

**IRENA KOLASIŃSKA**

Zakład Genetyki i Hodowli Roślin

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — Państwowy Instytut Badawczy w Radzikowie

## Identyfikacja genotypów przywracających płodność mieszańców z cytoplazmą Pampa wśród linii wsobnych żyta o różnym pochodzeniu

### Identification of male fertility restorers for the Pampa cytoplasm among inbred lines of rye with different origins

W latach 2009 i 2010 badano zdolność przywracania męskiej płodności dużej liczby młodych linii wsobnych pokoleń S<sub>1</sub>–S<sub>3</sub> wyprowadzonych z polskich populacji hodowlanych oraz z populacji wytworzonych z udziałem tureckich populacji miejscowych. Wykonano krzyżowanie roślin tych linii z męskosterylnym testerem trudnym do przywrócenia płodności (CMS-Tt). Męską płodność mieszańców testowych określano poprzez wizualną bonitację intensywności pylenia kłosów na poletkach obserwacyjnych i/lub wyznaczenie indeksu restoracji na podstawie wyników oceny męskiej płodności pojedynczych roślin. Stwierdzono, że pełne restorery płodności występowały bardzo rzadko wśród linii wsobnych wyprowadzonych z polskich populacji żyta. Frekwencja linii całkowicie przywracających płodność swoim mieszańcom z CMS-Tt wynosiła odpowiednio tylko 1,2% i 0,3% w grupie linii ocenianych odpowiednio w latach 2009 i 2010. Przeważającą większość (75,8% i 79,2%) tych linii stanowiły częściowe restorery. Znacznie większą zdolnością przywracania płodności i częstością efektywnych restorerów charakteryzowała się grupa linii wsobnych wytworzonych z udziałem tureckich populacji miejscowych. Frekwencja genotypów o indeksie restoracji ponad 70% wynosiła 48,3% i 82,3% odpowiednio w latach 2009 i 2010. Połowa spośród linii wsobnych ocenianych w 2010 roku miała indeks restoracji wynoszący 100%. Wydaje się, że wybrane linie restorery mogą być wykorzystane w programie hodowli komponentów ojcowskich dla mieszańców żyta.

**Słowa kluczowe:** hodowla odmian mieszańcowych, męska sterylność, przywracanie męskiej płodności, *Secale cereale*, żyto

The objective of this study was to identify effective male fertility restorers among rye genotypes developed from Polish breeding populations and Turkish landrace populations. In the years 2009 and 2010, restoring ability of numerous inbred lines developed from both groups of rye populations was studied. Single plants of inbred lines were crossed to a hard-restoration tester (CMS-Tt) under isolation bags. The level of male fertility of test hybrids was assessed in plastic tunnels and/or in field by pollen shedding visual scores of plant plots and/or by anther dehiscence visual scores of single plants with a 1–9 scale. The restoration indices (RI) were calculated according to the formulae:  $RI = \% \text{ of male fertile plants} + \frac{1}{2} \times \% \text{ of partially male fertile plants}$ . It was found, that majority of inbred lines developed from

Polish breeding population were only partial restorers. Frequency of effective restorers among the genotypes assessed in 2009 and 2010 was 1.2% and 0.3%, respectively. In contrast, inbred lines derived from Turkish landrace populations were highly effective in restoration of male fertility of their test hybrids. Frequency of effective restorers (RI above 70%) among genotypes assessed in 2009 and 2010 was 48.3% and 82.3%, respectively. In 2010, half of the tested inbred lines proved to be very effective restorers (RI = 100%). Introgression of these inbred lines into the restorer gene pool should result in improved male fertility in Pampa-based rye hybrids.

