

ZBIGNIEW BODZON

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — Państwowy Instytut Badawczy w Radzikowie

Dziedziczenie cechy wiechowatości kwiatostanów lucerny mieszańcowej (*Medicago x varia* T. Martyn)

Inheritance of spontaneous panicle inflorescence mutation in alfalfa (*Medicago x varia* T. Martyn)

Obiektem badań była spontaniczna mutacja lucerny, polegająca na wyrastaniu dodatkowych gron w miejscu kwiatów. Kwiatostan zmutowanych form przybiera kształt wiechy (*pi* — *panicle inflorescence*) złożonej z kilkunastu rozgałęzień, na których wyrastają kwiaty. Liczba kwiatów w wiechach, w porównaniu z gronami, ulega zwielokrotnieniu osiągając liczbę kilkudziesięciu. Wykorzystanie tej cechy w hodowli lucerny stwarza nowe możliwości zwiększenia jej potencjału plonowania nasiennego. Celem badań, wykonanych w latach 2005–2010, było określenie sposobu dziedziczenia cechy wiechowatości kwiatostanów. Ocenę ekspresji tej cechy przeprowadzono w obrębie potomstw S_1 i S_2 , pochodzących z samozapylenia rośliny zmutowanej oraz mieszańców F_1 , F_2 i F_3 , uzyskanych ze skrzyżowania roślin wytwarzających typowe kwiatostany (grona) z roślinami zmutowanymi. Analiza stosunków rozszczepień fenotypowych, przeprowadzona z użyciem testu chi-kwadrat, wykazała, że cecha wiechowatości kwiatostanów lucerny dziedziczy się jednym genem w układzie czterech alleli recesywnych (*pi pi pi pi*).

Słowa kluczowe: cecha recesywna, dziedziczenie, geny recesywne, kwiatostan, lucerna, mutacja spontaniczna, wiechowatość kwiatostanów

The aim of research was to explain mode of inheritance of the lucerne mutation that causes the formation of panicles instead of racemes on stems. Panicles on mutant plants consisted of a lot of branches that caused several fold increase of flower numbers in inflorescences. Application of this character in lucerne breeding creates new opportunities to increase its seed yield potential. The inheritance of this character was studied in S_1 and S_2 progenies obtained by selfing a mutant plant, as well as in F_1 , F_2 and F_3 generations of hybrids obtained by crossing plants that produce racemes with S_2 mutant progenies. The analysis of segregation in the selfed progenies of the mutant plants and in F_1 – F_3 progenies of the hybrids showed that the character of panicle inflorescence is controlled by single gene in the configuration of four recessive alleles *pi pi pi pi* (*pi* — panicle inflorescence)

Key words: alfalfa, inheritance, lucerne, panicle inflorescence, recessive gene, recessive trait, spontaneous mutation

WSTĘP

Lucerna, obok koniczyny czerwonej, ma podstawowe znaczenie w krajowej produkcji rolniczej. Jednym z priorytetowych kierunków hodowli nowych odmian, obok ulepszania parametrów jakościowych, zdrowotności i odporności roślin na czynniki stresowe, jest zwiększenie poziomu plonowania nasiennego. W IHAR — PIB prowadzone są badania nad zwiększeniem produktywności nasiennej lucerny poprzez wykorzystanie genów warunkujących cechy determinujące tworzenie nasion oraz nad poszerzeniem zakresu zmienności poprzez wykorzystanie, poza zmiennością rekombinacyjną, także mutacji.

