

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

W roku 2015 w badania prowadzono w ramach trzech tematów badawczych:

### *Temat badawczy 1*

#### **Ocena polimorfizmu DNA form rodzicielskich dla genów odporności na patogeny *Fol* i *Xv* oraz genu *ps-2* (kontynuacja).**

Kontynuowano badania nad poszukiwaniem markerów sprzężonych z genami warunkującymi następujące cechy użytkowe pomidora: odporność na fuzaryjne więdnienie [*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (*Fol*); rasa 1] i bakteryjną plamistość pomidora [*Xanthomonas vesicatoria*; (*Xv*), rasa T2] oraz funkcjonalną męską sterylność *ps-2*. W przypadku *Fol* badano przydatność trzech markerów do identyfikacji genu *I* na populacjach referencyjnych (30 linii odpornych na rasę 1 *Fol* oraz 4 linie podatne). Badania z zastosowaniem dominującego markera At2 potwierdziły obecność locus *I* u 23 z 30 badanych odpornych populacji referencyjnych na rasę 1 *Fol* ( $b=0,48$ ). U pozostałych siedmiu populacji cechujących się obecnością genu *I*, podobnie jak w analizowanych próbach linii podatnych, nie obserwowano żadnego produktu. Najwyższą, jednak niecałkowitą zgodność między oceną biologiczną a molekularną w badaniach własnych, zaobserwowano dla markera C2\_At5g16710 ( $b=0,75$ ). Trzeci marker C2\_At1g79260 okazał się najmniej przydatny dla odróżniania roślin odpornych i podatnych na rasę 1 *Fol* ( $b=0,35$ ). Natomiast w badaniach dotyczących opracowania molekularnej detekcji genu/ów determinujących odporność pomidora na rasę T2 *Xv* analizowano markery zlokalizowane na chromosomie 1 i 11. Jedenaście ze 100. przebadanych do tej pory par starterów, wygenerowało polimorfizm w sekwencjach DNA odpornej linii PI 114490 i podatnej A 100 na *Xv*. Analizy z wykorzystaniem tych markerów na populacjach pomidora odpornych na określone rasy bakterii wykazały, że otrzymane profile u linii PI 114490 wyraźnie odbiegały od profili pozostałych linii ze stwierdzoną przez innych autorów odpornością na rasę T2 *Xv*. W 2015 roku weryfikowano również użyteczność dwóch wcześniej opracowanych markerów (*ps-2*-ABL, C4-30) do identyfikacji genu *ps-2* warunkującego funkcjonalną męską sterylność u pomidora. Na podstawie analizy porównawczej wyników oceny fenotypowej i molekularnej pojedynczych roślin  $F_2$ , wykazano wyższą efektywność markera *ps-2*-ABL ( $b=0,98$ ) w porównaniu z markerem C4-30 ( $b=0,57$ ). Należy jednak zaznaczyć, iż ze względu na trudności w określaniu fenotypu rośliny (wskutek panujących wysokich temperatur, które utrudniały proces samozapylenia i samozapłodnienia kwiatów w b.r.) badania te wymagają dodatkowej weryfikacji przeprowadzonej na populacjach  $F_2$  o różnym pochodzeniu.

### *Temat badawczy 2*

#### **Detekcja markera C2-21 (oraz innych markerów o podobnej funkcji) w liniach *ps* pomidora o różnym tle genetycznym.**

Celem tematu badawczego było sprawdzenie przydatności opracowanego dla genu *ps* markera C2-21 (Staniaszek i in. 2012) na szerokiej puli funkcjonalnie męskosterylnych linii *ps* o różnym pochodzeniu. Potrzeba przeprowadzenia analizy molekularnej wynikała z rozbieżności pomiędzy oceną fenotypową a detekcją markera C2-21 obserwowaną dotychczas w niektórych liniach *ps* o różnym pochodzeniu. Analiza uzyskanych wyników wykazała jego niską informatywność, o czym świadczy brak zgodności oceny fenotypowej (obecność lub brak cechy *ps*) ze statusem loci markera C2-21 u dwunastu z 20. testowanych linii sterylnych. Badania nad identyfikacją markerów charakteryzujących się wyższą informatywnością oraz uniwersalnością, przeprowadzone jak dotąd przy pomocy 59. markerów zlokalizowanych na chromosomie 2 umożliwiły zidentyfikowanie markera T 1535, generującego polimorfizm

DNA pomiędzy męskosterylną linią LA 0063 a linią płodną. Przeprowadzona analiza produktów restrykcyjnych tego markera na puli 12 linii męskosterylnych o różnym pochodzeniu wykazała identyczne profile u 10 z nich.

*Temat badawczy 3*

**Analiza cytologiczno – anatomiczna kwiatów rekombinantów *ps* oraz badania molekularne roślin pokolenia F<sub>2</sub>**

Badania miały na celu morfologiczno–anatomiczną ocenę kwiatów roślin pokolenia F<sub>2</sub>, które otrzymano ze skrzyżowania genotypów sterylnych o różnych cechach fenotypowych kwiatu (bez i z cechą *ps*). We wszystkich sterylnych roślinach pokolenia F<sub>2</sub>, niezależnie od zróżnicowania w budowie kwiatu obserwowano cechy, które pod względem anatomicznym zbliżone były do linii *ps*. Dotyczyły one: zrośnięcia się endoteczjów dwóch sąsiadujących ze sobą komór pylnikowych w części środkowej i dolnej kwiatu, występowania licznych włosków od strony zewnętrznej i wewnętrznej pylnika oraz obecnością kryształów skrobi na zakończeniach endotecjum. U roślin sterylnych obserwowano jednak pewne różnice w części górnej kwiatu; podczas gdy u linii *ps* utrzymywała się struktura dużej komory ściśle ograniczonej zrośniętym endotecjum i włoskami, w części górnej kwiatów roślin F<sub>2</sub> stwierdzono szczeliny w komorach pylnikowych spowodowane pęknięciem zdrewniałego endotecjum, przez które mógł się wydostać pyłek do wnętrza kwiatu. Uzyskane wyniki świadczą o tym, że pojawiające się w pokoleniach segregujących sterylne rekombinanty o kwiatach fenotypowo zbliżonych do kwiatów płodnych mogą być skutkiem zaburzeń w ekspresji cechy *ps*. Ponieważ w dostępnej literaturze przedmiotowej brak jest doniesień w zakresie występowania rekombinantów genu *ps*, jak również cytologiczno-anatomicznych analiz porównawczych, są to więc pierwsze doniesienia na ten temat.