

HALINA GÓRAL**LUDWIK SPISS**Katedra Hodowli Roślin i Nasiennictwa
Akademia Rolnicza, Kraków

Hodowla dopełniaczy i restorerów dla systemu *cms-T. timopheevi* u pszenżyta jarego

Development of maintainer and restorer genotypes for *cms-T. timopheevi* system in spring triticale

Otrzymano i oceniono pod względem męskiej płodności 41 mieszańców F₁ pszenżyta jarego pochodzących z krzyżowania męskosterylnych roślin pszenżyta ozimego z cytoplazmą *T. timopheevi* jako matek z polskimi i zagranicznymi odmianami i rodami hodowlanymi pszenżyta jarego. Frekwencja rodów i odmian pszenżyta jarego w pełni dopełniających lub restorujących była mała i wynosiła po 5%. Ponad 40% rodów i odmian charakteryzowało się indeksem restoracji 90%–100%. W wyniku krzyżowań wypierających otrzymano jedną linię w pełni męskosterylną i kilka linii o niepełnej męskiej sterylności w pokoleniach BC₁–BC₇. Zaproponowano schemat szybkiego wytwarzania linii dopełniających.

Słowa kluczowe: genotypy dopełniające i przywracające męską płodność, męska sterylność, pszenżyto jare

Forty-one F₁ hybrids, obtained by crossing male sterile plants (*T. timopheevi* cytoplasm) with Polish and foreign spring triticale varieties, were tested for male fertility. The frequency of genotypes fully maintaining sterility or fully restoring fertility was low and did not exceed 5% each. Over 40% of genotypes exhibited the restoration index of 90%–100%. As a result of backcrossing, one fully and several not fully male sterile lines were obtained in BC₁ to BC₇ generations. A scheme of obtaining sterility maintaining lines is proposed.

Key words: maintaining and restoring genotypes, male sterility, spring triticale

WSTĘP

Podobnie jak w przypadku pszenżyta ozimego hodowla odmian mieszańcowych pszenżyta jarego mogłaby być alternatywną metodą hodowli nowych odmian. Nieliczne badania prowadzone w Polsce (Góral i in., 1999; Węgrzyn i in., 2000; Góral, 2002 a) oraz w innych krajach (Barker i Varughese, 1992; Dhindsa i in., 1998; Naeem i Darvey, 1998; Pfeiffer i in., 1998) wskazują na występowanie nieaddytywnej genetycznej zmienności wśród odmian i rodów pszenżyta jarego oraz efektu heterozji plonu ziarna i cech

plonotwórczych u mieszańców F_1 . Barker i Varughese (1992) wykazali ponadto większy efekt heterozji u mieszańców F_1 w warunkach braku nawadniania, co może mieć szczególnie znaczenie w przypadku wyhodowania odmian mieszańcowych pszenżyta jarego w Polsce ze względu na częste susze, obniżające plon odmian tradycyjnych. Hodowla odmian mieszańcowych wymaga opracowania sposobu otrzymywania nasion mieszańcowych. Zastosowanie systemu cytoplazmatyczno-genowej męskiej sterility jest jednym z nich.

Celem pracy było zbadanie efektu sterylizacji pyłku odmian i rodów pszenżyta jarego w cytoplazmie *Triticum timopheevi* oraz wytworzenie systemu cms-*T. timopheevi*. Część wyników przedstawiono we wcześniejszym opracowaniu (Góral, 2002 a).

