

PRZEŁAMYWANIE BARIER PREZYGOTYCZNYCH W KRZYŻOWANIACH ODDALONYCH *Brassica*

*Andrzej Wojciechowski, Błażej Springer, Małgorzata Pieśkiewicz,
Janetta Maślankiewicz*

Katedra Genetyki i Hodowli Roślin,
Akademia Rolnicza im A. Cieszkowskiego w Poznaniu

Wstęp

W obrębie rodzaju *Brassica* istnieją zarówno gatunki dzikie, jak i uprawne, które posiadają wiele genów warunkujących wartościowe cechy użytkowe. Uprawiany powszechnie *B. napus* wymaga udoskonalenia i cel ten zamierza się osiągnąć między innymi poprzez krzyżowanie oddalone.

W przypadku krzyżowania oddalonego występują dość często bariery uniemożliwiające otrzymanie mieszańców. Do jednych z nich należą tzw. „bariery prezygotyczne”, które można w niektórych przypadkach pokonać stosując różne sposoby zapylania. Celem niniejszej pracy była ocena skuteczności różnych sposobów zapyleń w krzyżowaniu 3 gatunków *Brassica*.

Materiał i metody

W krzyżowaniu oddalonym użyto rośliny z gatunków *B. napus* (odmiana 'Lisek'), ($2n = 4x = 38$), *B. campestris* ($2n = 2x = 20$) i *B. fruticulosa* ($2n = 2x = 16$). Na materiale tym wykonano obserwacje dotyczące wpływu sposobu zapylania na kiełkowanie ziaren pyłku na znamieniu słupka i wnikania łągiewek pyłkowych w poszczególne części słupka, przy zastosowaniu 4 wariantów zapylania: A – na znamię, B – na szyjkę w miejscu odcięcia znamienia, C – na szyjkę odciętą w połowie, D – na załącznię. Obserwacje wykonano przy użyciu mikroskopu fluorescencyjnego analizując słupki z diallelicznego krzyżowania gatunków oraz słupki po samo- i obcozapyleniu roślin wewnątrz gatunków. Ze względu na 4 różne warianty zapylania, ocenę samozgodności i zgodności krzyżowej przeprowadzono ostatecznie na podstawie obserwacji łągiewek w załączni. Ilość kiełkujących łągiewek pyłkowych oceniano w przyjętej 5-stopniowej skali, gdzie: 0 – brak łągiewek, 4 – największa ich ilość.

Wyniki

Ocena zgodności przy samo- i obcozapyleniu

Naniesienie pyłku na różne części słupka spowodowało różną intensywność kiełkowania łagiewek pyłkowych (tab. 1). Generalnie, przy obcozapyleniu łagiewki docierały do zalążni szybciej w porównaniu z samozapyleniem. Wśród 3 analizowanych gatunków najbardziej pod tym względem wyróżniał się rzepak (*B. napus*), gdzie przy obcozapyleniu już po 6 godzinach obserwowano łagiewki w zalążni przy wszystkich wariantach zapylenia.

Tabela 1; Table 1

Stopień* kiełkowania łagiewek pyłkowych w zalążni trzech gatunków *Brassica* po ich samo- i obcozapyleniu przy czterech wariantach zapylenia**

Degree* of the pollen tube germination in the ovary of three *Brassica* species after their self- and cross-pollination at four pollination variants**

Gatunek Species	Czas po zapyleniu (godz.); Time after pollination (h)	Samozapylenie Self-pollination				Obcozapylenie Cross-pollination			
		A	B	C	D	A	B	C	D
<i>B. napus</i>	6	0,0	0,0	0,0	0,7	0,5	0,5	2,0	0,1
	12	0,1	0,0	2,3	0,5	2,3	1,4	2,5	0,0
	24	0,6	2,5	2,5	0,3	0,5	1,6	1,1	2,4
	48	0,3	1,3	0,0	2,5	0,0	2,3	1,0	1,7
<i>B. campestris</i>	6	0,0	0,0	0,0	2,1	0,0	0,0	0,5	0,9
	12	1,2	0,0	0,8	2,3	0,0	0,3	0,4	0,2
	24	0,0	0,2	1,8	0,3	0,7	1,5	3,2	2,3
	48	0,0	0,0	0,0	0,2	1,9	1,1	0,2	0,0
<i>B. fruticulosa</i>	6	0,0	0,0	1,6	0,2	0,0	0,0	0,7	2,1
	12	0,0	0,2	1,5	0,4	0,7	0,2	0,7	2,8
	24	0,2	0,5	0,2	0,0	1,7	0,8	0,2	1,7
	48	2,5	1,6	0,7	0,0	0,0	0,9	0,5	0,8