**Key words:** hybrid breeding, male sterility, restoration of male fertility, rye, *Secale cereale*

## WSTĘP

Hodowla odmian mieszańcowych żyta jest głównie prowadzona z wykorzystaniem systemu cytoplazmatyczno-genowej męskiej sterility typu Pampa (CMS-Pampa lub CMS-P). To źródło męskiej sterility powstało w wyniku krzyżowania wewnątrzgatunkowego prymitywnej argentyńskiej odmiany Pampa z linią wsobną pochodzącą z odmiany Petkuser Normal (Geiger i Schnell, 1970). Wkrótce potem wyodrębniono pierwszą linię (L18) efektywnie przywracającą płodność mieszańcom z cytoplazmą Pampa (Geiger, 1972), która z powodu słabej wartości cech rolniczych nigdy nie została wykorzystana w programie hodowli. Męska sterility typu Pampa jest łatwa do utrzymania, ponieważ genotypy dopełniające męską sterility powszechnie występują we wszystkich populacjach hodowlanych żyta oraz stabilna w szerokim zakresie warunków uprawy w Europie (Geiger i in., 1995). Znaczne problemy jednak sprawia pełne przywrócenie męskiej płodności u roślin mieszańców z tego typu cytoplazmą, co jest spowodowane niską frekwencją genotypów wystarczająco przywracających płodność (restorerów), które stanowią zaledwie od 1 do 5% w europejskich populacjach żyta (Geiger i Morgenstern, 1975; Geiger i in., 1995). Dodatkowym utrudnieniem jest złożone uwarunkowanie genetyczne tej cechy zakładające działanie dwóch (Madej, 1976), trzech (Scoles i Evans, 1979), a nawet czterech (Ruebenbauer i in., 1984) par genów. Geny przywracające płodność w systemie CMS-P dotychczas zlokalizowano na pięciu chromosomach żyta, z których największe znaczenie miały *loci* z chromosomów 1RS i 4 RL (Miedaner i in., 2000). Sukcesem zakończyło się poszukiwanie genotypów przywracających płodność wśród egzotycznych populacji żyta pochodzących z Ameryki Południowej i Bliskiego Wschodu. Źródłami genów efektywnie przywracających płodność okazały się irańska prymitywna populacja Iran IX i argentyńska odmiana miejscowa Pico Gentario (Geiger i Miedaner, 1996). Linie wyprowadzone z tych prymitywnych populacji charakteryzowały się wyraźnie większą zdolnością przywracania płodności i zapewniały swoim mieszańcom większą produkcyjność pyłku w porównaniu z obecnie używanymi restorerami pochodzenia europejskiego. Ponadto męska płodność mieszańców uzyskanych z udziałem egzotycznych restorerów w mniejszym stopniu zależała od genotypu komponenta męskiego i była bardziej stabilna w zróżnicowanych warunkach środowiskowych (Geiger i Miedaner, 1996; Miedaner i in., 2005). Jednak wartość cech rolniczych pierwszych pokoleń linii wsobnych wyprowadzonych z tych prymitywnych

populacji była bardzo słaba, co przekreślało możliwość ich bezpośredniego wykorzystania w programach hodowlanych (Miedaner i in., 2005). Znaczne trudności pojawiły się także z wykorzystaniem tych dawców genów przywracania płodności (*Rf*) w komercyjnych programach hodowli. Okazało się, że główne geny przywracania płodności (*Rfp1* i *Rf2*) z Iran IX i Pico Gentario są silnie sprzężone z genami warunkującymi niekorzystne cechy rolnicze, a szczególnie wysokość roślin (Dreyer, 2000; Miedaner i in., 2000; Kociuba i Stojałowski, 2009). Wcześniejsze badania (Kolasińska, dane niepubl.) wykazały, że miejscowe populacje żyta pochodzące z Turcji charakteryzują się większą niż populacje hodowlane zdolnością przywracania męskiej płodności u mieszańców z cytoplazmą Pampa. Rozpoczęto badania nad możliwością wykorzystania genów przywracających płodność pochodzących z tureckich populacji w programie hodowli restorerów.

Celem badań było znalezienie efektywnych restorerów męskiej płodności dla CMS-Pampa wśród genotypów żyta wyprowadzonych z polskich odmian hodowlanych oraz w grupie genotypów wytworzonych z udziałem tureckich populacji miejscowych.

#### MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono w Instytucie Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — Państwowym Instytucie Badawczym w latach 2009 i 2010. Materiał badawczy stanowiły linie wsobne pokolenia  $S_1$ – $S_2$  wyprowadzone z polskich populacji hodowlanych oraz linie wsobne  $S_2$ – $S_3$  pochodzące z populacji utworzonych z udziałem tureckich populacji miejscowych. W latach 2009 i 2010 badaniami objęto odpowiednio 495 i 614 genotypów wyprowadzonych z polskich odmian żyta oraz 109 i 130 genotypów wytworzonych z udziałem tureckich populacji miejscowych. W celu określenia zdolności przywracania płodności obu grup linii wsobnych wykonano krzyżowanie pojedynczych roślin tych linii z męskosterylnym testerem trudnym do przywrócenia płodności (CMS-Tt). Testerem tym była linia 5P, która z posiadanymi restorerami tworzyła mieszańce o najniższej płodności pyłku (Kolasińska 2001, Kolasińska, 2009).

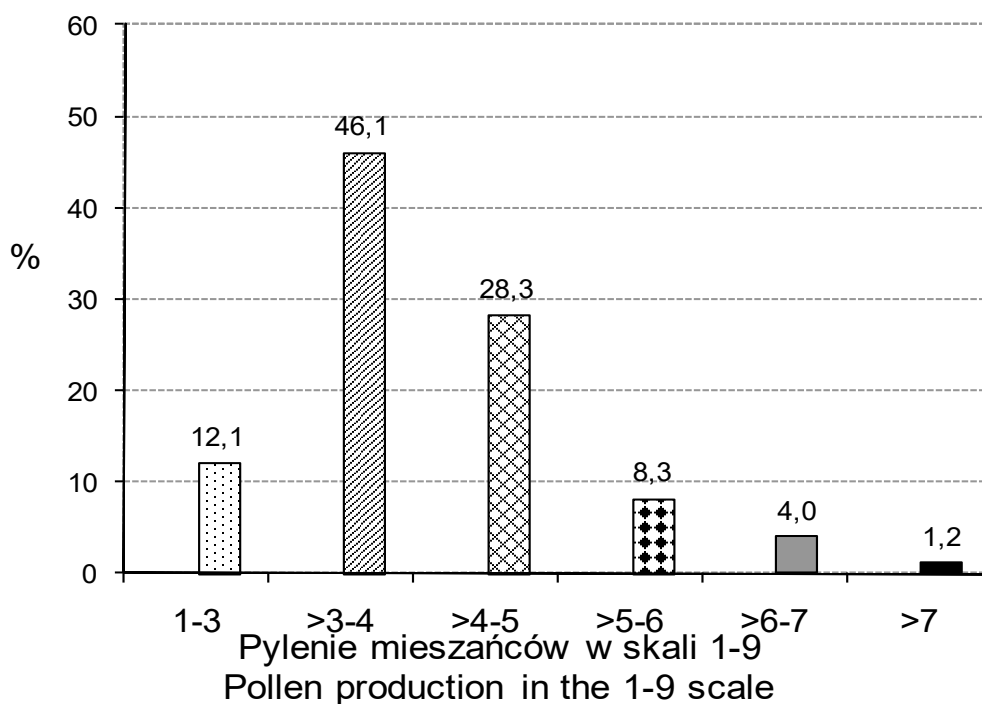
Poziom przywrócenia męskiej płodności mieszańców testowych uzyskanych z krzyżowania CMS-Tt z liniami wsobnymi oceniano poprzez określenie intensywności pylenia kłosów roślin na poletkach obserwacyjnych i/lub wyznaczenie indeksu restoracji męskiej płodności (IR) na podstawie bonitacji płodności pylników pojedynczych roślin. Intensywność pylenia mieszańców oznaczano w stadium pełni kwitnienia, oceniając wizualnie stopień pylenia kłosów roślin na poletkach w skali 1–9° (Geiger i Morgenstern, 1975). Stopnie 1–3 przydzielano mieszańcom, których wszystkie rośliny na poletku były męskosterylne, ale różniły stopniem degeneracji pylników. Stopień 9 znaczył, że wszystkie kłosa mieszańców miały płodne pylniki, a ponad 90% kłosów dobrze pyliło. Stopnie od 4 do 8 oznaczały różny udział kłosów z częściowo i całkowicie płodnymi pylnikami na poletku. Męską płodność mieszańców określano także poprzez wizualną bonitację pylników 20–40 roślin w skali 1–9° prowadzoną w pełni kwitnienia (Morgenstern, 1983), przy czym 1 oznacza pylniki silnie zdegenerowane, puste i niepekające, a 9 to pylniki

