



Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu

APVV-18-0465

Využitie progresívnych fenomických prístupov odhaľovania variability fotosyntetickej efektívnosti pre zvýšenie úrody pšenice vo fluktuálnych a stresových podmienkach prostredia

Zodpovedný riešiteľ **prof. Ing. Marian Brestič, CSc.**

Príjemca

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre - Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov, Ústav rastlinných a environmentálnych vied

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

Na výskumných aktivitách súvisiacich s riešením projektu a publikovaných prácach participovali výskumníci z viacerých zahraničných inštitúcií, významný podiel mali najmä spolupracovníci z:

- Poznań University of Life Sciences, Poľsko
- Czech University of Life Sciences, Praha, Česká republika
- University of Ferrara, Taliansko
- University of Pisa, Taliansko
- Bulgarian Academy of Sciences, Sofia, Bulharsko
- Shandong Agricultural University, Tai'an, Čína
- Sichuan Agricultural University, Chengdu, Čína
- Russian Academy of Sciences, Puschino, Rusko
- Azerbaijan Academy of Sciences, Baku, Azerbajdžan
- Devi Ahilya University, Indore, India

Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré sú výsledkami projektu

Najvýznamnejšie publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu – uveďte aj publikácie prijaté do tlače

(Výber 10 najvýznamnejších publikačných výstupov projektu, karentovaných článkov s uvedeným IF a najlepším kvartilom)

1. Chovanček, Erik - Živčák, Marek - Brestič, Marián - Hussain, Sajad - Allachverdijev, Sulejman I. The different patterns of post-heat stress responses in wheat genotypes: the role of the transthylakoid proton gradient in efficient recovery of leaf photosynthetic capacity. In Photosynthesis Research. ISSN 0166-8595, 2021, vol. 150, special iss. 1-3, s. 179-193.
IF: 3,573, Q1
2. Barboričová, Mária - Filaček, Andrej - Mlynáriková Vysoká, Dominika - Gašparovič,

- Kristína - Živčák, Marek - Brestič, Marián. Sensitivity of fast chlorophyll fluorescence parameters to combined heat and drought stress in wheat genotypes. In *Plant, Soil and Environment*. ISSN 1214-1178, 2022, vol. 68, no. 7, s. 309-316. IF: 2,328, Q2
3. Filaček, Andrej - Živčák, Marek - Barboričová, Mária - Misheva, Svetlana - Pereira, Eduardo Gusmão - Yang, Xing Hong - Brestič, Marián. Diversity of responses to nitrogen deficiency in distinct wheat genotypes reveals the role of alternative electron flows in photoprotection. In *Photosynthesis Research*, 2022, vol. 154, iss. 3, s.259-276. IF: 3,573, Q1
4. Botyanszka L., Zivcak M., Chovancek E., Sytar O., Barek V., Hauptvogel P., Halabuk A. and Brestic M.: Chlorophyll fluorescence kinetics may be useful to identify early drought and irrigation effects on photosynthetic apparatus in field-grown wheat. *Agronomy*, 2020, 10, 1275. IF: 3.417, Q1
5. Gašparovič, Kristína - Živčák, Marek - Brestič, Marián - Hauptvogel, Pavol. Diversity of leaf cuticular transpiration and growth traits in field-grown wheat and *Aegilops* genetic resources. In *Agronomy*, 2021, vol. 11, iss. 3, article number 522 [13 s.] (2020). IF: 3.949, Q1
6. Filaček, Andrej - Živčák, Marek - Ferroni, Lorenzo - Barboričová, Mária - Gašparovič, Kristína - YANG, Xinghong - LANDI, Marco - BRESTIČ, Marián. Pre-acclimation to elevated temperature stabilizes the activity of photosystem I in wheat plants exposed to an episode of severe heat stress. In *Plants*, 2022, vol. 11, iss. 5, art. no. 616 [13 s.]. IF: 4,658
7. Ibrahimova, Ulkar - Živčák, Marek - Gašparovič, Kristína - Rastogi, Anshu - Allahverdijev, Sulejman I. - Yang, Xinghong - Brestič, Marián. Electron and proton transport in wheat exposed to salt stress: is the increase of the thylakoid membrane proton conductivity responsible for decreasing the photosynthetic activity in sensitive genotypes? In *Photosynthesis Research*, 2021, vol. 150, iss. 1-3, s. 195-211 IF: 3,573, Q1
8. Colpo, Andrea.; Demaria, S.; Baldisserotto, C.; Pancaldi, Simonetta.; Brestič, Marián; Živčák, Marek.; Ferroni, Lorenzo Long-Term Alleviation of the Functional Phenotype in Chlorophyll-Deficient Wheat and Impact on Productivity: A Semi-Field Phenotyping Experiment. In *Plants* 12, 2023 no. 4: 822. IF: 4,50, Q1
9. Rastogi A., Kovar M., He X., Zivcak M., Kataria S., Kalaji HM., Skalicky M., Ibrahimova UF., Husajn S., Brestic M.: JIP test as a tool to identify salinity tolerance in sweet sorghum genotypes. In *Photosynthetica*, 2020, 58: 333-343. IF: 2,70, Q2
10. Hussain, Sajad - Ulhassan, Zaid - Brestič, Marián - Živčák, Marek - Zhou, Weijun - Allahverdijev, Sulejman I. - Yang, Xinghong - Safdar, Muhammad Ehsan - Yang, Wenyu - Liu, Weiguo. Photosynthesis research under climate change. In *Photosynthesis Research*, 2021, vol. 150: 519. IF: 3,573, Q1