Obiektem badań była spontaniczna mutacja kwiatostanów, polegająca na wyrastaniu dodatkowych gron w miejscu kwiatów, wyodrębniona w badaniach własnych (rys. 1). Kwiatostan zmutowanych form przybiera kształt wiechy złożonej z kilkunastu rozgałęzień, na których wyrastają kwiaty, dlatego też cechę tę nazwano *wiechowatością kwiatostanów* (*panicle inflorescence* — *pi*). Liczba kwiatów w wiechach, w porównaniu z gronami, ulega wielokrotnieniu osiągając liczbę kilkudziesięciu. Występowanie różnych form rozgałęzienia gron lucerny opisali Dudley i Wilsie (1956, 1957), Childers (1966) oraz Mariani i in. (1976), jednak dotychczasowe badania tej mutacji nie doprowadziły do uzyskania formy przydatnej w hodowli. Wykorzystanie tej cechy w hodowli lucerny stworzyłoby nowe możliwości zwiększenia jej potencjału plonowania nasiennego. W programach hodowli lucerny najbardziej przydatne są cechy warunkowane przez pojedyncze geny dziedziczące się w sposób prosty (Hill i in., 1988; Rumbaugh i in., 1988; Staszewski i in., 1989, 1992; Staszewski i Bodzon, 2002; Bodzon, 2007). Z tego względu celem przeprowadzonych badań było określenie sposobu dziedziczenia cechy wiechowatości kwiatostanów lucerny.

MATERIAŁ ROŚLINNY I METODY BADAŃ

Materiał do badań stanowiły:

- linie wsobne S_1 i S_2 mutantu *pi*. Spontaniczna mutacja *pi* została wyodrębniona w pokoleniu F_2 mieszańców uzyskanych ze skrzyżowania roślin polskiej odmiany Radius i francuskiej Baralix,
- rośliny odmiany Radius, które użyto jako formy mateczne w krzyżowaniach z liniami S_2 mutantu *pi*.

Badania genetyczne przeprowadzono w latach 2005–2010.

Analizę sposobu dziedziczenia cechy wiechowatości kwiatostanów przeprowadzono na roślinach potomstw S_1 i S_2 , pochodzących z samozapylenia mutantu oraz pokolenia F_1 , F_2 i F_3 uzyskanych ze skrzyżowania roślin odmiany Radius, wytwarzających typowe kwiatostany (grona) z roślinami zmutowanymi. Samozapylenia i krzyżowania wykonano ręcznie w szklarni. Rośliny wysadzone pojedynczo w wazonach o pojemności 8 l, doświetlano w fazie kwitnienia, zawiązywania i dojrzewania strąków lampami sodowymi, utrzymując temperaturę na poziomie 24–26°C w dzień i 13–15°C w nocy, przy wilgotności względnej powietrza ok. 75%. Uzyskane nasiona posłużyły do przygotowania rozsąd z których założono doświadczenia polowe. Rozsadę przygotowywano w szklarni, w

doniczkach torfowych o pojemności 0,2 l, napełnionych substratem torfowym, do których wysiewano pojedynczo nasiona. Sześciotygodniowe rośliny sadzono na poletkach stosując szeroką rozstawę rzędów, wynoszącą 0,7 m i obsadę 8 roślin na m², zapewniając tym samym dobre warunki do maksymalnego wzrostu i rozwoju poszczególnym roślinom. Doświadczenia założono w Radzikowie na glebie bielcowej wytworzonej z glin zwałowych, zaliczanej do III klasy bonitacyjnej. Obserwacje ekspresji cechy wiechowatości przeprowadzono w doświadczeniach w jednym powtórzeniu, w pierwszym roku wegetacji, oceniając rośliny w fazie pełnego kwitnienia.

WYNIKI BADAŃ I DYSKUSJA

Obserwacje ekspresji cechy wiechowatości przeprowadzone w obrębie potomstwa S₁, uzyskanego z samozapylenia mutantu *pi*, wykazały że wszystkie rośliny wytwarzały kwiatostany wiechowate (tab. 1). Spośród 263 przebadanych roślin pokolenia S₂, otrzymanego również poprzez samozapylenie roślin S₁, tylko jedna roślina nie tworzyła wiech. Analiza z zastosowaniem testu chi-kwadrat wykazała, że stwierdzone odchylenie jest nieistotne i mogło być spowodowane błędem przypadkowym.