normalnej wielkości, pękające i obficie pyłące. Następnie obliczono liczbę i procentowy udział roślin w trzech klasach płodności: męskosterylna [1–3°], częściowo-płodna [3–6°] i płodna [7–9°] i wyznaczono indeks restoracji płodności (*IR*) według wzoru (Geiger i Morgenstern, 1975):

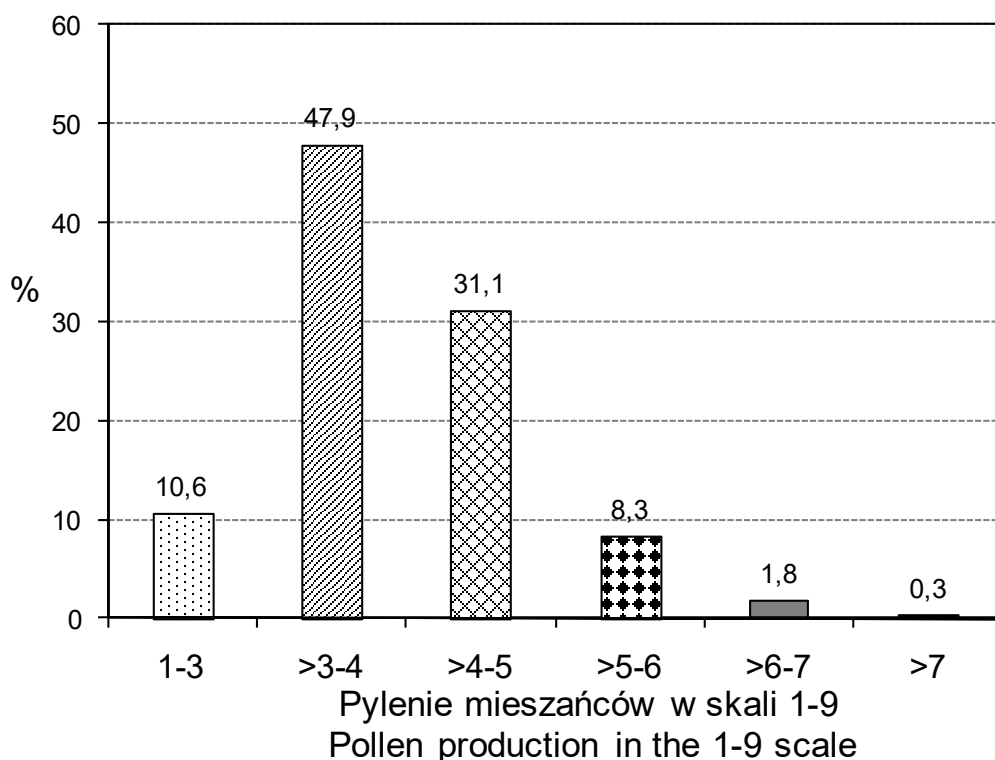
$$IR, \% = \% \text{ roślin płodnych} + 1/2 \% \text{ roślin częściowo płodnych.}$$

#### WYNIKI I DYSKUSJA

Dwuletnie badania wykazały, że pełne restorery męskiej płodności bardzo rzadko występowały wśród linii wsobnych pokolenia  $S_1$ – $S_2$  pochodzących z polskich odmian hodowlanych żyta. Linie wsobne, które całkowicie przywróciły płodność u mieszańców (pylenie ponad 7 stopni) z linią męskosterylną 5P (testerem trudnym do przywrócenia płodności) stanowiły tylko 1,2% i 0,3% ogólnej liczby linii ocenianych odpowiednio w 2009 (rys. 1) i w 2010 roku (rys. 2).