Uplatnenie výsledkov projektu

Projekt sa zamerail na výskum účinkov stresových faktorov na poľnohospodárske plodiny, so špecifickým zameraním na fenotypovanie genetických zdrojov využitím neinváznych techník, ktoré sú významnými témami výskumu v globálnom meradle. Projekt svojimi výsledkami a publikovanými prácami prispel k úrovni poznania v danej oblasti, o čom svedčí aj impakt daný počtom ohlasov, keďže publikované práce s odkazom na projekt boli už počas doby trvania projektu citované viac než 300 krát. Z hľadiska konkrétnych výsledkov, projekt priniesol nové poznatky o účinkoch nepriaznivých faktorov prostredia na úrovni fotosyntetického aparátu a bioindikácii stresov z vysokej teploty, sucha, zasolenia a iných stresov, pričom bol špecificky zameraný na dynamické zmeny faktorov prostredia. Z praktického pohľadu sú výsledky využiteľné pre tvorbu nových kritérií a metodík využitia neninváznych metód využiteľných tak pri hodnotení genetických zdrojov, ich detailnej funkčnej charakterizácii a pasportizácii, ako aj pre skríning genotypov a krížencov v procese šľachtenia plodín. Okrem toho, výsledky predstavujú posun v poznaní mechanizmov účinkov hodnotených stresových faktorov, ako aj regulačných mechanizmov na úrovni fotosyntetických procesov a fotoprotekčných funkcií. Výsledky prác priniesli aj nové otázky a hypotézy, ktoré tvoria dobré východisko ďalšieho základného a aplikovaného výskumu. Okrem publikovaných prác, výsledkom projektu sú aj rozsiahle databázy dát, ktoré sú spracované a pripravené pre ich ďalšie využitie, či už pre tvorbu nových prác z dosiaľ nepublikovaných výsledkov, alebo pre využitie dát v následných analýzach a meta-analýzach. Projekt tak prispeje jednak k lepšiemu využitiu potenciálu diverzity uchovávaných genetických zdrojov rastlín, ako aj k tvorbe nového biologického materiálu –

odrod plodín lepšie prispôsobených pre podmienky meniacej sa klímy. Vzhľadom na význam pšenice ako strategickej plodiny, výsledky projektu môžu, v dlhodobom meradle, prispieť aj k ekonomickým a environmentálnym benefitom presahujúcim lokálnu alebo národnú úroveň.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v slovenskom jazyku (max. 20 riadkov)

