

**ZBIGNIEW BODZON**

Zakład Traw, Roślin Motylkowatych i Energetycznych

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — Państwowy Instytut Badawczy w Radzikowie

## Dziedziczenie cechy zdeterminowanego wzrostu lucerny siewnej (*Medicago sativa* L.)

### Inheritance of determinate growth habit in alfalfa (*Medicago sativa* L.)

Obiektem badań była spontaniczna mutacja lucerny polegająca na wytwarzaniu kwiatostanów na wierzchołkach pędów form z długim gronem, prowadzącym w konsekwencji do zakończenia dalszego wzrostu roślin. Celem przeprowadzonych badań było określenie sposobu dziedziczenia cechy zdeterminowanego wzrostu. 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 o typowym, niezdzeterminowanym pokroju z roślinami zmutowanymi. Analiza stosunków rozszczepień fenotypowych, przeprowadzona z użyciem testu chi-kwadrat wykazała, że cecha zdeterminowanego wzrostu lucerny warunkowana jest jednym genem w układzie czterech alleli recesywnych (*ti ti ti ti*).

**Słowa kluczowe:** cecha recesywna, cecha zdeterminowanego wzrostu, dziedziczenie, kwiatostan wierzchołkowy, lucerna, mutacja spontaniczna

The aim of research was to explain mode of inheritance of the alfalfa spontaneous mutation that causes the formation of inflorescence on the stem top of the forms with long racemes, thus leading to termination of the plant growth. 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 indeterminate plants 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 determinate growth character is controlled by a single gene in the configuration of four recessive alleles *ti ti ti ti* (*ti* — top inflorescence).

**Key words:** alfalfa, determinate growth, inheritance, lucerne, recessive trait, spontaneous mutation, top inflorescence

### WSTĘP

Lucerna jest jedną z najważniejszych roślin pastewnych w krajowej produkcji rolniczej. W programach hodowlanych nowych odmian, obok ulepszania parametrów jakościowych, zdrowotności i odporności roślin na czynniki stresowe, jednym

z priorytetowych kierunków jest zwiększenie poziomu plonowania nasiennego. W Instytucie Hodowli i Aklimatyzacji Roślin w Radzikowie prowadzone są badania nad zwiększeniem produktywności nasiennej lucerny poprzez wykorzystanie genów warunkujących cechy determinujące tworzenie nasion, a także nad poszerzeniem zakresu zmienności poprzez wykorzystanie, poza zmiennością rekombinacyjną, także mutacji.

Obiektem badań była spontaniczna mutacja lucerny polegająca na wytwarzaniu kwiatostanów na wierzchołkach łodyg form lucerny z długim gronem, prowadzącym w konsekwencji do zakończenia dalszego wzrostu roślin. (rys. 1).



**Rys. 1. Cecha zdeterminowanego wzrostu lucerny**  
**Fig. 1. The determinate growth habit in alfalfa**

Występowanie zjawiska samokończenia wzrostu (cecha zdeterminowanego wzrostu) opisano także u form lucerny z typowymi, krótkimi gronami (Staszewski i in., 1992). Cecha ta bywa często wykorzystywana w hodowli odmian innych gatunków: soi, łubinów, fasoli, bobiku, wyki a także pomidora i papryki. Rośliny lucerny wytwarzające kwiatostany wierzchołkowe charakteryzują się większym wyrównaniem dojrzewania strąków i nasion. Cecha ta może przyczynić się do zmniejszenia strat podczas zbioru nasion, wynikających z osypywania się najwcześniej dojrzewających strąków, a także

strat nie w pełni jeszcze dojrzałych nasion. Badania wykazały, że formy lucerny o zdeterminowanym typie wzrostu wytwarzały więcej gron w porównaniu z roślinami wzorcowymi o klasycznym, typowym pokroju, przewyższając je plonem nasion (Bodzon, 2007). Wykorzystanie tej cechy w hodowli lucerny mogłoby stworzyć nowe możliwości zwiększenia jej plonu nasion. 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 zdeterminowanego wzrostu.

#### MATERIAŁ ROŚLINNY I METODY BADAŃ

##### **Materiał do badań stanowiły:**

- linie wsobne  $S_1$  i  $S_2$  mutantu tworzącego kwiatostany wierzchołkowe — *ti* (*top inflorescence*). Spontaniczna mutacja *ti* została wyodrębniona w liniach hodowlanych długogronowej odmiany Ulstar.
- rośliny odmiany Ulstar, które użyto jako formy mateczne w krzyżowaniach z liniami  $S_2$  mutantu *ti*.