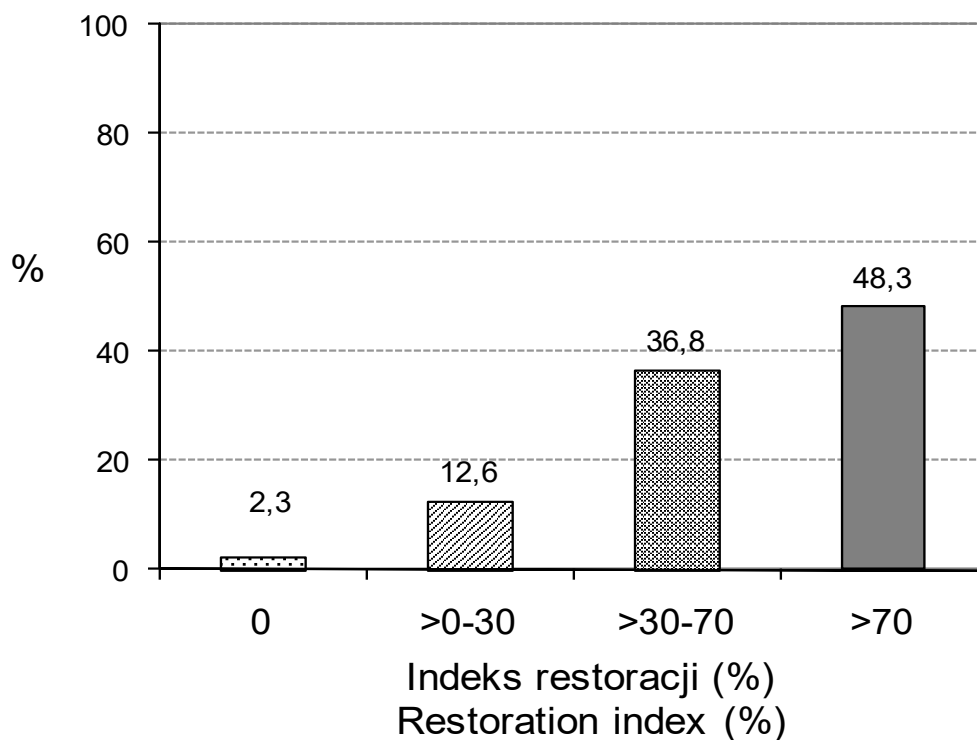
Rys. 1. Frekwencja genotypów o różnej zdolności przywracania płodności wśród linii wsobnych pochodzących z polskich populacji żyta w 2009 roku  
 Fig. 1. Frequency of genotypes with various restoring ability among inbred lines developed from Polish populations of rye in 2009



Rys. 2. Frekwencja genotypów o różnej zdolności przywracania płodności wśród linii wsobnych pochodzących z polskich populacji żyta w 2010 roku

