crop-yield impacts. *Clim. Res.* 39:31-46.
- Mozny, M., Tolasz, R., Nekovar, J., Sparks, T., Trnka, M., Zalud, Z., 2009. The impact of climate change on the yield and quality of Saaz hops in the Czech Republic. *Agric. For. Meteorol.* 149, 913–919.
- Nakawuka P., Peters T.R., Kenny S., Walsh D. 2017. Effect of deficit irrigation on yield quantity and quality, water productivity and economic returns of four cultivars of hop in the Yakima Valley, Washington State. *Industrial Crop and Products* 98: 82-92
- Rybaček V.(red.), 1991. Hop Production. *Developments in Crop Science* 16. Elsevier, Amsterdam, Oxford, New York, Tokyo.
- Srećec, S., Kvaternjak, I., Kaucic, D., Mariæ, V. 2004. Dynamics of Hop Growth and Accumulation of  $\alpha$ -acids in Normal and Extreme Climatic Conditions. *Agric. Conspec. Sci.* 69, 59–62.

## Wnioski

- W wyniku stresu suszy następuje ograniczenie wysokości i pola powierzchni liści roślin badanych w stosunku do roślin kontrolnych
- W przypadku odmiany Perle w wyniku stresu suszy obniżeniu ulega zawartość alfa-kwasów, a zwiększeniu zawartość beta-kwasów
- U odmiany Magnat w wyniku stresu suszy zawartość alfa- i beta-kwasów ulega zwiększeniu
- U odmiany Perle pod wpływem stresu suszy zawartość beta-pinenu, myrcenu, humulenu, kariofilenu, geraniolu i limonenu ulega niewielkiemu obniżeniu, a zawartość linaloolu wzrósł
- U odmiany Magnat w wyniku stresu suszy zawartość geraniolu i farnezeny ulega niewielkiemu obniżeniu, linaloolu pozostaje bez zmian, a w przypadku pozostałych badanych związków ulega zwiększeniu

Mierniki dla tematu badawczego 1:

Lp.	miernik	wartość miernika podana w opisie zadania	wartość miernika zrealizowana
1	Liczba testowanych genotypów chmielu wykorzystanych w badaniu zmian morfologicznych	2	2
2	Liczba próbek chmielu poddanych analizie chemicznej (2 genotypy x 4 punkty czasowe x 2 (kontrola + badane) x 3 powtórzenia	48	48

## 3.2 Temat badawczy 2

### Cel tematu badawczego 2:

Celem prowadzonych badań było przygotowanie i uzyskanie bibliotek DNA do sekwencjonowania NGS transkryptomu chmielu, uzyskanie sekwencji nukleotydowych bibliotek RNA oraz identyfikacja genów zaangażowanych w odpowiedź rośliny na stres suszy i określenie ich ekspresji

Cel tematu badawczego 2 został osiągnięty.

## Materialy i metody

### Przygotowanie bibliotek do sekwencjonowania

Próbki roślinne zgromadzone w 4 punktach czasowych w temacie badawczym nr 1 pochodzące od 2 genotypów różniących się reakcją na stres suszy zostały poddane homogenizacji, a następnie były poddane izolacji RNA z wykorzystaniem zestawu do izolacji RNA – Qiagen RNeasy Plant Mini Kit. Do przygotowania wysokiej jakości bibliotek do sekwencjonowania została wykorzystana technologia QuantSeq 3'mRNA-Seq (Lexogen). W pierwszym etapie uzyskano cDNA. W tym celu 100 ng wyizolowanego RNA zawieszono w 5 µl wody zmieszano z 5 µl First Strand cDNA Synthesis Mix 1 (FS1). Przepipetowano, zwirowano i mieszaninę denaturowano w 85°C przez 3 min., a następnie schłodzono do 42°C. W międzyczasie przygotowano drugą mieszaninę zawierającą 9,5µl First Strand Sythesis Mix 2 (FS2) i 0,5µl Enzyme Mix (E1), którą przepipetowano, zwirowano i inkubowano w temperaturze 42°C przez 3 min. Do pierwszej mieszaniny dodano 10 µl mieszaniny FS2/E1 i inkubowano w 42°C przez kolejne 15 min. Po zsyntetyzowaniu cDNA usuwano RNA poprzez dodanie do mieszaniny 5µl RNA Removal Solution (RS), inkubację w 95°C przez 10 min i końcowe

