

STEFAN STOJAŁOWSKI¹

MARTA ORŁOWSKA¹

MARTYNA SOBCZYK¹

ANNA BIENIAS¹

MARCIN BERDZIK¹

BEATA MYŚKÓW¹

HALINA GÓRAL²

MAGDALENA SIMLAT²

TOMASZ WARZECHA²

WOJCIECH WESOŁOWSKI³

MAREK SZKLARCZYK³

MIROSLAW POJMAJ⁴

¹ Katedra Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie

² Katedra Hodowli Roślin i Nasiennictwa, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie

³ Zakład Genetyki, Hodowli Roślin i Nasiennictwa, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie

⁴ DANKO Hodowla Roślin Sp. z o.o.

Kierownik Tematu: dr hab. Stefan Stojalowski prof. ZUT Katedra Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Słowackiego 17, 71-434 Szczecin, tel. 91 4496404, e-mail: stefan.stojalowski@zut.edu.pl

Prace zostały wykonane w ramach badań podstawowych na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej na podstawie decyzji Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi nr HOR.hn.802.13.2018, Zadanie 83.

Genetyczne podłoże męskiej sterylności pszenżyta z różnymi cytoplazmami oraz możliwość wykorzystania badanych cytoplazm do tworzenia systemów CMS u pszenicy

Genetic background of male sterility in triticale with different cytoplasm's and perspectives of it utilization for development of CMS system in wheat

Słowa kluczowe: cytoplazmatyczna męska sterylność, odmiany mieszańcowe, pszenżyto

WSTĘP

Pszenżyto jest syntetycznym gatunkiem uprawnym, który został stworzony przez człowieka. Jego popularność w produkcji rolniczej systematycznie rośnie. Wynika to z wielu zalet tego zboża. W hodowli komercyjnej duże nadzieje wiąże się z możliwością szerszego wdrożenia odmian mieszańcowych. Podstawą do zorganizowania produkcji nasiennej odmian heterozyjnych jest dostępność systemów cytoplazmatycznej męskiej sterility (CMS). W przypadku pszenżyta największe nadzieje na praktyczne wykorzystanie systemów CMS wiąże się z cytoplazmami *Triticum timopheevi* i *Aegilops sharonensis* (Cauderon i in., 1985; Nalepa, 1990; Spiss i Góral, 1994; Warzecha i Góral, 2009). Jako alternatywę można wskazać cytoplazmę Pampa pochodzącą z żyta (Geiger i Schnell, 1970) i cytoplazmę *Aegilops ventricosa*. Lokalizacja genów przywracających płodność u pszenżyta z wyżej wymienionymi cytoplazmami sterylizującymi jest słabo poznana. Dotychczasowe badania dotyczące głównych genów restorerowych wykazały, że w cytoplazmie *T. timopheevi* są one zlokalizowane na chromosomie 6R (Curtis i Lukaszewski, 1993; Stojalowski i in., 2013), natomiast w cytoplazmie Pampa znajdują się one na chromosomach 4R, 1R i 3R (Miedaner i in., 2000; Hackauf i in., 2012).

CELE ZADANIA

- Oceny fenotypowe męskiej płodności/sterylności w obrębie czterech populacji mapujących F₂ z cytoplazmami *T. timopheevi*, CMS-Pampa, *Ae. sharonensis* i *Ae. ventricosa* oraz konstrukcja map sprzężeń dla dwóch populacji.
- Analizy sekwencyjne mitochondrialnego DNA pszenżyta z cytoplazmami normalną (*T. aestivum*), sterylizującą *T. timopheevi* i Pampa.
- Wytworzenie i oceny fenotypowe zestawu linii alloplazmatycznych pszenżyta oraz testowanie wybranych rodów hodowlanych pod kątem zdolności do utrzymywania męskiej sterility i przywracania płodności w cytoplazmie *T. timopheevi*.

Badania nad kwitnieniem czterech populacji mapujących prowadzono na polu doświadczalnym Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie. Ocenę fenotypową przeprowadzono z zastosowaniem 5-stopniowej skali bonitacyjnej (Góral, 2002). W okresie prowadzenia badań zaobserwowano nietypowe dla tego regionu warunki pogodowe. Czas kwitnienia poprzedził około 4-tygodniowy okres bez opadów, a samo kwitnienie przebiegało w czasie suszy i przy wysokich temperaturach powietrza. W rezultacie, rośliny kwitły bardzo dynamicznie — czas kwitnienia był krótki, a pylniki bardzo szybko zasychały. Prawdopodobnie z tego powodu wizualna ocena pylenia uniemożliwiła wytypowanie w pełni płodnych osobników (5 stopień płodności), pomimo to ocena zawiązywania ziaren pod izolatorami była u wielu roślin wysoka. Tylko siedem roślin z populacji mapującej z cytoplazmą *T. timopheevi* zostało ocenionych wzrokowo jako w pełni męskopłodne. U pozostałych mieszańców takich ocen nie zaobserwowano, pomimo iż każda z populacji liczyła powyżej 170 ocenionych pojedynków.