MATERIAŁ I METODY

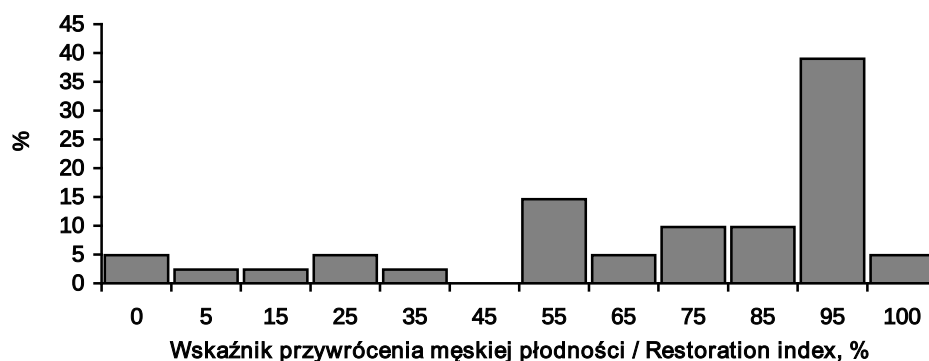
W latach 1997–2004 w Stacji Doświadczalnej Prusy AR w Krakowie wytworzono i oceniono pod względem męskiej płodności 41 mieszańców F_1 pszenżyta jarego. Mieszańce otrzymano w wyniku krzyżowania męskosterylnej linii pszenżyta ozimego — cms Salvo 15/1 (cytoplazma *T. timopheevi*), którą otrzymano wcześniej (Spiss i Góral, 1994) z 6 polskimi odmianami pszenżyta jarego (Jago, Gabo, Maja, Migo, Kargo, Wanad), 8 odmianami meksykańskimi, otrzymanymi z kolekcji AR w Lublinie (Walrus, Papion 4, Lamb 2, Peltra 5-1, Bogal 7, Alamos 83, Fahad 7, Brumbu) oraz 27 rodami, udostępnionymi przez Hodowlę Roślin Danko. Mieszańce F_1 (średnio po 25 roślin) wysadzano w rozstawie 40×20 cm. Na każdej roślinie izolowano przed kwitnieniem 3–5 kłosów. Rośliny oceniano dwukrotnie pod względem męskiej płodności. W czasie kwitnienia określano stopień wykształcenia i pęknięcia pylników, a w czasie dojrzałości oceniano wizualnie osadzenie ziaren w izolowanych kłosach. Za męskopłodne uznano rośliny charakteryzujące się uwalnianiem prawidłowo wykształconych, pękających pylników na zewnątrz kwiatu w czasie kwitnienia, obfitym pyleniem oraz osadzeniem ziaren zbliżonym do osadzenia ziaren u odmian. Jako męskosterylne kwalifikowano rośliny o pylnikach małych, zdeformowanych, nie wysuniętych z kwiatu i kłosach, w których nie zawiązywały się ziarna pod izolatorem. Pozostałe rośliny kwalifikowano jako pośrednie. Frekwencję rodów i odmian, o różnej zdolności przywracania męskiej płodności w potomstwie roślin męskosterylnych, określono na podstawie wskaźnika przywrócenia płodności w pokoleniu F_1 : $N + 0,5 P$, gdzie N oznacza procent roślin męskopłodnych, a P — procent roślin pośrednich (Geiger i Morgenstern, 1975).

W przypadku potomstw F_1 charakteryzujących się większością roślin męskosterylnych lub męskopłodnych prowadzono krzyżowania wypierające z odmianą lub rodem ojcowskim oraz chów wsobny partnera powracającego w krzyżowaniach.

WYNIKI I DYSKUSJA

Z ogólnej liczby 994 ocenionych roślin F_1 11% było męskosterylnych, 68% męskopłodnych i 21% pośrednich. Dwie formy ojcowskie (5%) spośród 41 badanych utrzymywały męską sterility, a dwie inne (również 5%) przywracały w pełni męską

plodność. Większość potomstw F_1 (90%) składała się z roślin męskopłodnych, pośrednich i męskosterylnych, z przewagą roślin męskopłodnych. Wśród badanych odmian i rodów najwięcej (43,9%) było takich, które przywracały płodność u mieszańców F_1 w 90%–100% (rys. 1). Nieliczne formy ojcowskie (14,6%) przywracały płodność potomstwa roślin męskosterylnych w granicach od kilku do 30%. Potomstwa te składały się z roślin męskosterylnych niezawijających ziaren pod izolatorem i pośrednich, zawiązujących do 10 ziaren w wyniku samozapylenia.