Badania genetyczne przeprowadzono w latach 2010–2015.

Analizę sposobu dziedziczenia cechy zdeterminowanego wzrostu 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 Ulstar o typowym pokroju z roślinami zmutowanymi. Samozapylenia i krzyżowania wykonano ręcznie w szklarni. Rośliny wysadzone pojedynczo w wazonach o pojemności 10 l doświetlano w fazie kwitnienia, zawiązywania i dojrzewania strąków lampami sodowymi, utrzymując temperaturę na poziomie 23–25°C w dzień i 12–15°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 0,3 l napełnionych substratem torfowym, do których wysiewano pojedynczo nasiona. Ośmiotygodniowe rośliny sadzono na poletkach stosując szeroką rozstawę rzędów, wynoszącą 0,5 m i obsadę 12 roślin na  $m^2$ , 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 zdeterminowanego wzrostu przeprowadzono w doświadczeniach w jednym powtórzeniu, w pierwszym roku wegetacji, oceniając rośliny w fazie dojrzewania strąków.

#### WYNIKI BADAŃ I DYSKUSJA

Obserwacje ekspresji cechy zdeterminowanego wzrostu przeprowadzone w obrębie potomstwa  $S_1$ , uzyskanego z samozapylenia mutantu *ti* wykazały że wszystkie rośliny wytwarzały kwiatostany wierzchołkowe (tab. 1). Spośród 670 przebadanych roślin pokolenia  $S_2$ , otrzymanego poprzez samozapylenie roślin  $S_1$ , tylko cztery rośliny nie

tworzyły kwiatostanów na wierzchołkach łodyg. Analiza z zastosowaniem testu chi-kwadrat wykazała, że stwierdzone odchylenie jest nieistotne i mogło być spowodowane błędem przypadkowym, jakim najczęściej jest niezamierzone przedostanie się pyłku z innych roślin na znamiona zapylanych kwiatów.

Tabela 1

**Segregacja cechy zdeterminowanego wzrostu (*ti*)**  
**Determinate growth (*ti*) segregation**

Wariant krzyżowania Crossing variant	Obserwowane fenotypy Phenotypes observed		Przewidywany stosunek genotypów Theoretical ratio of genotypes		Chi -kwadrat Chi -square	
	<i>ti</i>	Ti	<i>ti</i>	Ti	wartość value	p
Mutant <i>ti</i> - samozapylenie (selfpollination) → S <sub>1</sub>	287	0	287	0	0	1
S <sub>1</sub> - samozapylenie (selfpollination) → S <sub>2</sub>	670	4	674	0	0,024	0,87
Ulstar ( <i>Ti</i> ) × S <sub>2</sub> → F <sub>1</sub>	6	1238	0	1244	0,029	0,85
F <sub>1</sub> ( <i>ti</i> ) - samozapylenie (selfpollination) → F <sub>2</sub>	34	1124	32,17	1125,83	0,107	0,74
F <sub>2</sub> ( <i>ti</i> ) × F <sub>2</sub> ( <i>ti</i> ) → F <sub>3</sub>	1144	6	1150	0	0,031	0,82

Ocenie poddano także mieszańce uzyskane ze skrzyżowania roślin odmiany Ulstar, o typowym niezeterminowanym pokroju, z roślinami samokończącymi, wybranymi z potomstwa S<sub>2</sub> mutanta. Ogółem opisano 1244 rośliny pokolenia F<sub>1</sub> stwierdzając, że pod względem typu wzrostu nie różniły się od odmiany Ulstar. Wyjątek stanowiło sześć roślin, które wytwarzały kwiatostany wierzchołkowe, jednak test chi-kwadrat potwierdził wysokie prawdopodobieństwo zgodności uzyskanego rozkładu tej cechy z rozkładem przewidywanym ( $p = 0,85$ ), a zatem pojawienie się w badanej populacji sześciu roślin samokończących mogło być spowodowane czynnikami przypadkowymi.

Obserwacje ekspresji cechy zdeterminowanego wzrostu mieszańców pokolenia F<sub>2</sub> wykazały znaczne zróżnicowanie roślin pod względem tej cechy. Wśród 1158 ocenionych roślin wyodrębniono 34 wytwarzające kwiatostany na wierzchołkach łodyg. Obserwowane stosunki rozszczepień fenotypów były zgodne z rozkładem teoretycznym wynoszącym 1:35, ( $p = 0,74$ ).

