

**IRENA KOLASIŃSKA**

Zakład Genetyki i Hodowli Roślin

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — Państwowy Instytut Badawczy w Radzikowie

## Identyfikacja donorów genów przywracających męską płodność u mieszańców żyta ze sterylizującą cytoplazmą Pampa

### Identification of gene donors for male fertility restoration in rye hybrids with Pampa cytoplasm

W latach 2009–2013 prowadzono badania, których celem była identyfikacja nowych restorerów, efektywnie działających w systemie CMS-Pampa, wśród genotypów żyta o różnym pochodzeniu oraz porównanie ich zdolności przywracania płodności w dwóch warunkach uprawy 2013 roku. Materiał badań stanowiły linie wsobne żyta pokolenia S<sub>2</sub>–S<sub>4</sub>, pochodzące z polskich odmian (R-pol), tureckich populacji (R-tur) i wytworzonych populacji hodowlanych (R-pop) oraz męskosterylny mieszańiec pojedynczy, jako tester trudny do przywrócenia płodności (CMS-Tt). Wykonano krzyżowanie linii wsobnych o różnym pochodzeniu (R-pol, R-pop, R-tur) 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 ocenę męskiej sterylności/płodności pojedynczych roślin. Następnie wyznaczono indeksy restoracji według wzoru:  $IR = \% \text{ roślin płodnych (\% mf)} + 1/2\% \text{ roślin częściowo płodnych (\% pmf)}$ . Badania wykazały bardzo niską frekwencję (średnio 3%) genotypów efektywnie przywracających płodność (IR ponad 70%) w cytoplazmie Pampa wśród linii wsobnych pochodzących z polskich populacji żyta. Znacznie większą zdolnością przywracania płodności i częstością (68%) efektywnych restorerów charakteryzowała się grupa linii wsobnych wyprowadzonych ze specjalnie wytworzonych populacji hodowlanych. Wysoką frekwencję efektywnych restorerów także stwierdzono w grupie genotypów wyprowadzonych z udziałem tureckich populacji miejscowych. Zidentyfikowano genotypy o różnym pochodzeniu, które w pełni przywróciły płodność pylników roślin mieszańców testowych ( $\% \text{ mf} = 100$ ) w obu warunkach uprawy 2013 roku. Pełne i stabilne restorery mogą być wykorzystane w badaniach genetycznych systemu CMS-Pampa oraz w programie hodowli odmian mieszańcowych żyta.

**Słowa kluczowe:** cytoplazma Pampa, hodowla odmian mieszańcowych, identyfikacja restorerów, męska sterylność, przywracanie męskiej płodności, żyto

The objective of this study was to identify effective male fertility restorers among rye genotypes developed from Polish varieties, Turkish landrace populations and specially created breeding populations. Restoring ability of numerous inbred lines developed from these groups of rye populations

were studied in the years 2009–2013. 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 scoring visually pollen shedding of plant plots and/or anther dehiscence of single plants in a 1–9 scale. The restoration indices (RI) were calculated according to the formula:  $RI = \% \text{ of male fertile (\% mf) plants} + 1/2\% \text{ of partially male fertile plants (\% pmf)}$ . Low frequency (mean 3%) of effective restorers (RI above 70%) was found among the inbred lines derived from Polish varieties. Majority of inbred lines of this group were only partial restorers. In contrast, the inbred lines developed from specially created breeding populations were highly effective in restoration of male fertility of their test hybrids (68%). Moreover, inbred lines derived from the Turkish landrace populations proved to be very effective restorers. Frequency of effective restorers among genotypes assessed in 2009 and 2010 was 48.3% and 82.3%, respectively. Several genotypes with different origins were able to restore completely pollen fertility of their test hybrids cultivated in plastic tunnels and in field conditions ( $IR = 100\%$ ;  $\% \text{ mf} = 100$ ). Introduction of these restoring gene donors into the father pool should result in improved male fertility in Pampa-based rye hybrids. Utilization of identified restoring gene donors in breeding programme of rye hybrids was discussed.

**Key words:** hybrid breeding, male sterility, Pampa cytoplasm, restorer identification, restoration of male fertility, rye

