

Zadanie nr 94

Ocena zmienności genetycznej funkcjonalnie męskosterylnych linii pomidora

Kierownik tematu: Mgr Marzena Nowakowska

Celem badań jest poszerzenie zmienności funkcjonalnie męskosterylnych linii pomidora, które będą charakteryzować się wartościowymi cechami jakościowymi oraz odpornością na najważniejsze choroby tego gatunku.

W pierwszej części badań, badano poziom sterylności w obrębie: 17 linii z genem *ps* oraz 4 linii z genem *ps-2*. Doświadczenie przeprowadzono w warunkach szklarniowych, w uprawie bezglebowej na wełnie mineralnej, w cyklu wiosenno-letnim. Sterylność kwiatów poszczególnych linii określono na sześciu kolejnych izolowanych gronach, biorąc pod uwagę liczbę nasion na roślinę. Na podstawie analizowanej cechy stwierdzono duże zróżnicowanie w poziomie sterylności kwiatów pomiędzy badanymi liniami. Uwzględniając średnią liczbę zawiązanych nasion badane linie podzielono na trzy grupy:

I grupa: 6 linii *ps* i 2 linie z *ps-2* o najwyższym stopniu sterylności (0.1 – 0.9 nasion/roślinę),

II grupa: 8 linii *ps* i jedna z *ps-2* o wysokim stopniu sterylności (1.2 – 2.7 nasion/roślinę),

III grupa: 3 linie *ps* i jedna z *ps-2* o najniższym stopniu sterylności (4.0 – 10.3 nasion/roślinę).

Dla określenia stabilności cechy sterylności porównano linie pod względem poziomu zawiązywania nasion w czterech ostatnich latach prowadzenia badań. U większości badanych linii obserwowano dużą zmienność w poziomie sterylności kwiatów w sezonach wegetacyjnych 2008 - 2011. Największą stabilność pod względem tej cechy stwierdzono u dwóch linii *ps-2* oraz dwóch linii *ps*, które nawet w 2010 roku, w którym różnice między liniami były największe (2-50 nasion/roślinę), wykazały niską liczbę zawiązanych nasion (2-8 nasion/roślinę). Biorąc pod uwagę fakt, iż pyłek występujący w pylnikach kwiatów roślin funkcjonalnie męskosterylnych *ps* i *ps-2* jest żywotny, dlatego w zależności od warunków środowiska, u tych genotypów będzie występować większa lub mniejsza tendencja do wykształcania nasion. Ważnym elementem badań jest więc zidentyfikowanie linii nie tylko o największej sterylności, ale też jak najbardziej stabilnych.

W drugiej części badań nad dziedziczeniem cechy męskiej sterylności uwarunkowanej genem *ps* analizą objęto trzy populacje mieszańcowe pokolenia F2 ze skrzyżowań linii sterylnych z płodnymi: W-1.8a x M 4192, W-1.8a x M4155 oraz W-1.5 x M 4157. Doświadczenie przeprowadzono w warunkach bezglebowej uprawy na wełnie mineralnej w cyklu letnio-jesiennym. Gdy rośliny osiągnęły fazę pierwszego kwitającego grona została dokonana ich ocena fenotypowa pod kątem charakterystycznej budowy kwiatu polegającej na zrośnięciu pylników z płatkami korony warunkowanej genem *ps* oraz kwiatów płodnych o typowej budowie dla pomidora. Na czterech kolejnych gronach na każdej roślinie notowano liczbę: 1/ owoców beznasiennych, 2/ owoców z nasionami, 3/ nasion. Wyniki uzyskane dla pokolenia F2 opracowano statystycznie przy użyciu testu χ^2 w celu określenia podobieństwa założeń teoretycznych z danymi empirycznymi. Analizując uzyskane wyniki dla badanych populacji F2 zauważono, że analogicznie jak w roku ubiegłym, wśród roślin z cechą markerową kwiatu *ps* obserwowano zarówno rośliny beznasienne, jak i genotypy z tendencją do wykształcania nasion. Oprócz roślin z cechą *ps* w badanych populacjach F2 pojawiły się również rośliny, które nie posiadały cechy markerowej *ps* i były beznasienne lub wykształcały bardzo mało nasion. Po dokładnej analizie ocenianych cech związanych z budową kwiatu i liczbą nasion, rośliny w obrębie każdej badanej populacji F2 klasyfikowano do następujących grup: 1/ rośliny beznasienne z cechą markerową *ps*, 2/ rośliny beznasienne bez cechy markerowej *ps*, 3/ rośliny z cechą markerową *ps* wykształcające nasiona, 4/ rośliny bez cechy markerowej *ps* z niską liczbą nasion (do 20 szt. z rośliny) oraz wysokim udziałem owoców