Tabela 1

Segregacja cechy wiechowatości kwiatostanów (*pi*)
Panicle inflorescence (*pi*) segregation

Wariant krzyżowania Crossing variant	Obserwowane fenotypy Observed phenotypes		Przewidywany stosunek genotypów Theoretical ratio of genotypes		Chi- kwadrat Chi- square	
	<i>pi</i>	<i>Pi</i>	<i>pi</i>	<i>Pi</i>	wartość value	p
Mutant <i>pi</i> - samozapylenie (selfed) → S ₁	98	0	98	0	0	1
S ₁ - samozapylenie (selfed) → S ₂	262	1	263	0	0,004	0,95
Radius (<i>Pi</i>) x S ₂ → F ₁	6	1193	0	1199	0,030	0,86
F ₁ (<i>pi</i>) - samozapylenie (selfed) → F ₂	31	1166	33,25	1163,75	0,157	0,69
F ₂ (<i>pi</i>) x F ₂ (<i>pi</i>) → F ₃	1094	6	1100	0	0,033	0,85

Ocenię poddano także mieszańce uzyskane ze skrzyżowania roślin odmiany Radius, wytwarzających typowe kwiatostany (grona), z roślinami tworzącymi wiechy, wybranymi z potomstwa S₂ mutantu. Ogółem opisano 1199 roślin pokolenia F₁ stwierdzając, że pod względem typu kwiatostanu nie różniły się one od odmiany Radius. Wyjątek stanowiło sześć roślin z gronami w niewielkim stopniu rozgałęzionymi, jednak test chi-kwadrat potwierdził wysokie prawdopodobieństwo zgodności uzyskanego rozkładu tej cechy z rozkładem przewidywanym (p = 0,86), a zatem pojawienie się w badanej populacji sześciu roślin tworzących wiechy mogło być spowodowane czynnikami przypadkowymi.

Obserwacje ekspresji wiechowatości kwiatostanów mieszańców pokolenia F_2 wykazały znaczne zróżnicowanie roślin pod względem tej cechy. Wśród 1197 ocenionych roślin wyodrębniono 31 wytwarzających kwiatostany rozgałęzione. Obserwowane stosunki rozszczepień fenotypów były zgodne z rozkładem teoretycznym wynoszącym 1 : 35 ($p = 0,69$).

Badaniami objęto także potomstwa F_3 , pochodzące z krzyżowań siostrzanych roślin tworzących wiechy, wybranych w pokoleniu F_2 . W analizowanym materiale roślinnym wyodrębniono jedynie 6 roślin wytwarzających grona, co stanowiło zaledwie 0,5% całej przebadanej populacji. Pozostałe rośliny tworzyły kwiatostany wiechowate. Analiza statystyczna potwierdziła wysoką zgodność uzyskanego rozkładu z rozkładem teoretycznym.

Stosunki rozszczepień, obserwowane w potomstwach S_1 i S_2 rośliny zmutowanej dowodzą, że rośliny wytwarzające wiechy są homozygotyczne pod względem tej cechy.

Mieszańce F_1 , otrzymane w wyniku skrzyżowania roślin odmiany Radius z homozygotycznymi roślinami zmutowanymi, odtwarzały fenotyp z gronami, a zatem analizowana cecha ma charakter recesywny.

Rozszczepienia cech obserwowane w grupie mieszańców F_2 , otrzymanych w drodze samozapylenia roślin F_1 , były charakterystyczne dla genotypów *duplex* rozpatrywanych w jednym *locus*, co świadczy o monogenicznym uwarunkowaniu tej cechy.

Brak dalszych rozszczepień w pokoleniu mieszańców F_3 potwierdza, że cecha wiechowatości kwiatostanów dziedziczy się jednym genem w układzie czterech recesywnych alleli (*pipipipi*). Prosty sposób dziedziczenia tej cechy umożliwia wykorzystanie jej w hodowli form o zwiększonym potencjale plonowania nasiennego.