#### WSTĘP

Żyto ozime jest i pozostanie ważną gospodarczo rośliną zbożową w Polsce, ponieważ charakteryzuje się szeregiem korzystnych cech agronomicznych i możliwością różnorodnego wykorzystania ziarna oraz dobrym przystosowaniem do warunków glebowo-klimatycznych. W ostatnich latach wzrasta wykorzystanie ziarna żyta dla celów konsumpcyjnych, przemysłowych i bioenergetycznych. Ziarno żyta i produkty z niego wytworzone ze względu na właściwości prozdrowotne będą odgrywać ważną rolę w żywieniu ludności. Obecnie w Krajowym Rejestrze znajduje się 15 odmian mieszańcowych, które stanowią 40,5% wszystkich 37 odmian żyta ozimego (COBORU, 2013). Niestety tylko trzy z nich to odmiany krajowe: Stach, Gradan, Tur. Odmiany mieszańcowe budzą duże zainteresowanie hodowców i producentów ze względu na swoje niewątpliwe zalety, szczególnie dużą plenność i wyrównanie. W niektórych latach najlepsze odmiany mieszańcowe osiągają plon ziarna ponad 20% wyższy w porównaniu z wzorcowymi odmianami populacyjnymi (COBORU, 2013). Wyniki Porejestranych Doświadczeń Odmianowych i Rolniczych (PDOiR) prowadzonych w latach 2010–2012 wykazały, że odmiany mieszańcowe plonowały średnio o 18% lepiej niż odmiany populacyjne. Dodatkowym powodem zainteresowania hodowlą heterozyjną żyta jest aspekt ekonomiczny. Uprawa odmian mieszańcowych wiąże się z koniecznością corocznej wymiany materiału siewnego. Stąd odmiany mieszańcowe muszą być corocznie odtwarzane z komponentów rodzicielskich, będących w dyspozycji hodowcy, co stwarza możliwość pełnej ochrony jego interesów. Wszystkie odmiany mieszańcowe żyta, będące w Krajowym Rejestrze, zostały wytworzone z udziałem systemu męska sterylność — przywracanie płodności typu Pampa (CMS-Pampa) (Geiger i Schnell, 1970). Męska sterylność tego typu jest łatwa do zachowania, ponieważ genotypy dopełniające męską sterylność (non-restorer) często występują w populacjach żyta oraz stabilna w szerokim zakresie warunków uprawy w Europie (Geiger i in., 1995). Znaczne problemy stwarza natomiast pełne przywrócenie męskiej płodności odmianie mieszańcowej z cytoplazmą

Pampa. Wszystkie uprawiane odmiany mieszańcowe żyta wykazują niższy poziom męskiej płodności niż tradycyjne odmiany populacyjne (Stracke i in., 2003; Kolasińska, 2013, dane niepublikowane). Niepełna płodność tego typu odmian i związana z tym obniżona produkcja pyłku (Geiger i in., 1995), sprzyjają zakażeniu roślin zarodnikami sporyszu (*Claviceps purpurea* (Fr.) Tul.), szczególnie w warunkach zimnej i deszczowej pogody w okresie kwitnienia, co prowadzi do zanieczyszczenia ziarna żyta przetrwalnikami zawierającymi toksyczne alkaloidy (Geiger i Bausbck, 1979). Wymagania dotyczące niskiej zawartości przetrwalników sporyszu w handlowych partiach ziarna konsumpcyjnego i paszowego mogą prowadzić do wysokich kosztów czyszczenia ziarna. Niektóre firmy nasienne stosują 10% domieszkę ziarna odmiany populacyjnej do mieszańca handlowego, aby zapobiec ewentualnym negatywnym skutkom niewystarczającego pylenia roślin odmian mieszańcowych (Miedaner i in., 2005).

Głównym problemem w hodowli odmian mieszańcowych żyta prowadzonej z wykorzystaniem systemu CMS-Pampa jest zwiększenie poziomu męskiej płodności roślin mieszańcowych. Problem ten może być rozwiązany poprzez wyhodowanie komponentów ojcowskich (restorerów) efektywnie przywracających płodność pylników roślin mieszańców. Jest to jednak zadanie bardzo trudne, gdyż restorery muszą jednocześnie charakteryzować się wysoką zdolnością kombinacyjną i tworzyć z dostępnymi komponentami matecznymi mieszańce przewyższające odmiany wzorcowe poziomem plonowania i innych cech agronomicznych. Poprawienie tej cechy można osiągnąć poprzez znalezienie nowych donorów genów efektywnie przywracających płodność w cytoplazmie Pampa i wykorzystanie ich w programach hodowli komponentów ojcowskich. Genotypy przywracające męską płodność występują rzadko (od 1 do 5%) w europejskich populacjach żyta (Geiger i Morgenstern, 1975; Geiger i in., 1995). Ponadto ekspresja sterylności/płodności pylników w dużym stopniu zależy od warunków środowiska (Geiger i Miedaner, 1996) oraz od interakcji genotypu restorera z genotypem linii matecznej (Kolasińska, 2009). Dodatkowym utrudnieniem jest złożone genetyczne uwarunkowanie tej cechy u genotypów europejskiego pochodzenia, zakładające działanie dwóch (Madej, 1976), trzech (Scoles i Evans, 1979), a nawet czterech (Ruebenbauer i in., 1984) par genów. Intensywne poszukiwanie restorerów w egzotycznych źródłach plazmy zarodkowej pochodzących z Południowej Ameryki i Bliskiego Wschodu zaowocowało dodatkowymi źródłami genów przywracających płodność, tj. irańska prymitywna populacja Iran IX i argentyńska odmiana miejscowa Pico Gentario (Geiger i Miedaner, 1996). Badania nad przydatnością linii wyprowadzonych z tych egzotycznych populacji wykazały, że charakteryzują się one istotnie większą zdolnością przywracania płodności, wyższą środowiskową stabilnością, mniejszą zależnością od genotypu matecznego w porównaniu z obecnie używanymi europejskimi liniami (Geiger i Miedaner, 1996; Miedaner i in., 2005). Jednak wszystkie linie dotychczas wyprowadzone z tych egzotycznych populacji wykazują bardzo słabą wartość cech rolniczych (obniżoną liczbę i masę ziaren, podatność na wyleganie). Okazało się, że główne geny przywracania płodności (*Rfp1* i *Rfp2*) z Iran IX i Pico Gentario są silnie sprzężone z genami warunkującymi niekorzystne cechy rolnicze, a szczególnie wysokość roślin (Miedaner i in., 2000; Kociuba i Stojałowski, 2009). Wcześniejsze badania prowadzone w IHAR — PIB (Kolasińska, dane