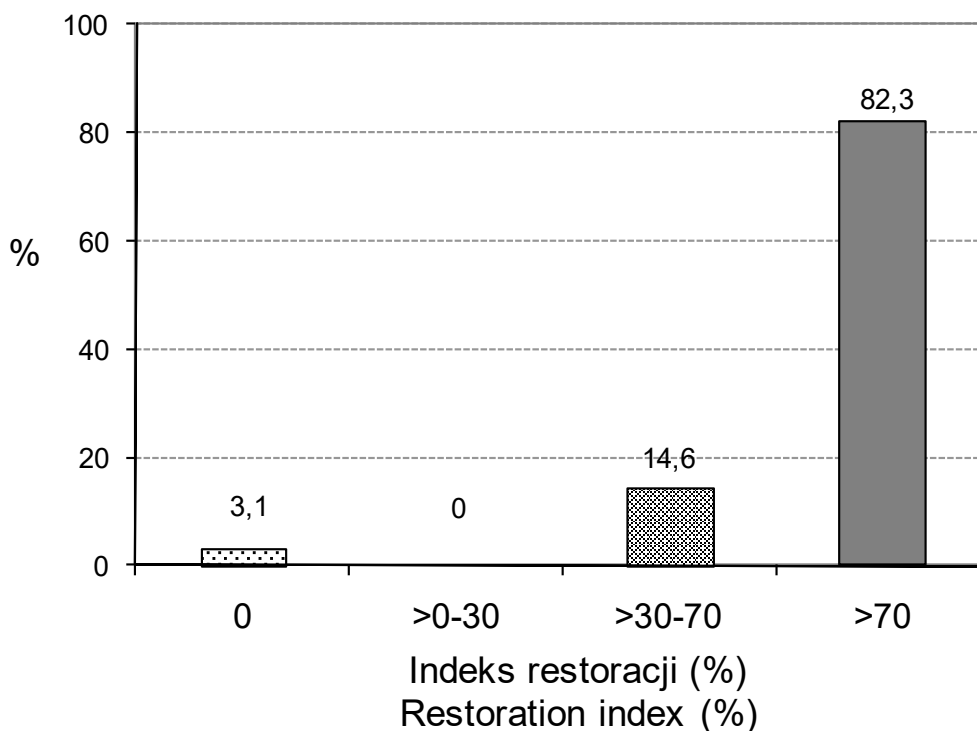
Fig. 2. Frequency of genotypes with various restoring ability among inbred lines developed from Polish populations of rye in 2010

Linie wsobne, których mieszańce testowe charakteryzowały się intensywnością pylenia od 5,5 do 7 stopni wynosiły 12,3% i 10,1% odpowiednio w latach 2009 i 2010. Przeważająca większość linii tej grupy tylko w niewielkim stopniu przywróciła płodność mieszańcom testowym (pylenie 3,5 do 5 stopni) lub tworzyła całkowicie sterylne potomstwo (1–3 stopni). Obiecujące rezultaty uzyskano w wyniku testowania zdolności przywracania płodności u linii wsobnych wytworzonych z udziałem tureckich populacji miejscowych. Zdecydowana większość linii wsobnych tej grupy wyróżniła się zadawalającą zdolnością przywracania płodności u mieszańców z linią męskosterylną 5P (rys. 3, 4). Frekwencja pełnych restorerów (*IR* ponad 70%) wynosiła 48,3% i 82,3% odpowiednio w latach 2009 i 2010. W tym ostatnim roku połowa spośród ocenianych linii wsobnych tworzyła z linią 5P całkowicie płodne potomstwo o indeksie restoracji wynoszącym 100%.



**Rys. 3. Frekwencja genotypów o różnej zdolności przywracania płodności wśród linii wsobnych wyprowadzonych z udziałem tureckich populacji w 2009 roku**  
**Fig. 3. Frequency of genotypes with various restoring ability among inbred lines developed from Turkish populations of rye in 2009**