Rys. 1. Udział rodów i odmian ($n = 41$) pszenżyta jarego o różnym wskaźniku przywrócenia męskiej płodności

Fig. 1. Distribution of strains and cultivars ($n = 41$) of spring triticale with varying restoration index

U pszenżyta jarego, podobnie jak u ozimego (Góral 2002 a, 2002 b), występowała bardzo mała frekwencja genotypów w pełni dopełniających i restorujących. Zdecydowana większość badanych rodów i odmian przywracała płodność potomstwu męskosterylnych roślin w 50%–100%. Także Nalepa (1990) oraz Warzecha i wsp. (1996, 1998, 2002) stwierdzili większą częstość przywracania płodności niż utrzymywania męskiej sterylności u pszenżyta z cytoplazmą *T. timopheevi*.

Prowadząc krzyżowania wypierające roślin męskosterylnych pokolenia F_1 z liniami kolejnych pokoleń wsobnych wyprowadzonymi z odmiany Walrus otrzymano linię dopełniającą i jej męskosterylnego analoga w pokoleniu BC_5 (tab. 1). Duży udział roślin męskosterylnych w kilku innych potomstwach F_1 sugerował także szansę wyselekcjonowania linii dopełniających z odpowiednich form ojcowskich. Rośliny męskosterylne z potomstw nie w pełni męskosterylnych krzyżowano z pojedynczymi roślinami odpowiedniego rodu/odmiany, prowadząc jednocześnie ścisły chów wsobny i selekcję linii, wyprowadzonych z formy ojcowskiej. Indeks restoracji w kolejnych pokoleniach był mały, ale zmienny (tab. 1). Postępując w ten sposób nie otrzymano jednak w pełni skutecznych linii dopełniających.

Linie przywracające płodność próbowano otrzymać w podobny sposób, tj. prowadząc krzyżowania roślin męskopłodnych pokolenia F_1 z liniami wyprowadzanymi

z rodów/odmian nie w pełni restorujących (tab. 2). Indeks restoracji w kolejnych pokoleniach był wysoki, ale tylko w nielicznych przypadkach wynosił 100% (tab. 2).

Tabela 1

Indeks restoracji w pokoleniu F₁ i w kolejnych pokoleniach krzyżowań wypierających roślin męskosterylnych z liniami selekcionowanymi w kierunku dopełniania
Restoration index in F₁ hybrids and successive backcrosses of male sterile plants with lines selected for maintaining male sterility

Pokolenie Generation	Linie Lines				
	CHD 168/93/1	RAH 1052/3	Walrus 1	CHD 328/5	CHD 400
F ₁	10,0	21,7	0,0	3,3	0,0
BC ₁	13,5	43,5	14,7	5,6	
BC ₂	11,3	14,2	0,0		
BC ₃	6,2	9,3	0,0		
BC ₄	6,2	10,0	0,0		
BC ₅	10,7	5,0	0,0		
BC ₆	0,0				
BC ₇	6,2				

Tabela 2

Indeks restoracji w pokoleniu F₁ i w kolejnych pokoleniach krzyżowań wypierających roślin męskosterylnych z liniami selekcionowanymi w kierunku restoracji
Restoration index in F₁ hybrids and successive backcrosses of male sterile plants with lines selected for male fertility restoration

Pokolenie Generation	Linie Lines				
	Migo 8	Wanad 1	Maja 6	Gabo 10	CHD 194/5
F ₁	100,0	94,4	92,9	96,6	92,9
BC ₁	85,7	100,0	100,0	95,0	100,0
BC ₂	89,5	100,0	97,4	86,8	95,0
BC ₃	88,7	100,0	100,0	97,4	95,8
BC ₄	80,0	97,5	89,8	97,8	100,0
BC ₅	83,3	96,4	95,0	94,4	100,0
BC ₆	100,0				100,0