niepublikowane) wykazały, że miejscowe populacje żyta pochodzące z Turcji charakteryzują się większą niż polskie populacje zdolnością przywracania męskiej płodności u mieszańców z cytoplazmą Pampa. Efektem prac nad wprowadzeniem genów restorujących z tureckich populacji do linii wsobnych wyprowadzonych z polskich populacji było uzyskanie linii wsobnych efektywnie przywracających męską płodność (Kolasińska, 2011).

Celem badań było zidentyfikowanie nowych restorerów, efektywnie działających w cytoplazmie Pampa, wśród genotypów żyta o różnym pochodzeniu oraz określenie ich zdolności przywracania męskiej płodności w 2013 roku.

#### MATERIAŁ I METODY

Materiał badań stanowiły następujące grupy genotypów żyta:

- linie wsobne pokolenia  $S_2$  (grupa 1) pochodzące z polskich odmian i rodów (R-pol),
- linie wsobne pokolenia  $S_2$  (grupa 2) wyprowadzone z populacji hodowlanych wytworzonych w wyniku krzyżowania różnych linii częściowo przywracających płodność (R-pop),
- linie wsobne pokolenia  $S_4$  (grupa 3) wyprowadzone z udziałem tureckich populacji miejscowych (R-tur),
- linie restorery pokolenia  $S_3$ – $S_4$  zidentyfikowane w w/w trzech grupach genotypów na podstawie wyników wstępnej oceny przywracania płodności,
- męskosterylny mieszaniec pojedynczy, jako CMS-tester trudny do przywrócenia płodności (CMS-Tt),
- mieszańce testowe wytworzone poprzez krzyżowanie CMS-Tt z liniami wsobnymi o różnym pochodzeniu: R-pol, R-pop, R-tur.

Linie wsobne żyta wytworzono w wyniku samozapyłania pojedynczych roślin wybranych odmian lub wytworzonych populacji hodowlanych przy użyciu izolatorów z tofianu. Linie wsobne grupy (R-tur) wyprowadzono poprzez samozapylenie pojedynczych roślin mieszańców wstecznych uzyskanych w wyniku krzyżowania linii wsobnej o dobrej wartości hodowlanej z tureckimi populacjami miejscowymi. W następnym etapie programu przeprowadzono ocenę linii  $S_1$  pod względem kilku cech agronomicznych na poletkach obserwacyjnych. Na podstawie uzyskanych wyników do dalszych badań wybrano około 10% najbardziej wartościowych genotypów.

Zdolność przywracania płodności wszystkich grup genotypów żyta określono poprzez krzyżowanie ich z tym samym męskosterylnym testerem trudnym do przywrócenia płodności (CMS-Tt) i ocenę męskiej płodności mieszańców testowych. Krzyżowanie linii wsobnych z męskosterylnym testerem wykonano ręcznie używając kilku pojedynczych roślin każdej linii. Nasiona wytworzonych mieszańców testowych wysiano na poletkach obserwacyjnych. Przeprowadzono wstępną ocenę zdolności przywracania płodności poprzez wizualną bonitację w skali 1–9° intensywności pylenia kłosów roślin mieszańców testowych na poletkach obserwacyjnych (Geiger i Morgenstern, 1975).