* – stopień w skali; degree in the scale: 0 – brak łagiewek; no pollen tubes, 4 – największa liczba łagiewek; the largest number of pollen tubes

** – cztery warianty zapylenia; variants of pollination: A – na znamię; on the stigma, B – na szyjkę po odcięciu znamienia; on the style after cutting off the stigma, C – na szyjkę odciętą w połowie; on the style cut off in half, D – na zalążnię; on the ovary

Ocena zgodności krzyżowej

W krzyżowaniu diallelicznym *B. napus*, *B. campestris* i *B. fruticulosa* obserwowano różny stopień zgodności krzyżowej w zależności od kierunku krzyżowania, wariantu zapylenia i zestawu krzyżowanych gatunków (tab. 2). W kombinacjach krzyżowań uwzględniających *B. napus* obserwowano większą zgodność krzyżową, gdy gatunek ten użyto jako formę męską, tak w przypadku krzyżowań z *B. campestris*, jak i *B. fruticulosa*. Podobne zależności obserwowano w krzyżowaniu *B. fruticulosa* z *B. campestris*, gdzie wyższa zgodność

wystąpiła w krzyżowaniach, w których formę mateczną stanowiły rośliny *B. fruticulosa*.

Tabela 2; Table 2

Stopień* kiełkowania łagiewek pyłkowych w zalążni po diallelicznym krzyżowaniu trzech gatunków *Brassica* przy czterech wariantach zapylenia**

Degree* of pollen tube germination in the ovary after diallel crossing of three *Brassica* species at four pollination variants**

Czas po zapyle (godz.); Time after pollination (h)	Kombinacja krzyżowania i wariant zapylenia Cross combination and variant of pollination							
	A	B	C	D	A	B	C	D
	<i>B. napus</i> × <i>B. campestris</i>				<i>B. napus</i> × <i>B. fruticulosa</i>			
6	1,3	1,4	0,0	0,0	0,5	2,0	0,6	2,0
12	1,1	2,7	2,7	1,5	0,4	1,7	0,2	0,7
24	2,3	1,0	0,1	2,8	2,1	1,8	0,8	2,6
48	2,4	2,7	2,7	2,7	1,3	1,9	1,5	2,0
<i>B. campestris</i> × <i>B. napus</i>				<i>B. campestris</i> × <i>B. fruticulosa</i>				
6	0,0	0,2	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0
12	2,3	2,3	0,9	1,0	1,0	1,2	2,0	0,0
24	0,7	0,3	2,0	0,7	1,5	0,2	0,0	0,0
48	0,0	1,5	0,0	2,5	0,0	3,4	0,0	0,0
<i>B. fruticulosa</i> × <i>B. napus</i>				<i>B. fruticulosa</i> × <i>B. campestris</i>				
6	0,8	1,1	0,0	0,7	0,8	0,0	0,0	1,3
12	1,0	2,2	1,3	0,7	2,0	1,3	2,1	1,7
24	0,2	0,0	0,3	2,3	0,2	0,6	2,3	2,5
48	0,9	0,0	2,0	2,5	0,5	2,0	0,0	3,0

* – stopień w skali; degree in the scale: 0 – brak łagiewek; no pollen tubes, 4 – największa liczba łagiewek; the largest number of pollen tubes

** – cztery warianty zapylenia; variants of pollination: A – na znamię; on the stigma, B – na szyjkę po odcięciu znamienia; on the style after cutting off the stigma, C – na szyjkę odciętą w połowie; on the style cut off in half, D – na zalążni; on the ovary