Mimo małej frekwencji genotypów w pełni restorujących przywracanie płodności w systemie cms-*T. timopheevi* nie powinno być problemem, ponieważ indeks restoracji wynoszący około 90% może być wystarczający w produkcji nasion mieszańcowych ze względu na skłonność pszenżyta do obcopłodności i związaną z tym pewną tolerancję na niepełne przywrócenie męskiej płodności. Dużym ograniczeniem wykorzystania tego systemu jest mały udział genotypów utrzymujących męską sterylność. Wyprowadzanie i selekcja linii z rodów/odmian „częściowo” dopełniających dawały zmienne wyniki i były mało efektywne prawdopodobnie z powodu braku kompletu alleli nierestorujących lub bardzo słabych alleli restorujących, wrażliwych na zmiany środowiska, u form ojcowskich. Brak homozygotyczności form ojcowskich oraz złożony sposób dziedziczenia cechy męskiej płodności/sterylności także mógł być przyczyną słabej skuteczności selekcji dopełniaczy wprost z rodów hodowlanych i odmian. Wydaje się, że linie dopełniające

należy tworzyć w sposób zaplanowany. Różne schematy hodowli homozygotycznych linii dopełniających u pszenżyta ozimego z wykorzystaniem techniki otrzymywania linii podwojonych haploidów zaproponowali Góral (2002 a) i Warzecha i Salak-Warzecha (2002). Wykorzystanie techniki linii DH do otrzymywania systemu cms proponują również Bicar i Darvey (1997) u żyta, a Gazecka i wsp. (1994) wykorzystali tę technikę do hodowli stabilnych linii męskosterylnych w systemie typu *polima* u rzepaku.

Hodowlę nowych linii dopełniających i męskosterylnych analogów u pszenżyta jarego można prowadzić także według sposobu zastosowanego przez Łapińskiego (1977) w hodowli dopełniaczy u żyta, przydatnego szczególnie w takich przypadkach, kiedy potomstwo F_1 , otrzymane z krzyżowania roślin męskosterylnych z różnymi genotypami, segreguje na rośliny męskosterylne, pośrednie i męskopłodne. Donorem genów nierestorujących mogłaby być linia Walrus 1. Męskosterylną wersję tej linii należy wykorzystać jako testera w krzyżowaniach z rodami/odmianami. W przypadku otrzymania rozszczepiających się potomstw F_1 należy kontynuować krzyżowania wypierające roślin męskosterylnych z rodem/odmianą w celu otrzymania rozszczepiającej się wersji rodu/odmiany. Męskopłodne segreganty należy krzyżować z rodem/odmianą jako matką. W potomstwach z tych krzyżowań powinny się pojawić „nierestorujące” homozygoty, które można zidentyfikować na podstawie krzyżowań z roślinami męskosterylnymi z rozszczepiającej się wersji rodu/odmiany. Otrzymanie w potomstwie wyłącznie roślin męskosterylnych oznaczać będzie identyfikację linii nie posiadającej genów przywracających płodność. Cały cykl powinien trwać nie dłużej niż 4 lata, a nowe linie dopełniające powinny zawierać średnio nie więcej niż 25% genów linii Walrus 1. Na przykład:

— I rok:

— wytwarzanie F_1 (cms Walrus 1 $\times$ ród A),

— II rok:

— ocena F_1 (cms Walrus 1 $\times$ ród A),

— otrzymanie $BC_1(1)$: męskosterylne segreganty $F_1 \times$ ród A,

— otrzymanie $BC_1(2)$: ród A $\times$ męskopłodne segreganty F_1

— III rok:

— męskosterylne segreganty $BC_1(1) \times BC_1(2)$

— IV rok:

— identyfikacja homozygotycznych linii dopełniających

W przypadkach, gdy potomstwo z krzyżowania linii cms Walrus 1 $\times$ ród A będzie się składać tylko z roślin męskosterylnych i pośrednich technika otrzymywania linii DH wprost z rodu poprzez homozygotyzację poszczególnych linii może także doprowadzić do identyfikacji dopełniających linii DH.