Poszukiwanie donorów genów restorujących, czyli genotypów o pełnej zdolności przywracania płodności, prowadzono wśród wartościowych linii wsobnych uznanych za restorery na podstawie wcześniejszych badań. W tym celu wykonano krzyżowanie testowe wstępnie wybranych genotypów z CMS-Tt w warunkach izolacji: kamery, kabiny, ściany izolacyjne oraz ocenę męskiej płodności potomstwa w tunelach foliowych i w polu. Przeprowadzono szczegółowe oznaczanie sterylności/płodności pojedynczych roślin mieszańców testowych metodą wizualnej bonitacji pylników w skali 1–9° (Morgenstern, 1983), przy czym 1 oznacza pylniki silnie zdegenerowane, puste i niepękające, a 9 pylniki normalnej wielkości, pękające i obficie pyłące. Rośliny oznaczone 1, 2, 3 sklasyfikowano jako męskosterylne [ms], rośliny 4, 5, 6 jako częściowo płodne [pmf], a rośliny 7, 8, 9 jako płodne [mf]. Ocenę prowadzono w pełni kwitnienia roślin na kilku kłosach 30–60 roślin każdego mieszańca. Następnie obliczono procentowy udział roślin o różnym stopniu męskiej płodności oraz wyznaczono indeksy restoracji według wzoru:  $IR = \% mf + 1/2\% pmf$ .

## WYNIKI

W latach 2009–2013 przeprowadzono wstępną ocenę zdolności przywracania płodności ogółem 1978 linii wsobnych pokolenia S<sub>2</sub> (grupa 1), pochodzących z polskich odmian i rodów żyta (tab. 1).

Tabela 1

**Frekwencja genotypów (%) o różnej zdolności przywracania płodności wśród linii wsobnych wyprowadzonych z polskich odmian i populacji hodowlanych w latach 2009–2013**  
**Frequency of genotypes with various restoring ability among inbred lines developed from Polish varieties and breeding populations in 2009–2013**

Rok Year	Liczba genotypów Number of genotypes	Pylenie w skali bonitacyjnej 1–9 Pollen shedding in 1–9 scale				
		1–3	>3–4	>4–5	>5–6	>6
2009	495	12,1	28,2	30,0	24,5	5,2
2010	614	10,6	47,9	31,1	8,3	2,1
2011	341	18,2	51,8	23,5	5,3	1,2
2013	528	8,5	26,5	30,0	32,0	3,0
<b>Razem — Total</b>	<b>1978</b>	<b>12,4</b>	<b>38,6</b>	<b>28,7</b>	<b>17,5</b>	<b>2,9</b>
<b>Średnio — Average</b>						
2012*	355	8,2	16,0	22,0	33,5	20,3

\* — Populacja hodowlana o zwiększonej częstości genów restorujących; Breeding population with higher frequency of restoring genes

Stwierdzono, że przeważająca większość spośród nich w niewielkim stopniu przywróciła męską płodność mieszańców testowych. Stopień pylenia większości mieszańców testowych mieścił się w granicach ponad 3 do 5. Mieszańce takie stanowiły od 56,5% (2013 rok) do 79% (2010 rok) ogólnej liczby ocenianych obiektów. Udział mieszańców wykazujących pylenie roślin ponad 5 stopni był zróżnicowany i wynosił od 6,5% w 2011 roku do 35% w 2013 roku. Wśród badanych linii wsobnych niewielka była frekwencja genotypów, których mieszańce miały płodność pylników ponad 6 stopni. Takie linie efektywnie przywracające płodność mieszańców stanowiły od 1,2% (2011 rok) do 5,2%

(2009 rok). W 2012 roku testowano zdolność przywracania płodności 355 linii wsobnych (grupa 2), wyprowadzonych z populacji hodowlanych wytworzonych w wyniku krzyżowania różnych linii częściowo restorujących (R-pop). Wśród linii tej grupy zidentyfikowano znacznie wyższą liczbę genotypów przywracających płodność niż wśród linii wsobnych grupy 1. I tak frekwencja genotypów, których mieszańce miały płodność ponad 5 i ponad 6 stopni wynosiła odpowiednio 53,8% i 20,3%.

W okresie 2009–2013 prowadzono także poszukiwanie genotypów całkowicie przywracających płodność pylników roślin mieszańców testowych, które mogłyby stanowić donory genów restorujących w programie hodowli komponentów ojcowskich. Poszukiwanie takich genotypów prowadzono głównie wśród linii, które znacząco przywróciły płodność mieszańców testowych we wcześniejszych badaniach. W tym celu przeprowadzono szczegółową ocenę sterility/płodności pylników pojedynczych roślin mieszańców testowych uzyskanych poprzez krzyżowanie ogółem 400 linii z CMS-Tt (tab. 2).