Analizy DArTseq i PCR wykonano w obrębie dwóch populacji mapujących. Z każdej wybrano po 90 osobników. Mapy chromosomów w populacji [CMS-Baltiko P ×

DAD282/00] F₂ mają długość od 37 do 130 cM. Długości zmapowanych chromosomów mieszańca [CMS-Salvo 15/1 T × DAD282/00]F₂ mieszczą się w granicach od 33 cM do 112 cM. W trakcie analiz kilka grup sprzężeń zostało przypisanych do tych samych chromosomów, ale też nie wszystkie chromosomy pszenżyta zostały ujęte na mapach.

Dane sekwencyjne mtDNA uzyskano dla trzech cytoplazm, następnie złożono je w kontigi oraz skafoldy (złożenia wyższego rzędu). Uzyskano kilka alternatywnych układów złożonych sekwencji, Jest to rezultatem występowania w genomach mitochondrialnych sekwencji powtórzonych.

Wśród wytworzonych linii alloplazmatycznych rosnących i ocenianych fenotypowo na poletkach doświadczalnych w Krakowie, linia DAD 1 w każdej cytoplazmie była męskopłodna. Indeks restoracji zawierał się w granicach 70,0–95,0%. Linia Salvo 15 była w pełni męskosterylna. Pozostałe dwie linie wykazały specyficzną reakcję w zależności od rodzaju cytoplazmy. Linia Baltiko 1 była męskosterylna w cytoplazmie Pampa i męskopłodna w cytoplazmie *Ae. sharonensis*, natomiast linia Zorro 1 męskosterylna w cytoplazmach Pampa i *Ae. sharonensis* oraz męskopłodna w cytoplazmach *T. timopheevi* i *Ae. ventricosa*.

WNIOSKI

1. Stworzono mapy genetyczne dwóch populacji mapujących pokrywające większą część genomu pszenżyta.
2. W wyniku analiz bioinformatycznych uzyskano kilka alternatywnych wersji sekwencji mtDNA pszenżyta.
3. Cytoplazmy sterylizujące CMS-T, CMS-P, CMS-A i CMS-V mogą być wykorzystane do tworzenia stabilnych fenotypowo linii męskosterylnych pszenżyta.

LITERATURA

- Cauderon Y., Cauderon A., Gay G., Roussel J. 1985. Alloplasmic lines and nucleo-cytoplasmic interactions in triticale. In: Genetics and breeding of triticale, Eucarpia Meeting, Clermont-Ferrand, France. July 2–5, 1984. INRA, Paris: 177 — 191.
- Curtis C. A., Lukaszewski A. J. 1993. Localization of genes in rye that restore male fertility to hexaploid wheat with *T. timopheevi* cytoplasm. Plant Breeding 111: 106 — 112.
- Geiger H. H., Schnell F. W. 1970. Cytoplasmic male sterility in rye (*Secale cereale* L.). Crop Sci. 10: 590 — 593.
- Góral H. 2002. Biologiczno-hodowlane aspekty wykorzystania heterozji u pszenżyta (*x Triticosecale* Wittmack). Zeszyty Nauk. AR im. H. Kołłątaja w Krakowie, Rozprawy z. 283.
- Hackauf B., Korzun V., Wortmann H., Wilde P., Wehling P. 2012. Development of conserved ortholog set markers linked to the restorer gene Rfp1 in rye. Mol. Breeding 30: 1507 — 1518.
- 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.
- Nalepa S., 1990 Hybrid triticale: present and future. Proc. 2nd International Triticale Symposium, Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brasil, 1–5 October 1990: 402 — 407.
- Spiss L., Góral H. 1994. Breeding of male sterile and fertility restoring forms of triticale. Zesz. Nauk. AR Szczecin 162: 243 — 246.

- Stojałowski S., Bobrowska A., Hanek M., Myśków B. 2013. The importance of chromosomes from the sixth homeologic group in the restoration of male fertility in winter triticales with *Triticum timopheevii* cytoplasm. *J. Appl. Genetics* 54: 179 — 184.
- Warzecha T., Góral H. 2009. Otrzymywanie mieszańców z krzyżowań zwrotnych heksaploidalnej pszenicy z cytoplazmą *Aegilops sharonensis* z pszenżytem. W: *Genetyka i genomika w doskonaleniu roślin uprawnych*. B. Naganowska, P. Kachlicki, P. Krajewski (red.), Instytut Genetyki Roślin PAN w Poznaniu, ISBN 978-83-61607-36-6, ISSN 1230-0721:305-311.