Dyskusja

Według NETTANCOURIA i in. [1974] międzygatunkowa niezgodność jest określana jako proces występujący po zapyle, który uniemożliwia powstanie mieszańcowej zygoty łączącej genomy dwóch płodnych rodziców. Reakcja międzygatunkowej niezgodności u większości gatunków może wystąpić na znamieniu lub w szyjce. LEWIS i CROWE [1958] podają, że uwarunkowania i sposób przejawiania się mechanizmów międzygatunkowej niezgodności zlokalizowanych w szyjce są takie same w przypadku niezgodności gametofitycznej, jak i sporofitycznej. Według ww. autorów oraz SAMPSONA [1962] najbardziej charakterystyczną cechą tego typu niezgodności jest to, że występuje ona dość często jednokierunkowo. Łagiewki pyłkowe pewnych samozgodnych gatunków

(SC) są hamowane w szyjce samoniezgodnych gatunków (SI), ale krzyżowania odwrotne są zgodne. Podobne zależności obserwowali również WOJCIECHOWSKI [1985] i WOJCIECHOWSKI i in. [1996] oraz autorzy prezentowanej pracy, którzy zaobserwowali większą intensywność kiełkowania łagiewek pyłkowych w przypadku gdy np. *B. napus* był formą mateczną, a dwie pozostałe formy użyto jako rośliny ojcowskie.

Przeprowadzone różne warianty zapyleń 3 gatunków *Brassica* wykazały, że pyłek posiada zdolność do kiełkowania, tak przy nanoszeniu go na znamię nienaruszonego słupka, jak i na różne jego części. *B. napus* należy do form o sporofitycznym systemie niezgodności [THOMPSON, TAYLOR 1971; RICHARDS, Thurling 1973; PANDEY 1975; ZUBERI i in. 1981] i mechanizm blokujący kiełkowanie łagiewek umiejscowiony jest na znamieniu. Podobnie sporofityczny system niezgodności wykazują pozostałe dwa gatunki analizowane w niniejszej pracy, jak i wszystkie gatunki powiązane z „trójkątem U” [U 1935]. Stąd też zapylanie innych części słupka stanowi możliwość pokonania trudności w otrzymaniu mieszańców, wynikających z niemożności kiełkowania pyłku na znamieniu.

Wnioski

Na podstawie obserwacji kiełkowania łagiewek pyłkowych można sądzić, że krzyżowane gatunki *Brassica* wykazują jednokierunkową niezgodność. Zatem w krzyżowaniach *B. napus*, *B. campestris* i *B. fruticulosa* na formy mateczne należy przeznaczać rośliny z gatunków *B. napus* i *B. campestris*.

Literatura

- LEWIS D., CROWE L.K. 1958. *Unilateral interspecific incompatibility in flowering plants*. Heredity 12: 233–256.
- NETTANCOURT D., DE DEWREUX M., LANERI U., CRESTI M., PACINI F., SARFATI E. 1974. *Genetical and ultrastructural aspects of self- and cross-incompatibility in interspecific hybrids between self-compatible *Lycopersicon esculentum* and self-incompatible *Lycopersicon peruvianum**. Theor. Appl. Genet. 44: 278–288.
- PANDEY K.K. 1975. *Model for incompatibility determination in flowering plants*. Incomp. Newsletter 6: 70–73.
- RICHARDS R.A., THURLING N. 1973. *The genetics of self-incompatibility in *B. campestris* L. ssp. *oleifera* Metzg. II. Genotypic and environmental modification of S locus control*. Genetica 44: 439–453.
- SAMPSON D.R. 1962. *Intergeneric pollen-stigma incompatibility in the Cruciferae*. Can. J. Genet. Cytol. 4: 38–49.
- THOMPSON K.F., TAYLOR J.P. 1971. *Self-incompatibility in kale*. Heredity 27/3: 459–471.
- U N. 1935. *Genome analysis in Brassica with special reference to the experimental formation of *B. napus* and peculiar mod of fertilization*. Japan. J. Bot. 7: 389–452.
- WOJCIECHOWSKI A. 1985. *Interspecific hybrids between *Brassica campestris* L. and *B. oleracea* L. I. Effectiveness of crossing, pollen tube growth, embryogenesis*. Genet. Pol. 26: 423–436.