Gałęzistość gron badali m.in. Dudley i Wilsie (1956, 1957), stwierdzając, że cecha ta warunkowana jest czterema dominującymi genami, z których dwa dziedziczą się niezależnie w sposób tetrasomiczny, a dwa pozostałe, określone jako geny zduplikowane, disomiczny. Skomplikowany sposób dziedziczenia był przyczyną zaniechania przez nich prac nad tą cechą. Podobną mutację opisali Childers (1966) i Mariani i in. (1976), wykazując, że rozgałęzienie gron warunkowane jest jednym genem w układzie czterech alleli recesywnych. Wyniki badań uzyskane w niniejszej pracy potwierdzają wnioski tych autorów. Rozgałęzieniu gron opisywanemu przez w/w autorów, towarzyszył jednak niepełny rozwój i zniekształcenie kwiatów, uniemożliwiające praktyczne wykorzystanie tej cechy w hodowli. Rośliny zmutowane, będące obiektem badań prezentowanych w niniejszej pracy, wykształcały w pełni rozwinięte i nie zdeformowane kwiaty (rys. 1), stwarzając tym samym możliwość wykorzystania cechy wiechowatości w hodowli lucerny.

Dotychczas opisano szereg genów, głównie recesywnych, warunkujących cechy morfologiczne lucerny. Na uwagę zasługują badania prowadzone przez Barnes (1966), który opisał geny warunkujące różne zabarwienie płatków korony kwiatowej. Cechami warunkowanymi pojedynczymi genami są także: karłowatość roślin (Talbert i Bingham, 1990), jasnozielona barwa liścieni (Childers i McLennan, 1961), żółta barwa liści, poprzeczna pasiastość liści (tzw. zebrowatość liści) (Childers, 1962; Stanford, 1956), złożenie liści wzdłuż nerwu (Stanford i Cleveland, 1954), zwijanie się blaszek liściowych (Odland i Lepper, 1939), plamistość liści (Azizi i Barnes, 1977), postrzępienie liści

(Baenziger, 1977), występowanie wąskich blaszek liściowych (Brick i in., 1984). Przewiedzone badania dowiodły, że również cechy związane z budową tkanek mechanicznych korzeni oraz zdolność do regeneracji, występująca w przypadku mechanicznych uszkodzeń tkanek łodygi, dziedziczone są przez pojedyncze geny (Brick i Barnes, 1981, 1982; Elgin i in., 1971).



Rys. 1. Mutacja wiechowatości kwiatostanów lucerny

Fig. 1. The panicle inflorescence mutation of alfalfa

Opisane wyżej cechy nie zostały jednak dotychczas wykorzystane w hodowli lucerny. Interesującą mutacją, która znalazła takie wykorzystanie, jest cecha długiej osadki kwiatostanowej. Zmutowana forma lucerny, opisana przez Staszewskiego (1986), odznaczała się ok. dwukrotnie dłuższymi osadkami kwiatostanowymi i ok. dwukrotnie

większą liczbą kwiatów w kwiatostanach w porównaniu z roślinami wzorcowymi o typowych, krótkich gronach. Cecha ta, dziedzicząca się jednym recesywnym genem (Bodzon, 1998), została wykorzystana do utworzenia nowej polskiej odmiany lucerny, charakteryzującej się wyższym poziomem plonowania nasiennego w porównaniu z wzorcami (Staszewski i Bodzon, 2002), którą zarejestrowano na liście odmian COBORU w 2004 roku pod nazwą Ulstar.

WNIOSKI

1. Cecha wiechowatości kwiatostanów lucerny ma charakter dziedziczny i warunkowana jest jednym genem w układzie czterech alleli recesywnych.
2. Prosty sposób dziedziczenia tej cechy stwarza możliwość wykorzystanie jej w hodowli form o zwiększonym potencjale plonowania nasiennego.

