

Zadanie 104

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

W roku 2019 badania prowadzono w ramach dwóch tematów badawczych.

Temat badawczy 1

Ocena reakcji populacji cebuli na stres niedoboru wody w różnych fazach wzrostu i rozwoju w warunkach kontrolowanych

Celem badań była ocena cebuli pod względem tolerancji na stres suszy w fazie kiełkowania nasion, siewek oraz w fazie wiązania cebul. Materiałem roślinnym było 150 linii/odmian pochodzących z polskich i zagranicznych firm hodowlano-nasiennych oraz z Banku Genów Instytutu Ogrodnictwa w Skierniewicach. Badania przeprowadzono w warunkach laboratoryjnych (faza kiełkowania i faza siewek) oraz w warunkach szklarniowych (faza wiązania cebul). Testy szalkowe wykonano według metody zoptymalizowanej w 2018 roku z zastosowaniem poliglikolu etylenowego (PEG) w stężeniu 18% dla fazy kiełkowania nasion oraz 10% dla fazy siewek. Spośród 150 obiektów cebuli badanych w warunkach kontrolnych (0% PEG), 83 charakteryzowało się dobrą zdolnością kiełkowania na poziomie 80-100%. Najslabiej kiełkowały nasiona czterech linii: 171013, ZS 152, ZS 47 i ZS 48, odpowiednio 11, 18, 18 i 26%. U 22 linii nie obserwowano spadku energii kiełkowania nasion po zastosowaniu 18% PEG. Dwanaście z nich (Bonus F1, ZS 110, ZS 130, ZS 132, ZS 136, ZS 147, P 36, 171017, 171018, 171024, 171032 i 171040) charakteryzowało się brakiem istotnych różnic między zdolnością kiełkowania w warunkach kontrolowanych i stresowych, o czym świadczy % skielkowanych nasion w suszy względem kontroli, który wynosi od 95 do 105%. Może to wskazywać na ich wysoki poziom tolerancji na stres suszy, zwłaszcza, że ich zdolność kiełkowania w warunkach kontrolnych była dobra i bardzo dobra i kształtowała się na poziomie 70-100%. Na wyróżnienie zasługuje odmiana Bonus F1, której dynamika kiełkowania zarówno w warunkach kontrolnych, jak i stresowych była największa i wynosiła w siódmej dobie odpowiednio 96 i 60% (dane nieprezentowane). Natomiast u pozostałych dziesięciu obiektów (Bolero F1, ZS 131, ZS 134, ZS 135, ZS 152, ZS 162, 171007, 171013, 171025, 171026) stwierdzono większą energię kiełkowania w stosunku do kontroli średnio od 9 do 40%. Najbardziej wrażliwe na stres suszy fizjologicznej w fazie kiełkowania okazały się cztery linie: ZS 181, ZS 46, ZS 159 i ZS 48, u których % skielkowanych nasion w warunkach deficytu wody wynosił względem kontroli odpowiednio: 7, 8, 13 i 18 %.

W fazie liścieni oceniono parametry charakteryzujące tempo wzrostu siewek, czyli długość korzenia i liścieni oraz świeżą masę. Zaobserwowano, że badane obiekty cebuli były bardzo zróżnicowane pod względem ww. cech zarówno w warunkach kontrolnych, jak i warunkach stresu suszy, o czym świadczą zakresy wartości poszczególnych parametrów. Na podstawie średnich wartości z wszystkich obiektów stwierdzono, że spośród 3 ocenianych wyróżników wzrostu siewek, stres niedoboru wody najmniej redukuje długość korzenia (64% kontroli); natomiast świeża masa i długość liścieni były zahamowane w ponad 50% (odpowiednio 52 i 53,5%, co stanowiło 48 i 46,5% względem kontroli).

Ze względu na zróżnicowaną siłę wzrostu siewek w warunkach kontrolnych, oddzielnie dla każdej linii/odmiany przeprowadzono analizę wpływu 10% PEG na wielkość badanych cech względem kontroli. Pozwoliło to na wytypowanie linii charakteryzujących się skrajną reakcją na stres suszy. U 33 genotypów cebuli zanotowano długość korzenia na poziomie 90-150% w stosunku do kontroli, z czego aż u 21 obiektów długość korzenia w 10% PEG przekroczyła 100% kontroli. Na szczególne wyróżnienie zasługują trzy linie ZS 113, ZS 109 i 171026, których długość korzeni w stresie suszy była wyższa odpowiednio o 50, 42 i 33% względem kontroli, co może wskazywać na ich wysoki poziom tolerancji na badany stres

Spośród wszystkich ocenianych obiektów tylko jedna linia 171017 wyróżniła się wysokim poziomem tolerancji we wszystkich trzech fazach wzrostu. Ponadto obiekty ZS 130, ZS 131, ZS 132, 171007 i 171017 zarówno w fazie kiełkowania, jak i w fazie wiązania cebul wykazały najniższe straty ocenianych parametrów względem kontroli, co może wskazywać na ich wyższy poziom tolerancji na stres suszy.

Temat badawczy 2

Mapowanie asocjacyjne genomu cebuli (GWAS) przy pomocy technologii DArTseq

Cele tematu było kontynuowanie rozpoczętej w 2018 roku oceny polimorfizmu genomowego DNA populacji cebuli o zróżnicowanej odpowiedzi na stres suszy, przy pomocy platformy DArTseq bazującej na sekwencjonowaniu następnej generacji (ang. next-generation sequencing – NGS).

Materiałem badawczym były kolejne 94 linie/odmiany o zróżnicowanej reakcji na stres niedoboru wody oraz wyrównane wewnątrzliniowo pod względem cech morfologicznych cebul. Zostały one wybrane spośród 150 obiektów ocenianych w trakcie realizacji pierwszego tematu na podstawie wyników uzyskanych dla fazy kiełkowania, siewek i wiązania cebul. Materiał roślinny do izolacji DNA pobrany był w fazie rozsady z 10 roślin/populację.

Izolację genomowego DNA wykonano według zmodyfikowanej metody z CTAB. Stężenie oraz jakość uzyskanego DNA określano spektrofotometrycznie i elektroforetycznie na 0,8% żelu agarozowym barwionym bromkiem etydyny. Dla każdej populacji przygotowano próby zbiorcze DNA z 10 roślin, które w trzeciej dekadzie listopada br. wysłano do Diversity Arrays Technology (DArT) Pty Ltd (Australia) celem przeprowadzenia analizy DArTseq (usługa obca).

Genotypowanie 94 populacji cebuli jest obecnie przeprowadzane w oparciu o technologię DArTseq przez Diversity Arrays Technology (DArT) Pty Ltd. Wyniki profilowania DNA w sumie 188 obiektów (94 z 2018r. i 94 z 2019r.), jakie zostaną uzyskane z tych analiz będą opracowywane w roku 2020. W pierwszej kolejności będą analizowane bioinformatycznie celem wygenerowania jak największej liczby markerów, które zostaną wykorzystane do konstrukcji silnie zagęszczonej mapy genetycznej niezbędnej do identyfikacji regionów genomu odpowiedzialnych za tolerancję cebuli na deficyt wody.