Tabela 2

**Frekwencja restorerów wśród genotypów pochodzących z polskich odmian i populacji hodowlanych w warunkach polowych w latach 2009–2013**  
**Frequency of restorers among inbred lines developed from Polish varieties and breeding populations in 2009–2013**

Rok Year	Liczba genotypów** Number of genotypes	Udział (%) restorerów Frequency (%) of restorers		
		IR >70	IR >90	IR = 100%
2009	94	9,6	0	0
2010	85	10,5	2,4	0
2011	71	11,8	4,2	1,4
2012	73	17,5	9,6	2,7
2013*	77	68,8	48,1	13,0

\* — Populacja hodowlana o zwiększonej częstości genów restorujących; Breeding population with higher frequency of restoring genes

\*\* — Oceniono 20–40 roślin każdego genotypu; 20–40 plants of each genotype were screened

Stwierdzono, że frekwencja genotypów efektywnie i w pełni przywracających płodność była zróżnicowana w poszczególnych grupach testowanych linii. Genotypy o indeksie restoracji ponad 70% stanowiły od 9,6% do 68,8%, odpowiednio w latach 2009 i 2013. Frekwencja genotypów o IR ponad 90% wynosiła od 0 do 48,1% w poszczególnych grupach obiektów. W efekcie badań wyodrębniono genotypy całkowicie przywracające płodność mieszańców testowych, czyli genotypy o indeksie restoracji wynoszącym 100%. Te pełne restorery płodności były nieliczne w grupach genotypów, pochodzących z polskich odmian, ocenianych w 2011 i 2012 roku. Najwyższą frekwencją pełnych restorerów (IR = 100%) wynoszącą 13%, wyróżniła się grupa genotypów wyprowadzonych z populacji hodowlanych. Ponadto prawie połowa (48%) linii tej grupy wykazała indeks restoracji ponad 90%, a większość (68,8%) miała indeks restoracji ponad 70%. W latach 2009–2010 przeprowadzono także ocenę zdolności przywracania płodności ogółem 239 linii wsobnych pokolenia S<sub>4</sub> wyprowadzonych z udziałem tureckich populacji miejscowych (tab. 3). W tej grupie linii wsobnych zidentyfikowano znacznie więcej

restorerów niż wśród linii wyprowadzonych z polskiej populacji żyta. Genotypy o indeksie restoracji ponad 70% stanowiły 48,3% i 82,3%, odpowiednio w latach 2009 i 2010. Zidentyfikowano także znaczącą liczbę pełnych restorerów płodności (IR = 100%), które stanowiły 30% i 50% linii testowanych, odpowiednio w 2009 i 2010. W kolejnych latach przeprowadzono ocenę cech rolniczych 114 linii wyróżniających się zdolnością przywracania płodności. W efekcie tych badań wybrano 4 pełne restorery, pochodzące z różnych odmian miejscowych, charakteryzujące się zadawalającym poziomem cech rolniczych. Wśród tych restorerów wyróżnia się linia LTR 28 wykazująca pełną i stabilną zdolność restoracji oraz zadawalający poziom cech rolniczych.

Tabela 3

**Frekwencja restorerów wśród genotypów wyprowadzonych z udziałem miejscowych populacji tureckich w latach 2009–2012**  
**Frequency of restorers among inbred lines developed from Turkish populations in 2009–2012**

Rok Year	Liczba genotypów Number of genotypes	Udział (%) restorerów Frequency (%) of restorers	
		IR >70	IR = 100%
2009	109	48,3	30,0
2010	130	82,3	50,0
2011	114	ocena wartości <i>per se</i> assessment of the <i>per se</i> value	wybrano 8 linii 8 lines were chosen
2012	8	ponowna ocena zdolności restoracji i wartości <i>per se</i> re-assessment of restoring ability and the <i>per se</i> value	wybrano 4 linie 4 lines were chosen

W wyniku przeprowadzonych badań zgromadzono wartościowe restorery płodności o różnym pochodzeniu, które można wykorzystywać w programie hodowli odmian mieszańcowych żyta. W 2013 roku przeprowadzono porównanie ich zdolności przywracania płodności poprzez ocenę sterylności/płodności pylników ich mieszańców testowych w polu (tab. 4) i w tunelach foliowych (tab. 5). Spośród linii wsobnych wyprowadzonych z polskiej populacji żyta w warunkach polowych zidentyfikowano 12 genotypów efektywnie przywracających płodność (63,2%). Linie te miały indeks restoracji ponad 70%, a trzy z nich nawet ponad 90%. Jednak ocena sterylności/płodności pylników roślin mieszańców rosnących w tunelu foliowym potwierdziła wysoką zdolność restoracji tylko jednego genotypu (IR = 77,6%). Indeks restoracji pozostałych genotypów mieścił się w granicach 18,8–67,1%. Wszystkie cztery linie wyprowadzone z udziałem tureckich odmian okazały się efektywnymi restorerami (IR ponad 70%) w warunkach polowych. Jedna linia LTR 28 wyróżniła się pełną i stabilną zdolnością restoracji, gdyż jej potomstwo zawierało 100% płodnych roślin w obu warunkach uprawy. Pozostałe trzy restorery trochę słabiej przywróciły płodność mieszańców w tunelu foliowym niż w polu. Przeważająca większość genotypów wyprowadzonych z wytworzonych populacji hodowlanych (grupa 2) charakteryzowała się wysoką zdolnością przywracania płodności w obu warunkach uprawy. Indeks restoracji wynoszący ponad 70% stwierdzono w polu u prawie wszystkich genotypów (94,9%), a w tunelu foliowym u 87,2% genotypów tej grupy. Ponadto genotypy o IR ponad 90% stanowiły około 65% wszystkich linii testowanych w obu warunkach uprawy. Pełnymi i stabilnymi restorerami okazało się 10 genotypów tej grupy (25,6%),

