

**URSZULA KŁOSIŃSKA**

**MARZENA NOWAKOWSKA**

**WOJCIECH SZCZECURA**

**KATARZYNA NOWAK**

**WALDEMAR TREDER**

**KRZYSZTOF KLAMKOWSKI**

**KATARZYNA WÓJCIK**

Instytut Ogrodnictwa ul Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice, Polska

Kierownik Tematu: dr Urszula Kłosińska Instytut Ogrodnictwa, Zakład Hodowli Roślin Ogrodniczych,

Pracownia Genetyki i Hodowli Roślin Warzywnych, ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice,

tel. 46 834 66 54, e-mail: urszula.klosinska@inhort.pl

*Prace zostały wykonane w ramach badań podstawowych na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej na podstawie decyzji Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi nr HOR.hn.802.20.2018, Zadanie 104.*

## Analiza genetycznych i biochemicznych podstaw tolerancji cebuli (*Allium cepa* L.) na stres niedoboru wody

**Analysis of genetic and biochemical basis of onion (*Allium cepa* L.) tolerance to water deficit stress**

**Słowa kluczowe:** cebula, deficyt wody, mechanizm dziedziczenia, parametry biochemiczne, tolerancja

### CEL BADAŃ

Celem podjętego tematu jest charakterystyka 300 linii/odmian cebuli pod względem reakcji na niedobór wody w trzech fazach rozwojowych, a następnie wyjaśnienie genetycznych, fizjologiczno-biochemicznych i molekularnych mechanizmów warunkujących tę cechę. Celem badań prowadzonych w roku 2018 była optymalizacja metody wywoływania stresu niedoboru wody w fazie kiełkowania nasion, wzrostu siewek i wiązania cebul oraz ocena reakcji 150 populacji cebuli na stres suszy w różnych fazach wzrostu i rozwoju.

## WYNIKI

Optymalizację metodyki testowania tolerancji cebuli na suszę w fazie kiełkowania nasion oraz w fazie siewek prowadzono w warunkach laboratoryjnych z wykorzystaniem dwóch linii hodowli PlantiCo Zielonki (ZS/8 i ZS/49) oraz odmiany 'Sochaczewska' (PNOS Ożarów Mazowiecki). Stres suszy indukowano poprzez zastosowanie obniżającego potencjał wody poliglikolu etylenowego (PEG) w czterech stężeniach: 0, 10, 15 i 20%. Analizy porównawcze wykazały istotny wpływ wielkości stężenia PEG na siłę i energię kiełkowania nasion badanych obiektów. Wraz ze wzrostem stężenia PEG zdolność kiełkowania nasion malała. Nie obserwowano istotnych różnic w energii i sile kiełkowania pomiędzy 10 a 15% PEG. Natomiast zastosowanie 20% PEG znacznie zahamowało zdolność kiełkowania względem kontroli (redukcja o 50–88%), dlatego też do dalszych badań wytypowano 18% stężenie PEG.

Również w fazie siewek, stwierdzono istotny wpływ traktowania różnymi stężeniami PEG na długość korzeni i liścieni. U wszystkich genotypów cebuli, 20% PEG całkowicie zahamował wzrost korzeni i bardzo silnie ograniczył długość siewek (o 86% względem kontroli). Stosunkowo dużą redukcję długości korzeni oraz liścieni zanotowano również dla 15% PEG (średnia redukcja długości korzeni i liścieni dla linii/odmian — odpowiednio 62 i 58%), przy czym przy zastosowaniu tego stężenia nie obserwowano większych różnic pomiędzy badanymi obiektami. Natomiast zastosowanie 10% PEG w największym stopniu różnicowało badane obiekty, dlatego też stężenie to zostało wytypowane do dalszych badań.

Badania przeprowadzone w warunkach szklarniowych (susza glebowa) wykazały liniową zależność masy cebul w zależności od zastosowanego poziomu nawadniania: 100, 75, 50 i 25% pojemnikowej pojemności wody. Wraz ze wzrostem deficytu wody u badanych obiektów cebuli obserwowano większe straty masy cebul względem kontroli. Średnie dla linii straty masy cebul wynosiły 35, 70 i 87%, odpowiednio dla 75, 50 i 25% pojemnikowej pojemności wody.