schłodzenie do 25°C. W kolejnym kroku konwertowano bibliotekę do dwuniciowej formy (dsDNA). Synteza drugiej nici DNA była inicjowana przez zastosowanie randomowych starterów zawierających na swoich 5'-końcach sekwencję adaptorową kompatybilną z technologią Illumina. W tym celu do wystudzonej mieszaniny dodawano 10µl Second Strand Mix 1 (SS1), inkubowano w 98°C przez 1 min., powoli schładzano do 25°C z szybkością 0,5°C/sek. i inkubowano w 25°C przez 30 min. Po inkubacji dodawano 5µl mieszaniny złożonej z 4 µl Second Strand Synthesis Mix 2 (SS2) i 1 µl Enzyme Mix 2 (E2) i ponownie inkubowano w 25°C przez 15 min. Po przygotowaniu dwuniciowej biblioteki, w celu usunięcia zbędnych składników reakcji poddawano ją oczyszczaniu z wykorzystaniem kulek magnetycznych. W tym celu do biblioteki dodawano 16µl kulek Purification Beads (PB) i inkubowano w temperaturze pokojowej przez 5 min. Następnie próbki umieszczano w statywie magnetycznym na 5 min., supernatant odrzucano, dodawano 40 µl Elution Buffer (EB), próbki wyjmowano ze statywu, przepipetowano do całkowitego rozpuszczenia kulek i inkubowano w temperaturze pokojowej przez 2 min. Dodawano 56 µl Purification Solution (PS) i inkubowano 5 min. w temperaturze pokojowej. Próbki ponownie umieszczano w statywie magnetycznym i inkubowano przez 5 min. Supernatant odrzucano, dodawano 120 µl 80% etanolu i inkubowano przez 30 sek. Supernatant odrzucano, a płukanie etanolem powtarzano łącznie 2-krotnie. Po płukaniu kulki suszono przez 10 min. po czym dodawano 20 µl Elution Buffer (EB), próbki wyjmowano ze statywu i inkubowano przez 2 min. w temperaturze pokojowej. Ponownie próbki umieszczano w statywie magnetycznym i inkubowano 5 min. 17 µl czystego supernatantu przenoszono do nowej próbki. Tak uzyskaną oczyszczoną bibliotekę DNA poddawano indeksowaniu indeksami i7. W tym celu dodawano do niej 8 µl mieszaniny złożonej z 7 µl PCR Mix (PCR) i 1 µl Enzyme Mix (E3) oraz dodawano 5 µl indexów i7. Mieszaninę poddawano 15 cyklom reakcji PCR:

Denaturacja wstępna: 98°C, 30 sek

Denaturacja: 98°C, 10 sek.

Przyłączanie starterów: 65°C, 20 sek.

Elongacja: 72°C, 30 sek ----- 15 cykli

Elongacja końcowa: 72°C, 1 min.