Bardzo ważnym zadaniem w programie hodowli mieszańców jest wyprowadzenie restorerów całkowicie przywracających płodność oraz charakteryzujących się dobrą zdolnością kombinacyjną plonu ziarna i innych cech rolniczych. Poszukiwanie takich genotypów prowadzono w pierwszym rzędzie wśród linii wsobnych o pożądanym cechach rolniczych pochodzących z populacji hodowlanych, a następnie wśród obiektów wyprowadzonych przy udziale tureckich populacji miejscowych zgromadzonych w Banku Genów IHAR. W celu porównania zdolności restoracji obu grup linii wsobnych, w charakterze formy matecznej, użyto linii 5P, która na podstawie wcześniejszych badań została określona jako trudna do przywrócenia płodności (Kolasińska, 2009). Badania wykazały niską frekwencję genotypów całkowicie przywracających płodność wśród młodych linii wsobnych wyprowadzonych z polskich odmian hodowlanych. Wyniki te potwierdzają wcześniejsze doniesienia o trudnościach ze znalezieniem pełnych restorerów płodności wśród populacji europejskiego pochodzenia (Geiger i Morgenstern, 1975; Geiger i in., 1995).



**Rys. 4. Frekwencja genotypów o różnej zdolności przywracania płodności wśród linii wsobnych wyprowadzonych z udziałem tureckich populacji w 2010 roku**  
**Fig. 4. Frequency of genotypes with various restoring ability among inbred lines developed from Turkish populations of rye in 2010**

Ulepszenie zdolności przywracania płodności u genotypów wyprowadzonych z europejskich populacji żyta utrudnia jego oligogeniczne dziedziczenie (Miedaner i in., 2000) i związany z tym duży wpływ genotypu matecznego i warunków środowiska na fenotypową ekspresję sterility/płodności roślin (Geiger i Miedaner, 1996). Trudności pojawiły się także z wykorzystaniem w komercyjnych programach hodowli genów przywracania płodności (*Rf*), pochodzących z egzotycznych populacji (Iran IX, Pico Gentario), spowodowane ich silnym sprzężeniem z genami warunkującymi niekorzystne cechy rolnicze (Dreyer, 2000; Miedaner i in., 2000). Wszystkie dotychczas wyprowadzone linie z udziałem tych egzotycznych materiałów wykazują słabą wartość cech rolniczych (obniżony plon i masę ziaren, podatność na wyleganie), co prawdopodobnie jest spowodowane przez segmenty genomu donora znajdujące się w bliskim sąsiedztwie genu restoracji i zawierające geny warunkujące wymienione cechy. (Miedaner i in., 2005). Stąd istnieje potrzeba dalszego poszukiwania nowych dawców genu/genów efektywnie przywracających płodność (*Rf*). Wcześniejsze badania własne wykazały, że populacje miejscowe żyta pochodzące z Turcji wyróżniają się zdolnością przywracania męskiej

płodności u mieszańców z cytoplazmą Pampa. Stąd niektóre z tych populacji wykorzystano do wytworzenia populacji wyjściowej dla wyprowadzania linii wsobnych. Stwierdzono, że linie wsobne pokolenia  $S_2$ – $S_3$  uzyskane z udziałem tureckich populacji charakteryzowały się znacznie większą zdolnością przywracania płodności niż młode linie wsobne wyprowadzone z polskich odmian. Większość linii wsobnych całkowicie przywróciła męską płodność u mieszańców z linią 5P. Wstępne wyniki badań wskazują na prostszy sposób dziedziczenia cechy sterylność/płodność u linii wsobnych pochodzących z tureckich populacji w porównaniu z liniami wyprowadzonymi z polskich odmian. Niektóre linie wsobne mogą być wykorzystane, jako donory efektywnych genów przywracania płodności, w programie hodowli komponentów ojcowskich mieszańców żyta.

#### WNIOSKI

1. Restorery męskiej płodności dla CMS-Pampa zidentyfikowano wśród genotypów żyta pochodzących z polskich odmian hodowlanych oraz w grupie genotypów wytworzonych z udziałem tureckich populacji miejscowych.
2. Frekwencja efektywnych restorerów wśród młodych linii wsobnych wyprowadzonych z polskich odmian żyta była niska. Większość genotypów wykazała słabą lub średnią zdolność przywracania płodności.
3. W grupie linii wsobnych wytworzonych z udziałem tureckich populacji miejscowych stwierdzono wysoką frekwencję efektywnych restorerów. Większość linii wsobnych całkowicie przywróciła płodność u mieszańców testowych z cytoplazmą Pampa.