gdyż wszystkie rośliny ich mieszańców testowych były całkowicie płodne (%mf = 100) w obu warunkach uprawy.

Tabela 4

**Liczba i procentowy udział restorerów w poszczególnych grupach genotypów w warunkach polowych 2013 roku**

**Number and frequency of restorers among genotype groups in field in 2013**

Pochodzenie genotypów Origin of genotypes	Liczba ogółem Total number	Indeks restoracji (%) — Restorer index (%)					
		ponad 70 — above 70		ponad 90 — above 90		100	
		liczba number	%	liczba number	%	liczba number	%
Polskie odmiany Polish varieties	19	12	63,2	3	15,8	0	0
Populacje hodowlane Breeding populations	39	37	94,9	25	64,1	10	25,6
Tureckie populacje Turkish populations	4	4	100,0	3	75,0	1	25,0
<b>Razem — Total</b> <b>Średnio — Average</b>	<b>62</b>	<b>53</b>	<b>85,5</b>	<b>31</b>	<b>50,0</b>	<b>11</b>	<b>17,7</b>

Tabela 5

**Liczba i częstość występowania restorerów w poszczególnych grupach genotypów w tunelach foliowych 2013 roku**

**Number and frequency of restorers among genotype groups in plastic tunnels in 2013**

Pochodzenie genotypów Origin of genotypes	Liczba ogółem Total number	Indeks restoracji (%) — Restorer index (%)					
		ponad 70 — above 70		ponad 90 — above 90		100	
		liczba number	%	liczba number	%	liczba number	%
Polskie odmiany Polish varieties	19	1	5,3	0	0,0	0	0
Populacje hodowlane Breeding populations	39	34	87,2	26	66,7	10	25,6
Tureckie populacje Turkish populations	4	2	50,0	1	25,0	1	25,0
<b>Razem — Total</b> <b>Średnio — Average</b>	<b>62</b>	<b>37</b>	<b>59,7</b>	<b>27</b>	<b>43,5</b>	<b>11</b>	<b>17,7</b>

Badania wykazały, że w tunelach foliowych wystąpiły mniej korzystne warunki niż w polu do wykształcenia się płodnych ziaren pyłku z powodu zbyt wysokiej temperatury (około 35°C) panującej w niektóre dni okresu poprzedzającego kwitnienie. Większość genotypów grupy 1 i 3 charakteryzowała się wyższą zdolnością przywracania płodności w warunkach polowych niż w tunelach (tab. 4, tab. 5). W warunkach polowych indeks restoracji i udział roślin płodnych były średnio o 12,1% i 17,5% wyższe niż w tunelach. Największe różnice poziomu przywrócenia płodności wystąpiły w grupie genotypów pochodzących z polskich populacji żyta. Indeks restoracji i udział roślin płodnych były średnio o 28,1% i 41,1% wyższe w polu niż w tunelach. W warunkach polowych indeks restoracji ponad 70% stwierdzono u 63,2% genotypów, a w tunelu tylko u jednego z nich (5,3%). Genotypy wyprowadzone z udziałem tureckich odmian także wykazały wyższą



zdolność restoracji w polu niż w tunelu foliowym. U tej grupy genotypów indeks restoracji i udział roślin płodnych były średnio wyższe w polu niż w tunelach odpowiednio o 21% i 35,7%. W warunkach polowych wszystkie cztery genotypy miały indeks restoracji powyżej 70%. W tunelu foliowym natomiast tylko dwa z nich wykazały zbliżoną efektywność działania. Większość linii wyprowadzonych z populacji hodowlanych (grupa 2) charakteryzowała się wysoką i stabilną zdolnością przywracania płodności w obu warunkach uprawy. Indeks restoracji i udział roślin płodnych miały zbliżone wartości w polu i w tunelach (różnica 3–4%). Genotypy o IR ponad 70% stanowiły 94,9 i 87,2%, odpowiednio w polu i w tunelach. Warunki tuneli foliowych nie wpłynęły niekorzystnie na działanie genotypów prawie całkowicie (IR>90%) i całkowicie (IR = 100%) przywracających płodność pylników roślin mieszańców testowych. Na uwagę zasługuje 10 genotypów tej grupy (25,6%), które całkowicie przywróciły płodność wszystkim roślinom mieszańców testowych (%mf = 100) w obu warunkach uprawy.