W kolejnym etapie badań przetestowano 150 obiektów cebuli pod względem ich tolerancji na stres suszy w fazie kiełkowania nasion, siewek oraz w fazie wiązania cebul według metodyki zoptymalizowanej w wyżej opisanym zadaniu. Stwierdzono duże różnice pomiędzy badanymi liniami/odmianami cebuli pod względem energii i siły kiełkowania nasion w warunkach stresu suszy fizjologicznej (18% PEG). Spośród wszystkich badanych obiektów, najlepszymi parametrami kiełkowania w warunkach stresu wyróżniły się odmiany z firmy 'Polan Kraków': 'Polanowska', 'Wolska' oraz P 15, których nasiona skiełkowały odpowiednio w 80,7, 73,3 i 68,7%. W przypadku odmiany 'Polanowska' zdolność kiełkowania w PEG-u była obniżona tylko o 4,7% w porównaniu do kombinacji kontrolnej. W następnej kolejności należy również wyróżnić odmianę Topolska, u której nie obserwowano różnic w zdolności kiełkowania między 18% PEG a kontrolą. Najbardziej wrażliwe na stres suszy fizjologicznej w fazie kiełkowania okazały się linie: ZS/19, ZS/8, ZS/13, ZS/12, ZS/11, które mimo wysokiej zdolności kiełkowania w warunkach kontrolnych (97–87%) nie skiełkowały w ogóle

w 18% PEG-u. U 45 kolejnych obiektów liczba skielkowanych nasion w PEG-u nie przekroczyła 20%.

Podobnie jak w fazie kiełkowania, również w fazie siewek zaobserwowano zróżnicowaną reakcję badanych obiektów cebuli na stres suszy (10% PEG). Najbardziej tolerancyjne na badany stres okazały się dwie linie: ZS/3 i ZS/39, u których świeża masa była większa o odpowiednio 9 i 3% w porównaniu do kontroli. U czterech kolejnych obiektów: 171344, ZS/4, P 15 i ZS 15 zaobserwowano niewielki wpływ czynnika stresującego na ograniczenie badanej cechy (redukcja o odpowiednio 0,6; 1,6; 4,5; 6,7%). W następnej kolejności należy wymienić 7 obiektów (ZS/41, P 11, Topolska, ZS/37, ZS/35, P 15, ZS/34, ZS/14), u których zastosowanie 10% PEG-u spowodowało ograniczenie świeżej masy siewek o 10,8-16,8%. Natomiast najbardziej wrażliwe na stres były cztery obiekty: 171330, NOE5, 171333 i 171232, których świeża masa siewek była zredukowana względem kontroli o odpowiednio 60,8, 61,4, 61,4 i 64,7%.

Zaobserwowano duże zróżnicowanie pomiędzy liniami pod względem średniej masy cebul niezależnie od zadanego poziomu nawodnienia. Średnia masa cebuli w warunkach optymalnego nawadniania równała się 34,3 g, w suszy — 11,3 g, zaś średni % strat względem kontroli wyniósł 66. Największą średnią masę cebuli (52,1–62,4 g) w warunkach kontrolnych zanotowano dla dziesięciu obiektów, natomiast najmniejszą (16,5–18,5 g) dla sześciu. W warunkach suszy największą masę cebul (17,5–24,4 g) stwierdzono dla 6 genotypów, a najmniejszą wynoszącą poniżej 10 g (od 3,7–9,9 g) odnotowano dla 29 linii/odmian cebuli. U większości linii stres suszy bardzo silnie obniżył masę cebul. U 99 obiektów obserwowano redukcję tej cechy względem kontroli od 50 do 74%, natomiast straty powyżej 75% stwierdzono u 23 genotypów. Redukcję masy cebuli poniżej 50% stwierdzono u 8 genotypów (ZS 21, ZS 29, NOE 17, NOE 35, P 10, P 11, P 12, ‘Wolska’), które stanowią 6% badanej populacji.

#### WNIOSKI

1. Na podstawie uzyskanych wyników z testów w warunkach laboratoryjnych, do dalszych badań nad wpływem stresu suszy fizjologicznej na zdolność kiełkowania i wzrost siewek cebuli, jako czynnik stresujący stosowany będzie 18% PEG (kiełkowanie) i 10% PEG (siewki).
2. Podsumowując wyniki uzyskane w warunkach suszy glebowej stwierdzono, iż najkorzystniejsze dla rozróżnienia genotypów cebuli pod względem reakcji na stres suszy w fazie wiązania cebul będzie zastosowanie w dalszym etapie badań deficytu wodnego na poziomie 50% pojemnikowej pojemności wodnej w odniesieniu do kontroli. Stres o wytypowanym natężeniu istotnie obniżał masę cebul względem kontroli i równocześnie nie powodował trwałego zasychania roślin.
3. Badane obiekty cebuli charakteryzują się poszukiwaną zmiennością pod względem tolerancji na stres suszy w różnych fazach wzrostu i rozwoju wegetatywnego. Dzięki temu stanowią cenny materiał do badań polimorfizmu genomowego cebuli przy wykorzystaniu platformy DArTseq.

4. Wytypowano do dalszych badań linie skrajnie tolerancyjne i wrażliwe na stres niedoboru wody, które posłużą do wygenerowania populacji mieszańcowych ( $F_1$ ,  $F_2$ ,  $BC_1$ ) niezbędnych do określenia czynników genetycznych warunkujących tolerancję cebuli na deficyt wody.