WNIOSKI

1. Frekwencje rodów i odmian pszenżyta jarego, które w pełni utrzymywały męską sterylność lub przywracały męską płodność były małe i wynosiły po 5%. Ponad 40% rodów i odmian charakteryzowało się indeksem restoracji 90%–100%.

2. W wyniku krzyżowań wypierających otrzymano jedną linię w pełni męskosterylną i kilka linii o niepełnej męskiej sterility w pokoleniach BC₁–BC₇.
3. Zaproponowano schemat szybkiego wytwarzania nowych dopełniaczy z wykorzystaniem wyselekcjonowanej linii dopełniającej Walrus 1 i jej męskosterylnej wersji.

LITERATURA

- Bicar E. H., Darvey N. L. 1997. Development of the components of a cytoplasmic male sterility hybrid system in rye through anther culture. *Euphytica* 97: 151 — 160.
- Dhindsa G. S., Maini G., Nanda G. S., Singh G. 1998. Combining ability and heterosis for yield and its components in triticales. In: Proc. 4th Int. Triticale Symp., Red Deer, Alberta, Canada, 26–31 July 1998: 116 — 118.
- Gazecka B., Bartkowiak-Broda I., Popławska W., Liersch A. 1994. Zastosowanie linii homozygotycznych uzyskanych na drodze androgenezy *in vitro* w hodowli mieszańcowej rzepaku ozimego (*Brassica napus* L.). *Prace Ogródu Botanicznego PAN* 5/6: 525 — 529.
- Geiger H.H., Morgenstern K. 1975. Angewandte-genetische Studien zur cytoplasmatischen Pollensterilität bei Winterroggen. *Theor. Appl. Genet.* 46: 269 — 276.
- Góral H. 2002a. Biologiczno-hodowlane aspekty wykorzystania heterozji u pszenżyta ($\times$ *Triticosecale* Wittm.). *Zesz. Nauk. AR Krak. Ser. Rozpr.* 283.
- Góral H. 2002b. Ocena męskiej płodności mieszańców F₁ pszenżyta ozimego z cytoplazmą *Triticum timopheevi*. *Folia Iniv. Agric. Stetin. Agricultura* 228(91): 17 — 22.
- Łapiński M. 1977. Genowa i cytoplazmatyczna męska niepłodność u żyta (*Secale* spp.). *AR w Szczecinie Rozprawy* 49.
- Naeem H. A., Darvey N. L. 1998. Heterosis for yield and quality in hexaploid triticales. In: Proc. 4th Int. Triticale Symp., Red Deer, Alberta, Canada, 26–31 July 1998: 143 — 150.
- Nalepa S. 1990. Hybrid triticales: present and future. Proc. of the Second Intern. Triticale Symp. Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brasil, 1–5 October 1990, CIMMYT, Mexico: 402 — 407.
- Pfeiffer W.H., Sayre K.D., Mergoum M. 1998. Heterosis in spring triticales hybrids. In: Proc. 4th Int. Triticale Symp., Red Deer, Alberta, Canada, 26–31 July 1998: 86 — 91.
- Spiss L., Góral H. 1994. Hodowla form męskosterylnych i przywracających płodność u pszenżyta. *Zesz. Nauk. AR w Szczecinie* 162, ser. Rolnictwo, 58, 243 — 246.
- Warzecha R., Salak-Warzecha K., Staszewski Z. 1996. CMS system in hexaploid triticales. Eds. H. Guedes-Pinto, N. Darvey and V. P. Carnide: *Triticales: today and tomorrow*. Kluwer. Acad. Publ. Dordrecht: 225 — 232.
- Warzecha R., Salak-Warzecha K., Staszewski Z. 1998. Development and use of Triticales CMS system in hybrid breeding. Proc. of the 4th Intern. Triticale Symp. Red Deer, Alberta, Canada, July 26–31, 1998: 79 — 85.
- Warzecha R., Salak-Warzecha K. 2002. Hybrid triticales — prospects for research and breeding — Part II: Development of male sterile lines. In: Proc. 5th Int. Triticale Symp., IHAR Radzików, Poland, 30 June–5 July 2002, vol. I: 193 — 198.