Chłodzenie: 10°C

Końcowym etapem przygotowania biblioteki było jej oczyszczenie ze składników reakcji PCR, które mogłyby utrudniać dokładne określenie stężenia biblioteki. Do mieszaniny poreakcyjnej dodawano 30 µl kulek magnetycznych Purification Beads (PB) i inkubowano 5 min. w temperaturze pokojowej. Próbki umieszczano w statywie magnetycznym, inkubowano 5 min. supernatant odrzucano, dodawano 30 µl Elution Buffer (EB), próbki wyjmowano ze statywu i inkubowano w temperaturze pokojowej przez 2 min. Następnie dodawano 30 µl Purification Solution (PS) i inkubowano 5 min. Próbki umieszczano w statywie magnetycznym na 5 min, supernatant odrzucano, dodawano 120 µl 80% etanolu i inkubowano przez 30 sek. Supernatant odrzucano, a płukanie etanolem powtarzano łącznie 2-krotnie. Po płukaniu kulki suszono przez 10 min. po czym dodawano 20 µl Elution Buffer (EB), próbki wyjmowano ze statywu i inkubowano przez 2 min. w temperaturze pokojowej. Ponownie próbki umieszczano w statywie magnetycznym i inkubowano 5 min. 17 µl czystego supernatantu przenoszono do nowej próbki.

## **Kontrola jakości uzyskanych bibliotek**

Kontrolę jakości uzyskanych bibliotek przeprowadzono metodą elektroforezy kapilarnej na aparacie Bioanalyzer 2100 (Agilent Technologies) z wykorzystaniem chipów High Sensitivity DNA.

## **Sekwencjonowanie**

Sekwencjonowanie DNA przeprowadzono na aparacie MiSeq (Illumina) w trybie single-end z wykorzystaniem odczytników v2 i długością odczytu 150-bp. Metodą fluorymetryczną wyznaczono stężenie bibliotek, po czym ich stężenia zostały znormalizowane, a następnie poddane denaturacji za pomocą roztworu 0,2N NaOH. Tak przygotowane biblioteki rozcieńczono do końcowego stężenia 6 pM i wzbogacono w 5% kontrolę wewnętrzną PhiX.

## **Analiza bioinformatyczna**

Uzyskane pliki FASTQ poddano ocenie jakości uzyskanych sekwencji w programie FastQC, po czym za pomocą programu Trimmomatic usunięto sekwencje adaptorów, poly(A)/poly(T) i sekwencje niskiej jakości lub bardzo krótkie < 20 nukleotydów.

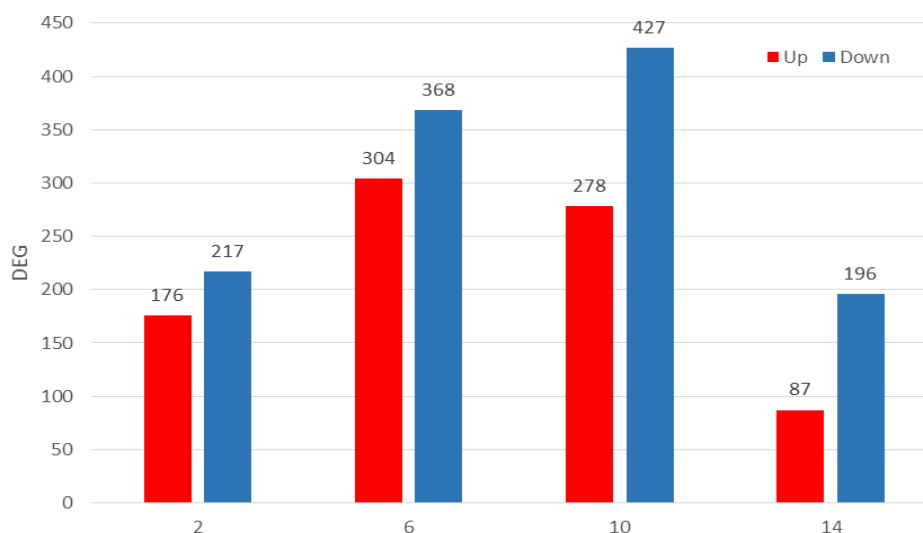
Przefiltrowane i przycięte sekwencje mapowano na genomie referencyjnym przy pomocy programu Bowtie2Mapper oraz Star. Różnicowa analiza ekspresji genów została przeprowadzona przez określenie liczby odczytów jednoznacznie zmapowanych do konkretnego genu i całkowitą liczbę jednoznacznie zmapowanych odczytów w próbce. Różnicowa analiza ekspresji genów została wykonana przy użyciu metody RPKM (Reads Per Kb per Million reads).