Badaniami objęto także potomstwa F<sub>3</sub>, pochodzące z krzyżowań siostrzanych roślin o zdeterminowanym typie wzrostu, wybranych w pokoleniu F<sub>2</sub>. W analizowanym materiale roślinnym wyodrębniono jedynie 6 roślin nie tworzących kwiatostanów na wierzchołkach łodyg. Pozostałe rośliny tworzyły kwiatostany wierzchołkowe. Analiza statystyczna potwierdziła wysoką zgodność uzyskanego rozkładu z rozkładem teoretycznym.

Stosunki rozszczepień, obserwowane w potomstwach S<sub>1</sub> i S<sub>2</sub> rośliny zmutowanej dowodzą, że rośliny wytwarzające kwiatostany wierzchołkowe są homozygotyczne pod względem tej cechy.

Mieszańce  $F_1$ , otrzymane w wyniku skrzyżowania roślin odmiany Ulstar z homozygotycznymi roślinami zmutowanymi, odtwarzały fenotyp o niezdeteterminowanym typie wzrostu, 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 zdeterminowanego wzrostu dziedziczy się jednym genem w układzie czterech recesywnych alleli (*ti ti ti ti*). Prosty sposób dziedziczenia tej cechy umożliwia wykorzystanie jej w hodowli nowych form lucerny.

W literaturze brakuje publikacji dotyczących sposobu dziedziczenia cechy zdeterminowanego wzrostu lucerny. Samokończące formy lucerny z krótkimi gronami badali Dzyubenko i Dzyubenko (1994), Staszewski i in. (1992, 2001), Bodzon (2007) oraz Wyrzykowska i in. (2007), jednak badania tych autorów dotyczyły głównie produktywności nasiennej.

Bernard (1972) w prowadzonych badaniach stwierdził, że typ wzrostu łodyg soi jest warunkowany dwoma parami alleli *Dt1dt1* i *Dt2dt2*. Cecha zdeterminowanego wzrostu warunkowana jest jednym genem z dwoma recesywnymi allelami *dt1dt1*. Pozostałe możliwe układy alleli obu par warunkują typy pośrednie między samokończeniem i całkowitym brakiem tej cechy, przy czym allel *dt1* jest epistatyczny w stosunku do *Dt2-dt2*. Mikołajczyk i in. (1984) w badaniach łubinu białego wykazali, że cecha zdeterminowanego wzrostu warunkowana jest jednym recesywnym genem (2002). Ten sam sposób warunkowania cechy zdeterminowanego wzrostu stwierdzono u bobu (Filipetti, 1986), bobiku (Avila i in., 2006), fasoli (Singh, 1982), (Bassett, 1989), gorczycy sarepskiej (Kaur i Banga, 2015), kozieradki pospolitej (Avtar i Jhorar, 2002), sezamu indyjskiego (Uzun i in., 2013) i nikli indyjskiej (Mir i in., 2014). Wyniki badań uzyskane w niniejszej pracy potwierdzają wnioski tych autorów dotyczące sposobu dziedziczenia tej cechy także u innych gatunków roślin. Prosty sposób dziedziczenia cechy zdeterminowanego wzrostu lucerny stwarza możliwość wykorzystania jej w hodowli.

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 liści (Childers i McLennan, 1961), żółta barwa liści, poprzeczna pasiastość liści (tzw. zebrowatość liści) (Childers, 1962), (Stanford, 1956), plamistość liści (Azizi i Barnes, 1977), postrzępienie liści (Baenziger, 1977), występowanie wąskich blaszek liściowych (Brick i in., 1984). Również cechy związane z budową tkanek mechanicznych korzeni oraz zdolność do regeneracji, występująca w przypadku mechanicznych uszkodzeń tkanek łodygi, warunkowane są przez pojedyncze geny (Brick i Barnes, 1981, 1982; Elgin i in., 1971).

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 około dwukrotnie dłuższymi osadkami kwiatostanowymi i około dwukrotnie większą liczbą kwiatów w kwiatostanach w porównaniu z roślinami wzorcowymi o typowych, krótkich gronach. Cecha ta, warunkowana jednym recesywnym genem (Bodzon, 1998), została wykorzystana do utworzenia nowej polskiej odmiany lucerny, charakteryzującej się wyższym plonem nasion w porównaniu z wzorcami (Staszewski i Bodzon, 2002), którą wpisano do Krajowego Rejestru Odmian w 2004 r. pod nazwą Ulstar. Równie interesującą wydaje się także cecha wiechowatości kwiatostanów, warunkowana jednym recesywnym genem (Bodzon, 2013), która zdaniem tego autora może być wykorzystana w hodowli nowych, wysoko produktywnych form lucerny. Ta spontaniczna mutacja polega na wyrastaniu dodatkowych gron w miejscu kwiatów. Kwiatostan przybiera kształt wiechy złożonej z kilkunastu rozgałęzień, a liczba kwiatów, w porównaniu z gronami, ulega zwielokrotnieniu osiągając liczbę kilkadziesiątu.