partenokarpnych, 5/ rośliny płodne o typowej dla pomidora budowie kwiatu. Podobnie jak w ubiegłym roku stwierdzono obecność rekombinantów w grupie 2 i 4 w pokoleniu F2, co stwarza w dalszym ciągu trudności w interpretacji wyników, co do dziedziczenia cechy *ps*. Analogicznie jak w roku 2010 analizę przeprowadzono osobno dla markerowej cechy *ps* determinującej odmienną budowę kwiatu oraz dla cechy sterility mierzonej liczbą nasion. Przy analizie cechy sterility do roślin sterility zaliczono rośliny z grup 1 - 4, natomiast rośliny z grupy 5 zostały zaklasyfikowane jako typowe rośliny płodne. Dla wyjaśnienia segregacji roślin pokolenia F2 dla obu cech przyjęto teoretyczny stosunek 3 : 1 wynikający z założenia, iż cechy te uwarunkowane są pojedynczym genem recesywnym. Na podstawie oceny roślin pod kątem cechy *ps* we wszystkich badanych populacjach F2 udowodniono hipotezę, że cecha ta uwarunkowana jest pojedynczym genem recesywnym. Pod względem poziomu sterility w poszczególnych pokoleniach F2, analogicznie jak w roku poprzednim, stwierdzono testem χ^2 , że różnice pomiędzy segregacją teoretyczną a empiryczną nie były istotne. Wprawdzie przeprowadzona ponowna analiza genetyczna potwierdziła wyniki z ubiegłego roku co do sposobu dziedziczenia genu *ps*, ale nie wyjaśniła przyczyn występowania sterility rekombinantów o typowej dla pomidora budowie kwiatu (grupy 2, 4). Próby rozmnożenia roślin z grupy 2 nie powiodły się ze względu na niewielkie ilości pyłku lub jego brak. Dla wyjaśnienia przyczyn występowania genotypów z grup 2 i 4 konieczne jest prowadzenie dalszych badań rozpoczynając od skrzyżowania genotypów sterility o różnych cechach fenotypowych kwiatu: 1/ o typowej budowie dla genu *ps* i 2/ typowej budowie dla płodnych kwiatów, a następnie uzyskania pokolenia F2 i wykonania analizy genetycznej. Należy się spodziewać, że wyniki analizy genetycznej pokolenia F1 i F2 odpowiedzą na pytanie jakie jest tło genetyczne warunkujące sterility w obu genotypach. Jednocześnie powinna być przeprowadzona analiza anatomiczno-cytologiczna kwiatów genotypów sterility (grupy 1 - 4) w celu wyjaśnienia procesów zapylenia i zapłodnienia.

W trzeciej części badań materiałem wyjściowym było 25 linii pokolenia F3, które pochodziły z rozmnożenia roślin F2 o najwyższym poziomie sterility mierzonym liczbą zawiązanych nasion. Przed wysadzeniem roślin na miejsce stałe wszystkie wybrane linie oceniono pod względem odporności na wirusa mozaiki tytoniu (ToMV). W fazie pierwszego prawdziwego liścia przeprowadzono inokulację roślin poprzez naniesienie inokulum na liścienie i pierwszy liść. Ocenę zdrowotności badanego materiału roślinnego dokonano 2-3 tygodnie po inokulacji, kiedy podatna linia A100 wykazywała najwyższy stopień porażenia. Rośliny bez widocznych objawów porażenia klasyfikowano jako odporne, natomiast z wyraźnymi objawami mozaiki - jako podatne. Do dalszych badań wytypowano 16 populacji F3, u których wszystkie lub większość roślin były odporne na ToMV. Rośliny tych linii wysadzono na miejsce stałe w szklarni i celem określenia poziomu ich sterility przeprowadzono badania według metody opisanej powyżej. W populacjach F3 przeprowadzono selekcję wybierając do następnych etapów hodowli pojedyncze genotypy charakteryzujące się najwyższym poziomem sterility. Przy wyborze roślin zwracano uwagę również na cechy roślin (pokrój, wigor) oraz budowę i długość gron, preferując rośliny o otwartym pokroju, pojedynczych, zwartych i uporządkowanych gronach. Wyselekcjonowane rośliny poddano następnie ręcznemu samozapyleciu celem ich rozmnożenia, a po zawiązaniu owoców pozyskano z nich nasiona pokolenia F4. Dodatkowo, w laboratorium biometrycznym wykonano pomiary owoców, oznaczając ich średnicę poziomą i pionową, liczbę komórek nasiennych, długość białego rdzenia na przekroju podłużnym oraz twardość owocu.

Badane populacje F3 charakteryzowały się zróżnicowanym poziomem sterility kwiatów. Największe różnice pomiędzy liniami stwierdzono dla liczby zawiązanych nasion. Jedna linia charakteryzowała się całkowitą 100% sterility kwiatów. Natomiast średnia liczba nasion z jednej rośliny u pozostałych linii wahała się od 0.6 do 6.8 sztuk. Udział owoców

partenokarpnych u badanych linii był wysoki, a owoce nasienne nie stanowiły więcej niż 10% wszystkich owoców z jednej rośliny. Niska tendencja do wiązania nasion w obrębie linii o najwyższym poziomie sterylności nie była jednak skorelowana z wysokim udziałem roślin beznasiennych u większości z nich. Badane linie charakteryzowały się również wysoką zmiennością wewnątrzliniową cech morfologicznych roślin i owoców. U linii tych obserwowano segregację pod względem większości ocenianych cech morfologicznych owocu (wielkość, barwa, kształt, twardość). Wytypowane genotypy wykształcały owoce o zróżnicowanym kształcie od okrągłego mniej lub bardziej spłaszczonego do wydłużonego. W puli wyselekcjonowanych roślin stwierdzono również zróżnicowane wybarwienie owocu. Wprawdzie przeważały rośliny z owocami o barwie czerwonej z różną jej intensywnością, ale kilka genotypów wykształcało owoce żółte.