Aby porównać geny o zróżnicowanej ekspresji (DEG) między kontrolą i próbkami poddanymi działaniu stresu suszy, obliczono prawdopodobieństwo, że jeden gen  $G$  w dwóch próbkach ma jednakową ekspresję, które można wyrazić wartością  $p$ . Próg wartości  $p$  dla testów wielokrotnych został określony przez FDR (False Discovery Rate).

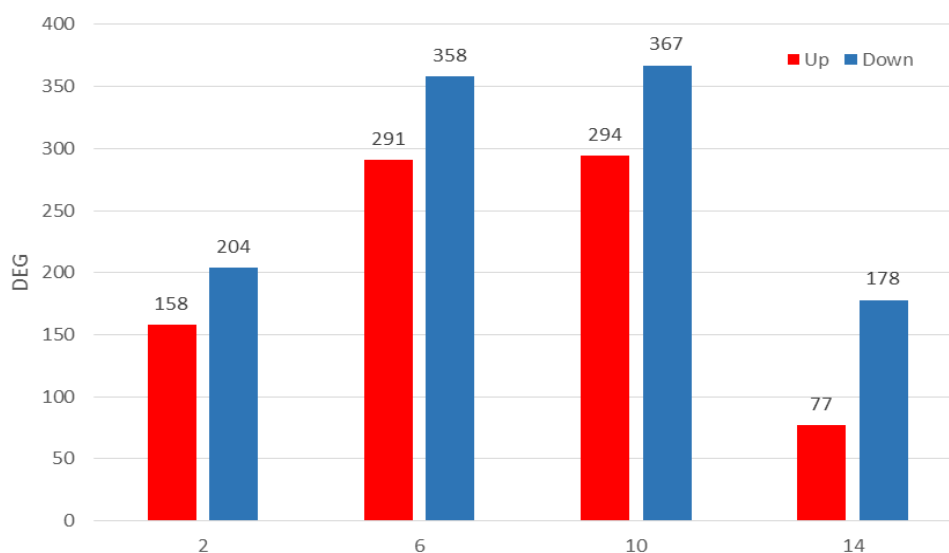
Jako danych wejściowych do oprogramowania DEseq służącego do identyfikacji genów o różnej ekspresji użyto zliczeń sekwencji zmapowanych genów z anotacjami. Oprogramowanie to wykorzystuje ujemny model rozkładu dwumianowego do testowania zróżnicowanej ekspresji genów. Do detekcji DEG przyjęto parametry  $FDR < 0,05$  i  $\log_2\text{-fold-change} > 2$ .

## **Wyniki**

Aby zidentyfikować geny, których ekspresja ulega zmianie pod wpływem stresu suszy, wykorzystano oprogramowanie DEseq. Zidentyfikowano odpowiednio 393, 672, 705 i 283 DEG między porównaniami rośliny badane – rośliny kontrolne dla 4 punktów czasowych w obrębie genotypu Magnat (rys. 31) oraz 362, 649, 661 i 255 DEG między porównaniami rośliny badane – rośliny kontrolne dla 4 punktów czasowych w obrębie genotypu Perle (rys. 32).



