

Syntetyczny opis wyników uzyskanych w czwartym roku realizacji projektu

‘Badania nad wpływem brasinosteroidów na tolerancję roślin jęczmienia na stres niedoboru wody’

wykonywanego w ramach programu ‘Postęp biologiczny w produkcji roślinnej’ MRiRW

W latach poprzednich określono reakcję fizjologiczną półkarłowych mutantów brasinosteroidowych (BR) jęczmienia na stres niedoboru wody w fazie siewki, jako etapie rozwoju wpływającym na kondycję roślin. Określono również rolę endogennych BR w regulacji różnych procesów fizjologicznych w trakcie suszy wczesnej oraz wpływ BR na homeostazę innych fitohormonów (Janeczko i in., 2016, *Plant Physiol Biochem*; Gruszka i in., 2016, *Front Plant Sci*). Biorąc pod uwagę, że **wystąpienie deficytu wody w trakcie kłoszenia ma również istotny wpływ na poziom plonu**, określenie reakcji półkarłowych mutantów jęczmienia na stres suszy w tej fazie rozwoju było bardzo istotne.

Celem zadania była ocena wysokości plonowania półkarłowych mutantów BR oraz odmiany referencyjnej ‘Bowman’.

Cel został zrealizowany w ramach dwóch tematów badawczych:

1. Pierwszy z eksperymentów został przeprowadzony w kontrolowanych warunkach doświadczenia wazonowego, w którym **badane genotypy poddano działaniu suszy glebowej w fazie kłoszenia**.
2. Osobne doświadczenie służące ocenie wysokości plonowania półkarłowych mutantów BR i odmiany wyjściowej zostało przeprowadzone w **warunkach polowych**.

Materiał badań stanowiły linie bliskoizogeniczne (*Near-Isogenic Lines*, NILs) wyprowadzone poprzez wielokrotne krzyżowania wsteczne mutantów półkarłowych z odmianą Bowman. Rezultatem takiej procedury było wyprowadzenie linii zawierających ograniczony rejon introgresji (pochodzący z mutantanta) w tle genetycznym odmiany Bowman. Jednolite tło genetyczne tych linii jest wielką zaletą tej kolekcji. Do badań wybrano trzy linie bliskoizogeniczne - BW084, BW091 i BW333, które cechują się zaburzeniami w procesie syntezy BR oraz dwie linie bliskoizogeniczne – BW312 oraz BW885, które charakteryzują się zaburzeniami w procesie szlaku transdukcji sygnału BR (Dockter, Gruszka i in., 2014). Dodatkowo w analizach wykorzystano odmianę referencyjną Bowman (łącznie sześć genotypów). Badania prowadzone w ramach **pierwszego tematu badawczego** z wykorzystaniem wymienionych powyżej genotypów wykonywano niezależnie w dwóch warunkach wzrostu roślin: optymalnego nawodnienia (kontrola) oraz niedoboru wody w fazie kłoszenia. Po osiągnięciu dojrzałości przez obie grupy roślin (podlewane optymalnie i poddane suszy) zostały oznaczone następujące parametry:

- krzewistość ogólna i produkcyjna,
- liczba ziaren na roślinę,
- liczba ziaren na kłos,
- masa ziaren na roślinę,
- masa ziaren na kłos,
- masa tysiąca ziaren.

Pierwszym z analizowanych w tym eksperymencie parametrów była krzewistość ogólna (całkowita liczba źdźbeł, wliczając odrosty wegetatywne) roślin badanych genotypów w warunkach kontrolnych oraz stresu niedoboru wody w fazie kłoszenia. W warunkach kontrolnych najwyższą wartość tego parametru odnotowano w przypadku niewrażliwej na BR linii bliskoizogenicznej BW312 (średnio 10,7; co stanowi ok. 141% wartości odnotowanej u odmiany Bowman) i była ona istotnie wyższa ($P \leq 0.05$) od wartości odnotowanych w przypadku pozostałych genotypów. Analiza wpływu niedoboru wody w fazie kłoszenia pozwoliła na ciekawą obserwację – ten stres spowodował znaczne zwiększenie krzewistości ogólnej u niemal wszystkich analizowanych genotypów (z wyjątkiem linii BW312, u której krzewistość ogólna w warunkach niedoboru wody osiągała wartość podobną do odnotowanej w warunkach kontrolnych). W warunkach stresu suszy większość analizowanych genotypów wykazywała zbliżone wartości krzewistości ogólnej.