Projekt základného výskumu bol zameraný na štúdium mechanizmov tolerancie plodín na environmentálne stresy, predovšetkým na sucho, vysokú teplotu, ale aj ďalšie stresové faktory. Riešenie projektu pozostávalo zo série experimentov, v ktorých boli genetické zdroje pšenice (a ďalších modelových rastlín), hodnotené v podmienkach stresu v poľných, vegetačných nádobových pokusoch, ako aj laboratórnych experimentoch v kontrolovaných podmienkach. V závislosti od parciálnych cieľov experimentov boli hodnotené fotosyntetické, fyziologické a fenotypové prejavy na rôznej úrovni, od primárnych fotosyntetických a fotoprotekčných mechanizmov až po analýzy úrodovných prvkov a produkčných ukazovateľov. Výsledky projektu potvrdili, že genofond pšenice sa vyznačuje značnou diverzitou regulačných a adaptačných mechanizmov vo fotosyntetickom aparáte, a to tak v kolekciiach genotypov pšenice líšiacich sa geografickým pôvodom, ploidiou (2n, 4n, 6n genotypy pšenice) alebo morfotypom (krajové odrody, moderné odrody). Časť experimentov bola realizovaná na špecifických líniiach pšenice nesúcich fotosyntetické mutácie, ktoré umožnili lepšie pochopenie regulačných mechanizmov ochraňujúcich fotosyntetický aparát v podmienkach stresu. Okrem samotnej prítomnosti nepriaznivých faktorov a ich interakcií, sme sa zamerali aj na štúdium dynamiky účinku stresu (cieľ 1), pričom boli aplikované rôzne stresové scenáre, obzvlášť v prípade stresu zo sucha (krátkodobý prehlbujúci sa stres, udržiavaný dlhodobý mierny vodný deficit) a vysokej teploty (simulácia náhlych vln horúčav a postupnej aklimácie na vysokú teplotu). Dôraz bol kladený aj na procesy prebiehajúce počas regenerácie po odznení stresu, ktoré sa ukázali byť veľmi podstatnými, vo vzťahu k rezistencii k stresom. Citlivosť fotosyntetických reakcií bola študovaná na úrovni procesov asimilácie uhlíka (gazometrickými analýzami), ako aj rozsiahlymi analýzami založenými na meraní funkčného stavu fotosyntetických štruktúr metódami fluorescencie chlorofylu a spektrometrie in vivo. Boli identifikované genotypové rozdiely v realizácii fotoprotekčných mechanizmov na úrovni regulácie fotosystému II, fotosystému I aj protónového toku v chloroplastoch (cieľ 2). Boli tiež pozorované priame vzťahy medzi realizáciou fotoprotekčných mechanizmov a schopnosťou obnoviť fotofosyntetickú kapacitu a fotochemickú efektívnosť primárnych fotosyntetických procesov po odznení stresu. V projekte sme sa špecificky zamerali aj na fenotypovanie genetických zdrojov pšenice a to tak využitím automatickej fenotypovacej linky s analýzou RGB, fluorescenčného a hyperspektrálneho zobrazovania, ako aj manuálnych metód umožňujúcich rýchle hodnotenie špecifických fenotypových znakov súvisiacich s fyziologickým stavom alebo reakciami na stres. Boli tak vytvorené cenné databázy fenotypových údajov genotypov v rôznych fenologických fázach a v podmienkach definovaných prítomnosťou stresov, ďalej analyzované v rámci projektu (cieľ 3), ktoré sú prístupné spolu s príslušnými metadátaami pre ďalšie využitie. V projekte boli hodnotené aj biochemické ukazovatele, ako je akumulácia osmoprotektantov (napr. prolín) a ich úlohy v osmotickom prispôbení a ochrane vnútorných štruktúr, ale aj ďalších antioxidačne pôsobiacich látok zo skupiny polyfenolov (antokyány, flavonoidy). Bola sledovaná dynamika týchto látok vo vzťahu k hodnoteným genotypom, intenzite stresových faktorov, fenologickým a časovým dátam, pri rôznych typoch a scenároch pôsobenia stresu (cieľ 4). Databázy znakov a jednotlivých parametrov boli štatisticky vyhodnocované vo vzťahu k základným ukazovateľom rastu, produktivity a fotosyntetickej výkonnosti, čo umožnilo identifikovať rýchle neinvázne metódy a špecifické parametre vhodné ako potenciálne skríningové ukazovatele využiteľné ako fyziologické kritériá pre hodnotenie a popis genetických zdrojov vo vzťahu k ich odolnosti k stresovým faktorom, ako aj pre praktickú aplikáciu v skríningovom procese v šľachtiteľských a biotechnologických programoch zameraných na tvorbu nových odrôd a hybridov plodín (cieľ 5). Získané informácie boli spracované a interpretované v kontexte súčasných poznatkov a boli aplikované špecifické modely pre komplexné hodnotenie limitov fotosyntetických procesov na rôznych organizačných úrovniach, vo vzťahu k dynamike faktorov prostredia, pričom boli identifikované prejavy, ktoré môžeme považovať pre dané stresové scenáre za optimálne

(cieľ 6). Pre doplnenie multidisciplinárneho programu projektu boli realizované aj ďalšie experimenty využívajúce obdobné metodické postupy a nástroje pri iných typoch stresov (zasolenie, UV-B, polutanty) aj iných modelových plodinách. Sumárne, experimenty realizované v rámci projektu priniesli nové poznatky o fyziologických mechanizmoch, využiteľných fyziologických znakoch a fenomických ukazovateľoch potenciálne využiteľných pre zlepšenie produkčnej stability plodín prostredníctvom vysokej efektívnosti fotosyntetickej konverzie energie v podmienkach stresu, čím boli naplnené ciele projektu. Výsledky boli prezentované na vedeckých fórach doma a v zahraničí, a veľká časť získaných dát bola publikovaná formou vedeckých článkov v kvalitných vedeckých časopisoch s dobrým impaktom vo vedeckej komunite. Vzhľadom na šírku výskumného programu a rozsah získaných dát, časť výsledkov je stále v štádiu spracovania a je predpoklad ich publikovania v nasledujúcom období.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v anglickom jazyku (max. 20 riadkov)