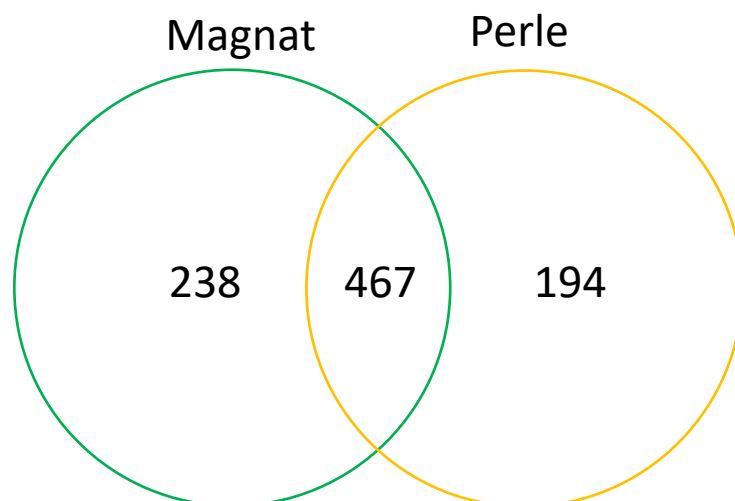
Rys. 31. Analiza zmian w ekspresji genów roślin badanych i kontrolnych w genotypie Magnat. DEG o zwiększonej ekspresji (up-regulated) oznaczono kolorem czerwonym, a o zmniejszonej ekspresji kolorem niebieskim (down-regulated).



Rys.32. Analiza zmian w ekspresji genów roślin badanych i kontrolnych w genotypie Perle. DEG o zwiększonej ekspresji (up-regulated) oznaczono kolorem czerwonym, a o zmniejszonej ekspresji kolorem niebieskim (down-regulated).

W przypadku obydwu genotypów największą liczbę DEG obserwowano w 10 dniu doświadczenia. Nakładające się DEG między dwoma genotypami z 10 dnia doświadczenia pokazano na diagramie Venna (rys. 33). 467 DEG ulegało ekspresji wspólnie w obydwu genotypach podczas gdy 238 i 194 odpowiednio w odmianach Magnat i Perle.





Rys.33. Diagram Venna nakładających się DEG między genotypami Magnat i Perle w 10 dniu stresu suszy.

Analiza anotacji ontologii genów (GO) wykazała, że zarówno geny regulowane w górę, jak i regulowane w dół można podzielić na ponad 40 kategorii. Kategorie te były oparte na dominującej funkcji, takiej jak kataliza, przekazywanie sygnałów, regulacja transkrypcji, regulacja enzymatyczna itp.

Geny o największych różnicach w ekspresji zarówno w górę jak i w dół przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Geny wykazujące największe zmiany w ekspresji genów pod wpływem stresu suszy.

Gene ID	Log2-fold (badane/kontrola)	p-value	Regulacja (badane/kontrola)
Syntaza acetomleczanu (ALS), podjednostka regulatorowa	4,43	8,30E-15	Up
Dehydrogenaza alfa-ketokwasów rozgałęzionych (BCKDH), podkompleks dehydrogenazy 2-oksoizowalerianowej, podjednostka beta	3,27	9,07E-08	Up
Syntaza 1-deoksy-D-ksylulozo-5-fosforanu (DXS)	3,24	3,78E-06	Up
prawdopodobna syntaza seskwiterpenowa	-3,52	8,76E-06	Down
Syntaza walerofenonu (VPS)	-3,76	6,73E-04	Down

## Dyskusja

Podstawowym źródłem zaopatrzenia roślin w wodę są opady atmosferyczne, jednak ich ilość często jest niewystarczająca, a nierównomierne rozłożenie w sezonie wegetacyjnym powoduje okresowe niedobory wody. Zapotrzebowanie roślin chmielu na wodę jest największe w fazie zawiązywania i rozwoju szyszek (Rybaček, 1991; Dwornikiewicz, 1995). Niedostateczne zaopatrzenie roślin w wodę wywołuje reakcję stresową, której rezultatem są zmiany fizjologiczne, biochemiczne i molekularne. Z punktu widzenia rolniczego najważniejszą konsekwencją tych zmian jest obniżenie wielkości i jakości plonu. Z uwagi na to, że istnieje ścisły związek pomiędzy wielkością transpiracji a plonem chmielu (Fandino i in. 2015), poszczególne odmiany chmielu wykazują różną wrażliwość na stres suszy. Duże zróżnicowanie w reakcji na suszę obserwowano również w badaniach prowadzonych w ramach zadania nr 40.