Analiza parametru krzewistości produkcyjnej (liczba źdźbeł z kłosami) w warunkach kontrolnych oraz podczas stresu suszy pozwoliła na dokonanie kilku istotnych spostrzeżeń. W warunkach kontrolnych wszystkie analizowane genotypy cechowały się bardzo zbliżonymi wartościami tego parametru, a obserwowane różnice nie były istotne statystycznie. W warunkach niedoboru wody najwyższą wartość krzewistości produkcyjnej wykazywały linie BW312 (średnia wartość 7,75) oraz BW091 (średnia wartość 7,09), przy czym wartość odnotowana w przypadku linii BW312 była statystycznie ($P \leq 0.05$) istotnie wyższa od pozostałych i stanowiła ok. 145% wartości odnotowanej u odmiany Bowman. Co ciekawe, najniższą wartość krzewistości produkcyjnej odnotowano u odmiany Bowman (średnia wartość 5,33).

Kolejnym z analizowanych parametrów plonowania była masa ziaren przypadająca na roślinę. W warunkach kontrolnych badane genotypy wykazywały zmienność w wartości tego parametru. Najwyższe wartości odnotowano w przypadku odmiany Bowman (średnio 2,85 g) i linii BW333 (średnio 2,64 g), przy czym różnica między tymi wartościami nie była istotna statystycznie. W warunkach suszy najwyższą wartość średniej masy ziaren przypadającej na roślinę wykazała linia BW312 (średnio 2,39 g) i była ona statystycznie istotnie ($P \leq 0.05$) wyższa od wartości odnotowanych u pozostałych genotypów. Ten wynik koreluje z obserwowaną krzewistością produkcyjną w warunkach stresu niedoboru wody, która miała najwyższą wartość właśnie w przypadku linii BW312.

Wśród badanych genotypów odnotowano zróżnicowane wartości średniej masy ziaren przypadającej na kłos, przy czym zarówno w warunkach kontrolnych jak i niedoboru wody najwyższe wartości odnotowano u odmiany Bowman.

Ostatnim z parametrów charakteryzujących plonowanie analizowanych genotypów była masa 1000 ziaren. W warunkach kontrolnych większość z analizowanych genotypów wykazywała zbliżone wartości tego parametru. Najwyższą wartość odnotowano w przypadku linii BW312 i była ona istotnie ($P \leq 0.05$) wyższa od wartości tego parametru u innych genotypów. W warunkach suszy u wszystkich analizowanych genotypów odnotowano podobne wartości tego parametru (różnice nie były statystycznie istotne).

Oprócz oceny parametrów plonowania, w celu scharakteryzowania reakcji fizjologicznej badanych genotypów na stres niedoboru wody w fazie kłoszenia przeprowadzono ocenę sprawności fotosystemu II (PSII) poprzez badanie fenomenologicznych przepływów energii w PSII. Pierwszym z analizowanych parametrów był ABS/CSm opisujący energię

przechwytywaną przez anteny fotosyntetyczne. W warunkach kontrolnych wszystkie analizowane genotypy wykazywały bardzo podobne wartości tego parametru, a różnice nie były statystycznie istotne. Jednak w warunkach suszy w stadium kłoszenia analizowane linie bliskoizogeniczne wykazywały znacznie ($P \leq 0.05$) wyższe wartości tego parametru w porównaniu do odmiany Bowman, co więcej u tej odmiany odnotowano najbardziej znaczący, spowodowany przez suszę spadek wartości tego parametru o ok. 22%. Co ciekawe, stres suszy spowodował jedynie nieznaczne zmiany w wartości tego parametru u analizowanych mutantów BR.

Kolejnym badanym parametrem był TRo/CSm, który opisuje energię przekazaną do centrum reakcji fotosystemu. W warunkach kontrolnych wszystkie badane genotypy wykazywały bardzo zbliżone wartości tego parametru, a obserwowane różnice nie były istotne statystycznie. Jednak podobnie jak w przypadku poprzedniego parametru, w warunkach stresu suszy w fazie kłoszenia analizowane linie bliskoizogeniczne wykazywały znacznie ($P \leq 0.05$) wyższe wartości parametru TRo/CSm w porównaniu do odmiany Bowman, co więcej u tej odmiany odnotowano najbardziej znaczący, spowodowany przez suszę spadek wartości tego parametru o ok. 24%. Stres suszy spowodował jedynie nieznaczne zmiany w wartości tego parametru u analizowanych linii bliskoizogenicznych.

Istotnym parametrem służącym ocenie sprawności fotosystemu II jest ETo/CSm, który określa wartość energii przekazanej na łańcuch przenośników elektronów, która jest zużywana do produkcji tzw. siły asymilacyjnej. Analiza tego parametru umożliwiła kilka ciekawych spostrzeżeń. W warunkach kontrolnych wszystkie linie bliskoizogeniczne wykazywały znacząco ($P \leq 0.05$) wyższe wartości tego parametru w porównaniu do odmiany Bowman. Stres suszy spowodował bardzo znaczące obniżenie wartości tego parametru u odmiany Bowman (ok. 40%). U analizowanych linii bliskoizogenicznych w warunkach stresu obniżenie wartości parametru ETo/CSm miało mniejszy zakres, co ciekawe w przypadku dwóch linii niewrażliwych na BR (BW312 i BW885) odnotowano jedynie nieznaczne zmiany w wartościach tego parametru w porównaniu z wartościami odnotowanymi w warunkach kontrolnych.