#### WNIOSKI

1. Cecha zdeterminowanego wzrostu 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 nowych odmian lucerny.

#### LITERATURA

- Avila C. M., Nadal S., Moreno M. T., Torres A. M. 2006. Development of a simple PCR-based marker for the determination of growth habit in *Vicia faba* L. using a candidate gene approach. *Mol. Breed.* 17: 185 — 190.
- Avtar R., Jhorar B. S. 2002. Inheritance of determinate growth habit in fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.). *J. Spices and Aromatic Crops* 11 (2): 146 — 147.
- 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 color inheritance in diploid and tetraploid alfalfa: a reevaluation. *Tech. Bull. No. 1353*. Agricultural Research Service USDA.
- Bassett M. J. 1989. List of genes. *Annu. Rep. Bean Improv. Coop.* 32:1 — 15.
- Bernard R. L. 1972. Two genes affecting stem termination in soybeans. *Crop Sci.* 12: 235 — 239.
- Bodzon Z. 1998. Inheritance of spontaneous long peduncle mutation in alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Plant 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.
- Bodzon Z. 2013. Dziedziczenie cechy wiechowatości kwiatostanów lucerny mieszańcowej (*Medicago* × *varia* T. Martyn). *Biul. IHAR* 267: 153 — 159.
- 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., McLennan H. A. 1961. The inheritance and histology of a chlorophyll deficient character in *Medicago sativa* L. Can J. Bot. 39: 847 — 853.
- Dzyubenko N. T., Dzyubenko E. K. 1994. Usage of *ti* mutants in a breeding of alfalfa. Russ. J. Genet. 30: 41.
- 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.
- Filipetti A. 1986. Inheritance of determinate growth habit induced in *Vicia faba major* by ethyl methane sulfonate (EMS). Fabis Newsl. 20: 12 — 14.
- 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.
- Kaur H., Banga S. S. 2015. Discovery and mapping of *Brassica juncea Sdt 1* gene associated with determinate plant growth habit. Theor. Appl. Genet. 128 (2): 235 — 245.
- Mikolajczyk I., Stawiński S., Wiza M. 1984. Directions actuelles de l'amelioration et l'etat actuel des recherches sur l'acclimation du lupin blanc en Pologne, in: International Lupin Association (ed.) Proc. 3<sup>rd</sup> International Lupin Conference, La Rochelle: 570 — 571.
- Mir R. R., Kudapa H., Srikanth S., Saxena R. K., Sharma A., Azam S., Saxena K., Penmetra R. V., Varshney R. K. 2014. Candidate gene analysis for determinacy in pigeon pea (*Cajanus spp.*). Theor. Appl. Genet. 127: 2663 — 2678.
- Rumbauhg 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.
- Singh S. P. 1982. A key for identification of different growth habits of *Phaseolus vulgaris* L. Annu. Rep. Bean Improv. Coop. 25: 92 — 95.
- Stanford E. H. 1956. The zebra leaf character in alfalfa and its dosage-dominance relationship. Agron. J. 51: 274 — 277.
- Staszewski Z. 1986. Long peduncle *lp* mutation - a promise for seed yield improvement of alfalfa. Rep. of the XXX<sup>th</sup> 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., Bodzon Z., Staszewski L. 2001. Influence of some recessive genes on plant and inflorescence characteristics in alfalfa. Plant Breed. Seed Sci. 45 (1): 43 — 53.
- Staszewski Z., Jagodziński J., Bodzon Z. 1989. Ocena przydatności w hodowli mutacji *lp* lucerny o dłuższej 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 X<sup>th</sup> 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.
- Uzun B., Yol E., Furat S. 2013. Genetic advance, heritability and inheritance in determinate growth habit of sesame. Austr. J. Crop Sci. 7 (7): 978 — 983.
- Wyrzykowska M., Ziemiańska J., Lisowska M. 2007. Zmienność i współzależność cech lucerny (*Medicago sativa ssp. L.*) o różnej długości kwiatostanu. Biul. IHAR 246: 169 — 177.