

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

W roku 2017 badania prowadzono w ramach trzech tematów badawczych:

Temat badawczy 1

Poszukiwanie markerów sprzężonych z genami warunkującymi odporność pomidora na bakteryjną plamistość (rasa T2 Xv).

Badania prowadzone w ramach niniejszego tematu miały na celu: (i) określenie mechanizmu dziedziczenia odporności linii *S. lycopersicum* var. *cerasiformae* PI 114490 na Xv, (ii) kontynuowanie rozpoczętych w poprzednich latach analiz polimorfizmu DNA linii spolaryzowanych pod względem odporności na Xv (PI 114490 vs A 100), oraz (iii) identyfikację regionów genomu pomidora związanych z odpornością na Xv. Klasyczna analiza genetyczna wykazała, że rośliny w pokoleniu F₂ segregowały zgodnie z modelem dziedziczenia dwugenowego w stosunku 1R: 10I: 5S, co zostało potwierdzone testem χ^2 . W badaniach nad identyfikacją różnic w sekwencjach DNA form o skrajnej reakcji na porażenie przez Xv wykorzystano 200 par starterów, z których tylko cztery okazały się polimorficzne. Przeprowadzone w następnym etapie badań mapowanie w oparciu o markery różnicujące linie rodzicielskie (39 markerów zidentyfikowanych w poprzednich latach badań oraz 4 markery zidentyfikowane w b.r.) nie pozwoliło jednak na wytypowanie regionów genomu odpowiedzialnych za badaną cechę.

Temat badawczy 2

Poszukiwanie markerów sprzężonych z genem I warunkującym odporność pomidora na fuzaryjne wędniecie (rasa 1 Fol).

Celem drugiego tematu badawczego była identyfikacja markerów sprzężonych z genami warunkującymi odporność pomidora na fuzaryjne wędniecie [*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol); rasa 1] (kontynuacja badań). W b.r. do identyfikacji polimorfizmu DNA linii odpornej (LA 3475) i podatnej (A 100) na rasę 1 Fol wykorzystano 50 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 rasę 1 Fol. Zidentyfikowano 14 polimorficznych markerów, których przydatność weryfikowano następnie za pomocą metody BSA (Bulk Segregant Analysis) na próbach zbiorczych DNA podatnych i odpornych roślin F₂. Jednak dla żadnego z tych markerów nie uzyskano identycznych profili dla prób zbiorczych segregantów oraz linii rodzicielskich.

Temat badawczy 3

Poszukiwanie markerów sprzężonych z genem ps warunkującym funkcjonalną męskosterylność pomidora.

Badania w obrębie trzeciego tematu obejmowały: (i) określenie przydatności markera T 1535, opracowanego na podstawie sekwencji genu kodującego syntazę 3-ketoacylo-CoA (*SICER6*), do selekcji funkcjonalnie męskosterylnych roślin typu *ps* w materiałach hodowlanych o różnym pochodzeniu, (ii) porównawcze analizy ekspresji genu *SICER6* oraz jego homologów w wybranych liniach *ps* oraz płodnych oraz (iii) oznaczanie przepuszczalności kutykuli w owocach pomidorów linii męskosterylnych i płodnych.

Przydatność markera T 1535 do identyfikacji genu *ps* określano z wykorzystaniem 80 roślin z cechą markerową kwiatu *ps*, wyselekcjonowanych z 10 linii hodowli PlantiCo Zielonki oraz populacji F₂ pochodzącej ze skrzyżowania linii W 1.8 (*ps*) i M 4180 (płodna). Brak różnic pomiędzy detekcją markera T 1535 a fenotypem kwiatu u wszystkich 80 roślin *ps* (PlantiCo

Zielonki) oraz wysoka korelacja oceny fenotypowej i molekularnej w populacji F₂, segregującej pod względem cechy *ps*, świadczą o wysokiej wartości diagnostycznej markera T 1535 w identyfikacji genu *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 *SLCER6* (Solyc02g085870.2) oraz jego homologów w wybranych liniach *ps* oraz płodnych. Obniżony poziom ekspresji genu *SLCER6* oraz jednego z jego homologów (Solyc12g049340) we wszystkich analizowanych organach linii męskosterylnych może sugerować istnienie związku między mutacjami *slcer6* oraz *ps*.

Określano również różnice przepuszczalności kutykuli w owocach pomidorów pomiędzy liniami *ps* a płodnymi. Owoce linii *ps* charakteryzowały się znacznie intensywniejszą utratą wody w porównaniu do owoców linii płodnych, niezależnie od etapu rozwoju owoców, na którym dokonywano pomiarów. Wyraźnie zwiększająca się przepuszczalność dla wody w komórkach epidermalnych owoców linii sterylnych w porównaniu do linii płodnych może świadczyć o zmianie właściwości kutykuli w efekcie mutacji *ps*.