W procesie ewolucji rośliny wykształciły szereg mechanizmów pozwalających na zminimalizowanie skutków działania niedoboru wody. Jednym z nich jest aktywacja

genów warunkujących tolerancję na suszę (Zhou i in. 2017). Badania prowadzone na *Arabidopsis* wykazały, że podczas niedoboru wody aktywowane są dwie grupy genów (Shinozaki i Yamaguchi-Shinozaki 2007). Pierwsza to geny kodujące białka regulatorowe zaangażowane w odbieranie sygnału stresu między innymi AREB1, DREB2, NAC1 i WRKY aktywujące ekspresję innych genów (Munns 2002). Druga grupa genów biorących udział w odpowiedzi roślin na stres niedoboru wody to geny odpowiedzialne za produkcję białek warunkujących redukcję bądź naprawę szkodliwych zmian. Wśród nich można wyróżnić: dehydryny (DHN) i białka opiekuńcze tzw. chaperony (Dziadczyk 2002, Rabbani i in. 2003). W badaniach prowadzonych w ramach realizacji zadania nr 40 już w roku 2021 obserwowano wzrost aktywności genów AREB1, DREB2, NAC1 i WRKY. Już po dwóch dniach doświadczenia stwierdzono wzrost ekspresji badanych genów odpowiedzialnych za odpowiedź na stres suszy.

W badaniach realizowanych w 2023r. analizowano wpływ suszy na zmiany w transkryptomie chmielu. Wykazano, że w odpowiedzi roślin chmielu na stres suszy zaangażowanych jest kilkaset różnych genów należących do ponad 40 kategorii funkcjonalnych. Wśród tych genów istnieją zarówno takie, które zwiększają swoją ekspresję np. gen dehydrogenazy alfa-ketokwasów rozgałęzionych (BCKDH), jak i takie które zmniejszają swoją ekspresję np. prawdopodobna syntaza seskwiterpenowa. Podobne prace prowadzili Eriksen i in. 2021, którzy zidentyfikowali kilkaset genów, z czego 598 w przypadku stresu suszy było regulowanych w górę, a pozostałe w dół. Transkrypty najbardziej regulowane w dół to: domniemane białko rybosomalne 40S, ferredoksyna i kilka czynników transkrypcyjnych. Obniżoną ekspresję obserwowano także w przypadku transkryptów zidentyfikowanych jako syntaza walerofenonu (VPS) zaangażowana w produkcję kwasów goryczkowych oraz syntazy chalkonu i syntazy humulonowej 2. Wśród genów których ekspresja najbardziej rosła pod wpływem stresu suszy obserwowano represor sygnalizacji butenolidowej, dehydryny i peroksydazy. Ponadto odnotowano 7-krotny wzrost ekspresji syntazy seskwiterpenowej zaangażowanej w produkcję olejków eterycznych takich jak linalool i geraniol. Wśród tych genów duża część pokrywała się z genami badanymi w ramach zadania nr 40.