LITERATURA

- Azizi M. R., Barnes D. K. 1977. Characterization and inheritance of a spotted leaf trait in alfalfa. *Crop Sci.* 17: 126 — 132.
- Baenziger H. 1977. Inheritance of the torn — leaf mutation in alfalfa. *Can. J. Plant Sci.* 57: 47 — 50.
- Barnes D. K. 1966. Flower colour inheritance in diploid and tetraploid alfalfa: a reevaluation. *Tech. Bull. No. 1353. Agricultural Research Service USDA.*
- Bodzon Z. 1998. Inheritance of spontaneous long peduncle mutation in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Pant Breed. Seed Sci.* 42/1: 3 — 9.
- Bodzon Z. 2007. Wykorzystanie mutacji genowych do ulepszania produktywności nasiennej lucerny (*Medicago sativa* L.). *Biul. IHAR* 244: 239 — 248.
- Brick M. A., Barnes D. K. 1981. Inheritance and anatomy of a lobed-cambium trait in alfalfa roots. *J. Hered.* 72: 419 — 422.
- Brick M. A., Barnes D. K. 1982. Inheritance and anatomy of root bark area in alfalfa. *Crop Sci.* 22: 747 — 752.
- Brick M. A., Barnes D. K., Dobrenz A. K. 1984. Inheritance and anatomy of a narrow leaflet trait in alfalfa. *Crop Sci.* 24: 787 — 790.
- Childers W. R. 1962. The nature and inheritance of a yellow-leaf character in *Medicago sativa* L. *Can. J. Bot.* 40: 89 — 93.
- Childers W. R. 1966. Branched raceme in alfalfa. *Cand. J. Plant Sci.* 45: 99 — 104.
- Childers W. R., McLennan H. A. 1961. The inheritance and histology of a chlorophyll deficient character in *Medicago sativa* L. *Can. J. Bot.* 39: 847 — 853.
- Dudley J. W., Wilsie C. P. 1956. Inheritance of branched inflorescence and vestigial flower in alfalfa, *Medicago sativa* L. *Agron J.* 48: 47 — 50.
- Dudley J. W., Wilsie C. P. 1957. Inheritance of branched raceme and vestigial flower in alfalfa. *Agron. J.* 49: 320 — 323.
- Elgin J. H., Barnes D. K., Kreitlow K. W. 1971. Description and inheritance of a tumor trait on stem cuttings of alfalfa. *J. Hered.* 62: 189 — 192.
- Hill R. R. jr., Shenk J. S., Barnes R. F. 1988. Breeding for yield and quality. In: *Alfalfa and alfalfa improvement.* Hanson A. A., Barnes D. K., Hill R. R. jr. (eds.), Monograph. 29 Am. Soc. Agron.: 809 — 825.
- Mariani A., Ceccarelli S., Lorenzzi F. 1976. Inheritance of spontaneous "cauliflower" mutant in *Medicago sativa* L. *Z. Pflanzenzuchtg.* 77: 16 — 22.
- Odland T. E., Lepper R. 1939. A crinkled leaf mutation in alfalfa. *J. Am. Soc. Agron.* 31: 128 — 130.
- Rambauhg M. D., Caddel J. L., Rowe D. E. 1988. Breeding and quantitative genetics. In: *Alfalfa and alfalfa improvement.* Hanson A. A., Barnes D. K., Hill R. R. jr. (eds.), Monograph. 29 Am. Soc. Agron.: 777 — 808.

- Stanford E. H. 1956. The zebra leaf character in alfalfa and its dosage-dominance relationship. *Agron. J.* 51: 274 — 277.
- Stanford E. H., Cleveland R. W. 1954. The inheritance of two leaf abnormalities in alfalfa. *Agron. J.* 48: 203 — 206 .
- Staszewski Z. 1986. Long peduncle *lp* mutation — a promise for seed yield improvement of alfalfa. Rep. of the XXXth North American Alfalfa Improvement Conference. University of Minnesota: 75
- Staszewski Z., Bodzon Z. 2002. Przydatność genu *lp* do zwiększenia plonowania nasiennego lucerny siewnej (*Medicago sativa* L.). *Biul. IHAR* 221: 167 — 173.
- Staszewski Z., Jagodziński J., Bodzon Z. 1989. Ocena przydatności w hodowli mutacji *lp* lucerny o długiej szypułce kwiatostanu. *Biul. IHAR* 171/172: 297 — 301.
- Staszewski Z., Staszewski L., Osiński R. 1992. Top flowering — spontaneous mutation of *Medicago sativa* L. The future of lucerne. Proc. of the Xth Eucarpia Meeting of the Group Medicago. Lodi.: 392 — 395.
- Talbert L., Bingham E. T. 1990. Tetrasomic inheritance of an irregular dwarf trait in tetraploid alfalfa. *J. Hered.* 81: 397 — 399.