The fundamental research project aimed to study the mechanisms of crop tolerance to environmental stresses, especially drought, high temperature, and other stress factors. The project implementation consisted of a series of experiments in which the genetic resources of wheat (and other model plants) were evaluated in stress conditions in the field, vegetation pot trials, and laboratory experiments under controlled conditions. Depending on the partial objectives of the experiments, photosynthetic, physiological and phenotypic responses were evaluated at different levels, starting from primary photosynthetic and photoprotective mechanisms up to analyses of yield elements and indicators of crop productivity. The results of the project demonstrated that the wheat germplasm is characterized by considerable diversity of regulatory and adaptive photosynthetic mechanisms, which was confirmed in collections of wheat genotypes differing in geographical origin, ploidy (2n, 4n, 6n wheat genotypes) or morphotype (regional varieties, modern varieties). Part of the experiments were carried out on specific wheat lines carrying photosynthetic mutations, which enabled a better understanding of the regulatory mechanisms protecting the photosynthetic apparatus under stress conditions. In addition to the presence of adverse factors and their interactions, research was also focused on studying the dynamics of the effect of stress (objective 1). Various stress scenarios were applied, especially in drought stress (progressing short-term water shortage vs. sustained long-term moderate water deficit) and high temperature (simulation of sudden heat waves vs. gradual acclimation to high temperature). Emphasis was also placed on the processes during the regeneration after the cessation of stress, which was very important concerning stress resistance. The sensitivity of photosynthetic reactions was studied at the level of carbon assimilation processes (by gasometric analyses), as well as extensive analyses based on measuring the functional state of photosynthetic structures by chlorophyll fluorescence and spectrometry in vivo. Genotypic differences in the implementation of photoprotection mechanisms at the level of regulation of photosystem II, photosystem I and proton flow in chloroplasts were identified (objective 2). Direct relationships were also observed between the implementation of photoprotective mechanisms and the ability to restore photosynthetic capacity and photochemical efficiency of primary photosynthetic processes after stress relief. The project also specifically focused on the phenotyping of wheat genetic resources, using an automatic phenotyping line with RGB analysis, fluorescence and hyperspectral imaging, and manual methods enabling the rapid assessment of specific phenotypic traits related to physiological status or reactions to stress. Valuable databases of phenotypic data of genotypes in different phenological phases and conditions defined by the presence of stresses were created and analyzed within the project (objective 3), which are accessible with the relevant metadata for further use. Biochemical indicators were also evaluated, such as the accumulation of osmoprotectants (e.g., proline) and their role in osmotic adaptation and protection of internal structures, as well as other antioxidant substances from the group of polyphenols (anthocyanins, flavonoids). The dynamics of these substances were monitored concerning the evaluated genotypes, intensity of stress factors, and phenological and time data, with different types and scenarios of stress action (objective 4). Databases of traits and individual parameters were statistically evaluated in relation to the basic indicators of growth, productivity and photosynthetic performance, which made it possible to identify fast, non-invasive methods and specific parameters suitable as potential screening indicators usable as physiological

criteria for the evaluation and description of resistance of genetic resources to stress factors. Obtained knowledge can be useful for practical application in the screening process in breeding and biotechnological programs aimed at creating new varieties and crop hybrids (objective 5). The information obtained was processed and interpreted in the context of current knowledge, and specific models were applied for a comprehensive assessment of the limits of photosynthetic processes at different organizational levels related to the dynamics of environmental factors. At the same time, the responses that can be considered optimal for the given stress scenarios were identified (objective 6). To contribute to the multidisciplinary program of the project, other experiments were also carried out using similar methodological procedures and tools for other types of stress (salinity, UV-B, pollutants) and alternative model plant species. The experiments carried out within the project brought new knowledge about physiological mechanisms, physiological traits and phenomic indicators potentially useful for improving the production stability of crops through high efficiency of photosynthetic energy conversion under stress conditions, which met the project objectives. The results were presented at scientific fora at home and abroad, and a large part of the obtained data was published as original research papers in high-quality scientific journals with a good impact related scientific community. Due to the width of the research program and the size of the obtained data, some of the results are still being processed and are expected to be published in the next period.