### **Literatura:**

- Dwornikiewicz J. 1995. Nawadnianie chmielu. Instrukcja upowszechnieniowa 54/95. Wyd. IUNG, Puławy
- Dziadczyk P., 2002. Genetyczne uwarunkowanie tolerancji na stresy abiotyczne roślin. Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych 481: 49-60.
- Eriksen R., Padgitt-Cobb L.K., Shaun Townsend M., Henning J.A. 2021. Gene expression for secondary metabolite biosynthesis in hop (*Humulus lupulus* L.) leaf lupulin glands exposed to heat and low-water stress. Scientific Reports; Nature Portfolio 11:5138.
- Fandino M., Olmedo J.L., Martinez E.M., Valladares J., Paredes P., Rey B.J., Mota M., Cancela J.J., Pereira L.S. 2015. Assessing and modelling water use and the partition of evapotranspiration of irrigated hop (*Humulus lupulus*) and relations of transpiration with hops yield and alpha acids. Industrial Crop and Products 77: 204-217
- Munns R., 2002. Comparative physiology of salt and water stress. Plant, Cell & Environment, 25: 239-250.
- Rabbani M.A., Maruyama K., Abe H., Khan M.A., Katsura K., Ito Y., Yoshiwara K., Seki M., Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K., 2003. Monitoring expression profiles of rice (*Oryza sativa* L.) genes under cold, drought and high-salinity stresses, and ABA application using both cDNA microarray and RNA gel blot analyses. Plant Physiology 133: 1755-1767.
- Rybaček V.(red.), 1991. Hop Production. Developments in Crop Science 16. Elsevier, Amsterdam, Oxford, New York, Tokyo.

- Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K., 2007. Gene networks involved in drought stress response and tolerance. *Journal of Experimental Botany* 58(2): 221-227.
- Zhou R., Yu X., Ottosen C.O., Roseqvist E., Zhao L., Wang Y., Yu W., Ahao T., Wu Z., 2017. Drought stress had a predominant effect over heat stress on three tomato cultivars subjected to combined stress. *BMC Plant Biology* 17(24): 1-13.

#### Wnioski

- W odpowiedź roślin chmielu na stres suszy na poziomie molekularnym zaangażowanych jest kilkaset genów
- Geny biorące udział w odpowiedzi na stres suszy mogą być regulowane zarówno w górę jak i w dół

Mierniki dla tematu badawczego 2:

Lp.	miernik <sup>2</sup>	wartość miernika podana w opisie zadania	wartość miernika zrealizowana
2.1	Liczba zanalizowanych bibliotek (2 genotypy x 4 punkty czasowe = 8 bibliotek)	8 bibliotek	8 bibliotek

#### 4. Prezentacja wyników badań

Z uwagi na brak decyzji o finansowaniu zadania na rok 2023r. w okresie rejestracji uczestników na planowany udział w konferencji, odstąpiono od uczestnictwa w Międzynarodowym Kongresie Naukowym CORESTA Centre de Coopération pour les Recherches Scientifiques Relatives au Tabac.

Przewidziane we wniosku, a niewykorzystane środki finansowe zostaną zwrócone na konto bankowe Ministerstwa Rolnictwa i Rozwoju Wsi.

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

<http://chmiel.iung.pl/transhoptab/wyniki.html>

6. Miernik zadania - stopień realizacji

Lp.	miernik	Wartość miernika podana w opisie zadania	Wartość miernika zrealizowana	Stopień realizacji miernika	
1	2	3	4	5	
<b>temat badawczy 1</b>					
1.1	Liczba testowanych genotypów tytoniu wykorzystanych w badaniu zmian morfologicznych	2	2	100%	
1.2	Liczba próbek chmieluu poddanych analizie chemicznej (2 genotypy x 4 punkty czasowe x 2 (kontrola + badane) x 3 powtórzenia	48	48	100%	
<b>temat badawczy 2</b>					
2.1	Liczba zanalizowanych bibliotek (2 genotypy x 4 punkty czasowe = 8 bibliotek)	8 bibliotek	8 bibliotek	100%	
				<b>Średnia</b>	100%
				<b>% realizacji zadania</b>	100%

Sporządzono:

Pieczęć jednostki

Institut Uprawy Nawożenia  
i Gleboznawstwa  
Państwowy Instytut  
Badawczy  
ul. Czartoryskich 8  
24-100 Puławy

Osoba reprezentująca jednostkę

prof. dr hab. Wiesław Aleksander Oleszek

Kierownik zadania

dr Marcin Przybyś

27.11.2023 r.

data

podpis

podpis