#### DYSKUSJA WYNIKÓW

Przeprowadzone badania potwierdzają dotychczasowe stwierdzenia o niskiej frekwencji genotypów efektywnie przywracających płodność w europejskich populacjach żyta (Geiger i Morgenstern, 1975; Geiger i in., 1995). Badania te jednocześnie wskazują na możliwość znalezienia lub wytworzenia innych źródeł genów restorujących. Okazało się, że rolę tę mogą spełniać odmiany miejscowe żyta z Turcji, które mogą być lepszym źródłem genów *Rf* niż egzotyczne populacje z Argentyny i Bliskiego Wschodu (Geiger i Miedaner, 1996; Miedaner i in., 2005). W efekcie przedstawionych badań wybrano 4 efektywne restorery, pochodzące z różnych tureckich odmian miejscowych, charakteryzujące się zadawalającym poziomem cech rolniczych. Na uwagę zasługuje szczególnie linia LTR 28 wykazująca pełną i stabilną zdolność restoracji oraz zadawalający poziom cech agronomicznych. Natomiast wszystkie linie dotychczas wyprowadzone z egzotycznych populacji wykazują bardzo słabą wartość cech rolniczych, a szczególnie obniżoną liczbę i masę ziaren oraz podatność na wyleganie. Okazało się, że główne geny przywracania płodności (*Rfp1* i *Rfp2*) z Iran IX i Pico Gentario są silnie sprzężone z genami warunkującymi niekorzystne cechy rolnicze, a szczególnie wysokość roślin (Miedaner i in., 2000; Kociuba i Stojałowski, 2009). To sprzężenie wyraźnie utrudnia przeniesienie tych genów restorujących do puli genowej komponenta ojcowskiego, ponieważ wymaga znacznego zwiększenia wielkości populacji krzyżowań wstecznych, potrzebnej do selekcji na przywrócenie płodności i cechy rolnicze (Miedaner i in., 2005). Badania wykazały, że efektywne restorery z powodzeniem można wytworzyć w programie hodowlanym dzięki kumulacji różnych genów przywracających płodność w wyniku krzyżowania zróżnicowanych, wartościowych genotypów oraz zastosowania skutecznej metody ich identyfikacji. Potwierdzeniem tej tezy są genotypy wyprowadzone z populacji hodowlanych (grupa 2), uzyskanych w wyniku krzyżowania różnych linii przywracających płodność. Te populacje hodowlane okazały się cennym źródłem wartościowych restorerów płodności, gdyż większość (69%) wyprowadzonych z nich linii wsobnych miała indeks restoracji ponad 70%. Ponadto prawie połowa linii (48%) wykazała indeks restoracji ponad

90%, a 10 linii (13%) wytworzyło mieszańce, których wszystkie rośliny były całkowicie płodne (IR = 100%). W wyniku przeprowadzonych badań zgromadzono wartościowe restorery płodności o różnym pochodzeniu, które można wykorzystywać w programie hodowli odmian mieszańcowych żyta. Ponadto zidentyfikowano 11 genotypów całkowicie przywracających płodność pylników roślin mieszańców testowych w tunelach foliowych i w polu. Najwięcej (10) takich pełnych i stabilnych restorerów (IR = 100%, % mf = 100) wyodrębniono spośród genotypów wyprowadzonych z populacji hodowlanych o zwiększonej częstości genów restorujących. Dodatkowo jeden taki genotyp o zadawalającym poziomie cech agronomicznych (LTR 28) zidentyfikowano wśród linii uzyskanych z udziałem tureckich populacji. Takie genotypy o pełnej i stabilnej zdolności przywracania płodności oraz dobrej wartości *per se* mogą stanowić donory genów restorujących w programie hodowli komponentów ojcowskich mieszańców żyta.