#### LITERATURA

- Dreyer F. 2000. Chromosomale Localisation von Restorerogenen argentinischer und Iranischer Herkunft in  $F_2$  Populationen von Winterroggen (*Secale cereale* L.). Dissertation, Shaker Verlag, Aachen.
- Geiger H. H. 1972. Wiederherstellung der Pollenfertilität in cytoplasmatisch männlich sterilem Roggen. Theor. Appl. Genet. 42: 32 — 33.
- Geiger H. H. 1975. Anforderungen an das Ausgangsmaterial für eine Hybridroggenzüchtung. Bericht über die Arbeitstagung 1975 der Arbeitsgemeinschaft der Saatzuchtleiter, Gumpenstein, Austria: 203 — 214.
- Geiger H. H., Miedaner T. 1996. Genetic basis and phenotypic stability of male-fertility restoration in rye. Votr. Pflanzenzüchtg. 35: 27 — 38.
- Geiger H. H., Morgenstern K. 1975. Angewandt-genetische Studien zur cytoplasmatischen pollensterilität bei winterroggen. Theor. Appl. Genet. 46: 269 — 276.
- Geiger H. H., Schnell F. W. 1970. Cytoplasmic male sterility in rye (*Secale cereale* L.). Crop Sci. 10: 590 — 593.
- Geiger H. H., Yuan Y., Miedaner T., Wilde P. 1995. Environmental sensitivity of cytoplasmic-genic male sterility (CMS) in *Secale cereale* L. In: Genetic Mechanisms for Hybrid Breeding. Kück U., G. Wricke (eds). Adv. Plant Breed. 18: 7 — 17, Paul Parey Sci. Publ., Berlin, Hamburg.
- Kociuba M., Stojalowski S. 2009. Efektywność markerów molekularnych SCAR z chromosomu 4RL w selekcji genotypów męskopłodnych oraz ich związek z wybranymi cechami morfologicznymi żyta (*Secale cereale* L.). Biul. IHAR 252: 139 — 149.
- Kolasińska I. 2001. Przywracanie płodności pyłku u mieszańców żyta CMS-Pampa × restorer. Biul. IHAR 218/219: 341 — 350.
- Kolasińska I. 2009. Genetyczno-hodowlane aspekty wykorzystania systemu CMS-Pampa w hodowli heterozyjnej żyta. Monografie i Rozprawy Naukowe nr 31, IHAR Radzików.



- Madej L. 1976. Charakterystyka genetyczna trzech źródeł męskiej jałowości żyta (*Secale cereale* L.). Hod. Rośl. Aklim. Nasien. 20: 157 — 174.
- Miedaner T., Glass C., Dreyer F., Wilde P., Wortmann H., Geiger H. H. 2000. Mapping of genes for male-fertility restoration in 'Pampa' CMS winter rye (*Secale cereale* L.). Theor. Appl. Genet. 101: 1226 — 1233.
- Miedaner T., Wilde P., Wortmann H. 2005. Combining ability of non-adapted sources for male-fertility restoration in Pampa CMS of hybrid rye. Plant Breed. 124: 39 — 43.
- Morgenstern K. 1983. Ausprägung der cytoplasmatisch-genischen Pollensterilität (CMS) bei Roggen in Abhängigkeit von Plasmotyp und Genotyp. Dissertation, Univ. Hohenheim, Stuttgart.
- Ruebenbauer T., Kubara-Szpunar Ł., Pająk K. 1984. Testing of a hypothesis concerning interaction of genes with mutated cytoplasm controlling male sterility of the „Pampa” type in rye (*Secale cereale* L.). Genet. Pol. 25, 1: 1 — 16.
- Scoles G. J., Evans L. E. 1979. The genetics of fertility restoration in cytoplasmic male sterile rye. Can. J. Gen. Cytol. 21, 3: 417 — 422.