Niezwykle istotny parametr P.I./ABS obrazuje ogólnie poziom wydajności systemu PSII, a jego analiza doprowadziła do kilku istotnych spostrzeżeń. W warunkach kontrolnych wartość tego parametru była istotnie ($P \leq 0.05$) niższa u odmiany Bowman w porównaniu do reszty badanych genotypów (mutantów biosyntezy lub sygnalizacji BR). Parametry P.I./ABS uzyskane u mutantów stanowiły od 137% do 204% wartości odnotowanej u odmiany Bowman. Stres suszy spowodował znaczne obniżenie wartości tego parametru u badanych genotypów, jednak najniższą wartość ($P \leq 0.05$) odnotowano u odmiany Bowman.

Na podstawie uzyskanych wyników wnioskuje się, że prawdopodobnie półkarłowość oraz mniejsza biomasa mutantów BR sprzyjała mniejszemu zapotrzebowaniu na wodę i lepszej gospodarce wodnej w warunkach suszy, co skutkowało m. in. lepszą wydajnością fotosyntezy w fazie kłoszenia.

W przypadku analiz plonowania w warunkach polowych (**drugi temat badawczy**) wykazano, że po osiągnięciu dojrzałości rośliny badanych linii bliskoizogenicznych prezentowały półkarłowy, erektoidalny pokrój, a średnia wysokość roślin poszczególnych linii

bliskoizogenicznych wynosiła od ok. 62% (w przypadku BW091) do ok. 84% (w przypadku BW333) średniej wysokości roślin odmiany Bowman.

Przeprowadzone analizy wykazały, że podczas wzrostu w warunkach polowych najwyższą wartość krzewistości produkcyjnej (liczba źdźbeł z kłosami) odnotowano u roślin linii BW885 i była to wartość istotnie ($P \leq 0.05$) wyższa od odnotowanych u pozostałych badanych genotypów. Nie odnotowano znaczących różnic w krzewistości produkcyjnej między pozostałymi liniami bliskoizogenicznymi a odmianą Bowman.

Z uwagi na uzyskane wyniki kolejnym analizowanym parametrem była średnia masa ziaren przypadających na roślinę poszczególnych genotypów. W warunkach polowych najwyższe wartości tego parametru uzyskano w przypadku roślin odmiany Bowman oraz wspomnianej powyżej linii BW885 (różnice odnotowane w wartościach tego parametru między odmianą Bowman a linią BW885 nie były istotne statystycznie). Wnioskuje się, że wysoka wartość tego parametru u roślin linii BW885 wynika z opisanej powyżej najwyższej wartości krzewistości produkcyjnej odnotowanej u tej linii.

Kolejnym z analizowanych parametrów była średnia masa ziaren przypadających na kłos poszczególnych genotypów. W warunkach polowych najwyższa wartość tego parametru została odnotowana u odmiany Bowman, a u analizowanych linii bliskoizogenicznych odnotowano zróżnicowane wartości tego parametru. U linii bliskoizogenicznych średnia masa ziaren przypadających na kłos wynosiła od ok. 50% (BW312) do ok. 88% (BW333) wartości odnotowanej u odmiany Bowman. Tak więc uzyskana dla linii BW885 wysoka wartość średniej masy ziaren przypadających na roślinę tego genotypu wynika przede wszystkim z najwyższej wartości krzewistości produkcyjnej, którą odnotowano u roślin tej linii.

Ostatnim z parametrów charakteryzujących plonowanie badanych genotypów była masa 1000 ziaren. W warunkach polowych najwyższe wartości tego parametru odnotowano u odmiany Bowman oraz linii BW312, pozostałe genotypy wykazywały podobne wartości tego parametru, najniższą masę 1000 ziaren odnotowano w przypadku linii BW885.

Dodatkowo w roku 2017 opublikowano wyniki badań dotyczących akumulacji nieenzymatycznych antyoksydantów u badanych genotypów w warunkach kontrolnych oraz stresu niedoboru wody, które były prowadzone w ramach realizowanego projektu MRiRW:

Gruszka D., Janeczko A., Dziurka M., Pocięcha E., Fodor J. 2017. Non-enzymatic antioxidant accumulations in BR-deficient and BR-insensitive barley mutants under control and drought conditions. *Physiologia Plantarum*, DOI: 10.1111/ppl.12674 (artykuł w druku, dostępny w wersji elektronicznej na stronie internetowej czasopisma).