

Zadanie 66. Badania nad opracowaniem molekularnej metody identyfikacji genów warunkujących ważne cechy użytkowe pomidora.

W roku 2016 badania prowadzono w ramach dwóch tematów badawczych:

Temat badawczy 1

Poszukiwanie markerów sprzężonych z genami warunkującymi odporność pomidora na fuzaryjne wędniecie (rasa 1 *Fol*) oraz bakteryjną plamistość (rasa T2 *Xv*).

Celem tematu badawczego było kontynuowanie badań nad identyfikacją markerów sprzężonych z genami warunkującymi odporność pomidora na fuzaryjne wędniecie [*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (*Fol*); rasa 1] oraz bakteryjną plamistość pomidora [*Xanthomonas vesicatoria*; (*Xv*), rasa T2]. W przypadku pierwszej cechy poszukiwano polimorfizm DNA linii odpornej (LA 3475) i podatnej (A 100) na rasę 1 *Fol* za pomocą metody BSA (analiza zbiorczych prób DNA segregantów). W badaniach wykorzystano 40 par starterów specyficznych do sekwencji nukleotydowych zlokalizowanych między markerami TG 523 i TG 7 na krótkim ramieniu chromosomu 11, na którym zmapowano dominujący gen *I* warunkujący odporność pomidora na rasę 1 *Fol*. Pomimo zidentyfikowania trzynastu polimorficznych markerów, tylko w przypadku dwóch, profile próby zbiorczej z genotypów odpornych pokrywały się z profilami linii odpornej LA 3475, a z roślin podatnych z podatną linią A 100. Analiza porównawcza oceny fenotypowej i molekularnej pojedynczych roślin F_2 pochodzącej ze skrzyżowania linii odpornej i podatnej na rasę 1 *Fol*, wykazała jednak brak całkowitego sprzężenia wyróżnionych markerów z genem *I*. Wskazuje to na potrzebę kontynuowania badań nad poszukiwaniem markerów ściślej sprzężonych z genem *I*. Natomiast w badaniach dotyczących opracowania molekularnej detekcji genu/ów determinujących odporność pomidora na rasę T2 *Xv* kontynuowano rozpoczęte w poprzednich latach analizy polimorfizmu w sekwencjach DNA dwóch linii *S. lycopersicum* var. *cerasiformae* PI 114490 (odporna) oraz *S. lycopersicum* A 100 (podatna). Zidentyfikowano 20 markerów polimorficznych SSR, które zostaną wykorzystane do konstrukcji mapy genetycznej na populacji mapującej F_2 niezbędnej do identyfikacji markerów sprzężonych z odpornością linii PI 114490 na *Xv*.

Temat badawczy 2

Poszukiwanie markerów sprzężonych z genami warunkującymi funkcjonalną męskosterylność (*ps-2*, *ps*).

Celem tematu badawczego była: (i) ocena skuteczności opublikowanych do tej pory markerów CAPS (*ps-2*-ABL, C4-30) do selekcji funkcjonalnie męskosterylnych roślin z genem *ps-2* w materiałach hodowlanych o różnym pochodzeniu oraz (ii) poszukiwanie markerów sprzężonych z genem warunkującym funkcjonalną męską sterylności typu *ps*.

Przydatność markerów *ps-2*-ABL oraz C4-30 do identyfikacji genu *ps-2* określano na sześciu liniach *ps-2* o różnym pochodzeniu oraz dwóch populacjach F_2 pochodzących z niezależnych krzyżowań. Przeprowadzone analizy wykazały, iż marker *ps-2*-ABL, który został opracowany na podstawie sekwencji sklonowanego genu *ps-2* może być rutynowo stosowany w diagnostyce molekularnej roślin *ps-2* w przeciwieństwie do markera C4-30, który charakteryzuje się słabym sprzężeniem z genem *ps-2*.

Natomiast w przypadku badań nad identyfikacją markerów DNA sprzężonych z genem *ps* poszukiwano polimorfizm DNA form wyjściowych LA 0063 (*ps/ps*) oraz M 4232 (*Ps/Ps*), przy pomocy 50. markerów zlokalizowanych na chromosomie 2, na którym zmapowano gen *ps*. Polimorfizm DNA form wyjściowych zidentyfikowano dla markera CAPS (T 1535) specyficznego do sekwencji genu kodującego syntazę 3-ketoacylo-CoA (CER6; Fatty acid elongase 3-ketoacyl-CoA synthase). Przeprowadzona analiza produktów restrykcyjnych tego

markera na puli 19 linii męskosterylnych o różnym pochodzeniu, wykazała identyczne profile u 18. z nich. Porównując wyniki oceny fenotypowej i molekularnej pojedynczych roślin F₂ (LA 0063 x M 4232) stwierdzono całkowite sprzężenie markera T 1535 z genem *ps*. Uwzględniając otrzymane wyniki, a także dane literaturowe, z których wynika iż, mutanty *slcer6* wykazują znaczące fenotypowe podobieństwo zarówno pod względem budowy kwiatu, jak i sterylności do mutantów *ps*, przeprowadzono porównawcze analizy ekspresji genu *SICER6* w wybranych liniach *ps* oraz płodnych. Uzyskane wyniki wyraźnie wskazywały na obniżony poziom ekspresji genu *SICER6* u wszystkich linii *ps* w porównaniu do linii płodnych, co może oznaczać iż mutacja *ps* jest tożsama z *slcer6*. Jednak ze względu na jednoroczne wyniki, badania te wymagają weryfikacji.