Przeprowadzone badania wykazały, że uprawa w tunelach foliowych była mniej korzystna dla ekspresji płodności pylników niż uprawa w polu. Rośliny większości mieszańców testowych charakteryzowały się niższą płodnością pylników w warunkach tuneli foliowych niż w warunkach polowych. Różnice te były znaczące szczególnie u mieszańców z częściowo przywróconą płodnością, a takie mieszańce przeważały wśród wytworzonych z udziałem polskich populacji. We wcześniejszych badaniach natomiast stwierdzono, że wyższym poziomem płodności charakteryzowały się mieszańce uprawiane w tunelach niż w polu (Kolasińska, 2009). Te sprzeczne wnioski są wynikiem różnych warunków, a szczególnie temperatury, panujących w tunelach foliowych w 2009 roku i w 2013 roku. W okresie pomiędzy kłoszeniem a kwitnieniem roślin w 2013 roku często obserwowano znacznie wyższą temperaturę powietrza (około 35°C) w porównaniu z analogicznym okresem w 2009 roku. Niektórzy autorzy, jak Scoles i Evans (1979) obserwowali lepsze przywrócenie płodności w temperaturze 20/15°C i 25/20°C niż 15/10°C. Sage (1976) także stwierdził, że temperatura 20°C sprzyjała ekspresji genów restorujących, ale zbyt wysoka temperatura obniżała poziom przywrócenia płodności. Przeprowadzone badania wykazały ścisły związek pomiędzy płodnością mieszańców uprawianych w polu i w tunelach. Korelacja pomiędzy płodnością pylników w polu i w tunelach była wysoka i istotna na poziomie  $\alpha = 0,01$ . Współczynniki korelacji dla procentowego udziału roślin płodnych i dla indeksu restoracji wynosiły odpowiednio 0,84\*\* i 0,87\*\*. We wcześniejszych badaniach (Kolasińska, 2009) także stwierdzono istotną wysoką korelację pomiędzy płodnością mierzoną indeksem restoracji w warunkach pola i tuneli ( $r = 0,92^{**}$ ). Istnienie ścisłego związku pomiędzy wynikami płodności pylników w tych dwóch warunkach uprawy pozwala na zwiększenie zakresu i efektywności prac w tej dziedzinie.

WNIOSKI

1. Stwierdzono bardzo niską frekwencję (średnio 3%) efektywnych restorerów płodności w cytoplazmie Pampa wśród linii wsobnych pochodzących z polskich populacji żyta.
2. Wysoką frekwencję restorerów (68%) stwierdzono natomiast w grupie genotypów wyprowadzonych z wytworzonych populacji hodowlanych o zwiększonej częstości genów restorujących.
3. Wśród linii wyprowadzonych z udziałem tureckich populacji stwierdzono znacznie wyższą frekwencję genotypów efektywnie przywracających płodność niż wśród linii pochodzących z polskich populacji i wyodrębniono cztery restorery o zadawalającym poziomie cech agronomicznych.
4. Zidentyfikowano genotypy o różnym pochodzeniu, które w pełni przywróciły płodność pylników roślin mieszańców testowych (% mf = 100) w obu warunkach uprawy.
5. Stwierdzono występowanie istotnej wysokiej korelacji pomiędzy wynikami oceny płodności pylników mieszańców testowych w tunelach foliowych i w polu, co pozwala na znaczne zwiększenie zakresu i efektywności prac w tej dziedzinie.
6. Pełne i stabilne restorery mogą być wykorzystane w badaniach genetycznych systemu CMS-Pampa oraz w programie hodowli odmian mieszańcowych żyta.

LITERATURA

- COBORU. 2013. Syntezy wyników doświadczeń rejestrowych. Zboża ozime 2012, zeszyt 108: 112 — 130.
- Geiger H. H., Bausback G. A. 1979. Untersuchungen über die Eignungspollensterilen Roggens zur parasitischen Mutterkornzeugung. Z. Pflanzenzüchtg. 83, 2: 163 — 175.
- Geiger H. H., Miedaner T. 1996. Genetic basis and phenotypic stability of male-fertility restoration in rye. Vortr. 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. and 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. 2009. Genetyczno-hodowlane aspekty wykorzystania systemu CMS-Pampa w hodowli heterozyjnej żyta. Monografie i Rozprawy Naukowe nr 31, IHAR Radzików.
- Kolasińska I. 2011. Identyfikacja genotypów przywracających płodność mieszańców z cytoplazmą Pampa wśród linii wsobnych żyta o różnym pochodzeniu. Biul. IHAR 260/261: 241 — 249.
- 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.
- PDOiR 2013. Wyniki Porejstrowych Doświadczeń Odmianowych, Zboża 2010-2012: 33 — 42.
- 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.
- Sage G. C. M. 1976. Nucleo-cytoplasmic relationships in wheat. Adv. Agron. 28: 267 — 300.
- 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.
- Stracke S., Schilling A. G., Forster J., Weiss C., Glass C., Miedaner T., Geiger H. H. 2003. Development of PCR-based markers linked to dominant genes for male-fertility restoration in Pampa CMS of rye (*Secale cereale* L.) Theor. Appl. Genet. 106, 7: 1184 — 1190.