WOJCIECHOWSKI A., OLEJNICZAK J., ADAMSKA E. 1996. *Evaluation of crossability of *Cuphea Lanceolata* and *C. viscosissima* based on pollen tube growth and seed set.* J. Appl. Genet. 37/3: 277–284.

ZUBERI M.I., ZUBERI S., LEWIS D. 1981. *The genetic of incompatibility in Brassica. I. Inheritance of self-incompatibility in *B. campestris* L. v. *Toria*.* Heredity 46/1: 175–190.

Słowa kluczowe: samoniezgodność, łagiewki pyłkowe, fluorescencja, zapylenie

Streszczenie

W prezentowanej pracy wykonano ocenę możliwości pokonywania barier prezygotycznych w krzyżowaniach diallelicznych trzech gatunków *Brassica*. Podstawą tej oceny były obserwacje kiełkowania łagiewek pyłkowych przy użyciu mikroskopu fluorescencyjnego. Obserwacje kiełkowania łagiewek pyłkowych wykonano na słupkach pochodzących z obcozapylenia trzech gatunków wyjściowych, tj. *B. napus*, *B. fruticulosa* i *B. campestris* oraz na słupkach pochodzących z diallelicznego krzyżowania gatunków wyjściowych. Dla pełniejszego wyjaśnienia możliwości pokonywania barier prezygotycznych zastosowano 4 warianty zapyleń, tj.: A – na znamię, B – na szyjkę w miejscu odcięcia znamienia, C – na szyjkę odciętą w połowie, D – na załącznię.

Przeprowadzone różne warianty zapyleń 3 gatunków *Brassica* wykazały, że pyłek posiada zdolność do kiełkowania, tak przy nanoszeniu go na znamię nienaruszonego słupka, jak i na różne jego części.

W związku z tym, że *B. napus* należy do form o sporofitycznym systemie niezgodności, u których mechanizm blokujący kiełkowanie łagiewek umiejscowiony jest na znamieniu, zapylenie na inne części słupka stanowi możliwość pokonania trudności w otrzymywaniu mieszańców, a które wynikają z niemożności kiełkowania pyłku na znamieniu.

OVERCOMING THE PRE-ZYGOTIC BARIERS IN WIDE CROSSINGS WITHIN *Brassica*

Andrzej Wojciechowski, Błażej Springer, Małgorzata Pieśkiewicz,
Janetta Maślankiewicz

Department of Genetics and Plant Breeding, Agricultural University, Poznań

Key words: self-incompatibility, pollen tubes, fluorescence, pollination

Summary

The possibilities of overcoming of pre-zygotic barriers in diallel crosses of three *Brassica* species were tested. Evaluation was done on the basis of pollen tube observations under fluorescence microscope. The observations of pollen tubes germination were conducted on the pistils obtained after cross-pollination of three parental species i.e. *B. napus*, *B. fruticulosa* and *B. campestris* and on the

pistils after diallel crosses of these three species. To get better explanation concerning pre-zygotic barriers, 4 pollination variants were applied; A – on the stigma, B – on the style after cutting off the stigma, C – on the style cut off in half, D – on the ovary. Different pollination variants of three *Brassica* species, carried out in this experiment, showed germination possibility of pollen grain on different parts of the pistil. As *B. napus* belongs to the group of plants with sporophytic system of incompatibility, where blocking mechanism is present on the stigma, pollination conducted on the other parts on the pistil gave a chance to overcome difficulties in obtaining hybrids.

Prof. dr hab. Andrzej **Wojciechowski**
Katedra Genetyki i Hodowli Roślin
Akademia Rolnicza im. A. Cieszkowskiego
Wojska Polskiego 71c
60-625 POZNAŃ
e-mail: ajwoj@au.poznan.pl