

Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
ul. Akademicka 15, 20-950 Lublin
e-mail: maria.chrzastek@up.lublin.pl

MARIA CHRZĄSTEK, KATARZYNA GŁĘBOCKA

**Ocena mieszańców międzygatunkowych F₃
Avena sativa L. × *Avena sterilis* L. pod względem
stabilności cytogenetycznej i niektórych
cech plonotwórczych**

The estimation of the F₃ interspecific hybrids *Avena sativa* L. × *Avena sterilis* L.
with regard to cytogenetic stability and selected yielding traits

Streszczenie. Obiektem badań były mieszańce międzygatunkowe F₃ *Avena sativa* L. × *Avena sterilis* L. oraz odmiany mateczne. Mieszańcowy charakter potomstwa otrzymanego z krzyżowań potwierdzono za pomocą markerów RAPD. Wszystkie genotypy oceniano pod względem stabilności cytogenetycznej, analizując zachowanie się chromosomów w metafazie I i anafazie I, frekwencję mikrojąder w tetradach oraz żywotność pyłku. Nie stwierdzono poważnych zakłóceń w koniugacji i segregacji chromosomów oraz w formowaniu się tetrad u mieszańców, a żywotność pyłku u testowanych form przekraczała 98%. Mieszańce były różnicowane pod względem większości analizowanych cech plonotwórczych, co umożliwia selekcję wartościowych genotypów dla hodowli twórczej owsa.

Słowa kluczowe: *Avena sativa* L., *Avena sterilis* L., cechy plonotwórcze, mieszańce międzygatunkowe, RAPD, stabilność cytogenetyczna

WSTĘP

Owies zwyczajny *Avena sativa* L. wyróżnia się spośród roślin zbożowych bardzo wąską pulą genową. Wiele prac badawczych skupia się na poszukiwaniu, wytwarzaniu i wprowadzaniu obcej zmienności do form uprawnych owsa. Najczęściej stosowaną metodą przenoszenia pożądanych genów są krzyżowania międzygatunkowe i międzyrodzajowe. Potencjalnym źródłem korzystnych genów są gatunki dzikie z rodzaju *Avena*. Obca zmienność nie zawsze jest wystarczająco dostępna dla hodowców ze względu na

silne bariery genetyczne oddzielające formy dzikie od uprawnych [Stalker 1980, Loskutov 2002]. Niska efektywność krzyżowań odległych taksonomicznie form wynika głównie z różnego poziomu ploidalności i braku homologii genomów [Rajhathy i Thomas 1974]. Uzyskane nasiona mieszańcowe są często źle wykształcone, słabo kiełkują, a rośliny są mało żywotne i sterylne. Nowoczesne metody biotechnologiczne, m.in. transgeneza i kultury *in vitro*, w dużym stopniu ułatwiają pokonywanie tych przeszkód.

Według literatury naukowej do krzyżowań oddalonych spośród form dzikich najczęściej wykorzystuje się heksaploidalny gatunek *Avena sterilis* L., który ze względu na podobną konstrukcję genomową (AACDD) stosunkowo dobrze krzyżuje się z owsem zwyczajnym [Rajhathy i Thomas 1974, Loskutov 2001, 2002]. Gatunek ten charakteryzuje się bardzo dużym zróżnicowaniem ekotypów pod względem morfologicznym, odporności na biotyczne i abiotyczne stresy środowiskowe oraz składu chemicznego ziarniaków, głównie zawartości białka i tłuszczu.

Celem pracy było potwierdzenie mieszańcowego charakteru populacji uzyskanych w wyniku krzyżowań *A. sativa* L. × *A. sterilis* L., określenie ich stabilności cytogenetycznej w oparciu o analizę wybranych stadiów mejozy oraz ocena zróżnicowania mieszańców pod względem niektórych cech plonotwórczych.

MATERIAŁ I METODY

Obiektem badań były mieszańce międzygatunkowe F₃ *A. sativa* L. × *A. sterilis* L. uzyskane w wyniku krzyżowania odmian uprawnych: Arab, Bachmat, Borowiak i Jawor z ekotypami *A. sterilis* L. (AVE 941, CN 25748, AVE 2068) oraz formy maticzne. Wszystkie mieszańce otrzymano w 2012 r. w Instytucie Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. Formy dzikie pochodziły z banków genów w Gatersleben (Niemcy) i Saskatoon (Kanada).

DNA mieszańców i form rodzicielskich izolowano z kilkudniowych koleoptyli według zmodyfikowanej metody Doyle i Doyle [1990]. Wszystkie próby rozcieńczano do jednakowego stężenia 20 ng/μl. Reakcję RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) przeprowadzono według zmodyfikowanej metody Williamsa i in. [1990]. W skład mieszaniny reakcyjnej o objętości 15 μl wchodziły: 1 × bufor do PCR (10 mM Tris pH 8,8; 50 mM KCl; 0,08% Nonidet P40) (Fermentas, Litwa); 100 μM każdego dNTP; 300 nM startera; 2,5 mM MgCl₂; 60 ng genomowego DNA; 0,5 U *Taq* DNA Polymerase (Fermentas, Litwa). Reakcje amplifikacji prowadzono w termocyklerze Thermocycler Biometra®. Stosowano następujący profil termiczny: wstępna denaturacja przez 2 min w 95°C; 45 cykli: 94°C – 45 s, 37°C – 45 s, 72°C – 45 s; końcowa elongacja 72°C – 10 min. Produkty reakcji rozdzielano na 1,5% żelu agarozowym z dodatkiem bromku etyldyny przez 2 godziny przy napięciu 120 V. Wielkość fragmentów DNA oceniano, porównując je z markerem wielkości GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder Plus (Fermentas, Litwa) po podświetleniu żelu na transiluminatorze UV.

W odpowiedniej fazie wegetacji z pięciu roślin każdej kombinacji mieszańcowej i formy maticznej pobrano młode wiechy do analizy mejozy oraz dojrzałe pylniki do badania żywotności pyłku. Bezpośrednio po pobraniu próby utrwalano w roztworze Carnoya (alkohol etylowy 96% i lodowaty kwas octowy w stosunku 3 : 1). Preparaty rozmazowe wykonywano w kropli 2% acetokarminu. W 100 komórkach macierzystych

pyłku (KMP) każdej formy obserwowano koniugację i segregację chromosomów, natomiast frekwencję mikrojąder oceniano w 3000 tetrad. Żywotność pyłku każdej formy macecznej i mieszańcowej określano na podstawie obserwacji pod mikroskopem stopnia wypełnienia cytoplazmą około 3000 ziarn pyłku. Do pyłku nieżywotnego klasyfikowano ziarna pozbawione cytoplazmy lub wypełnione w niewielkim stopniu. Pomiar 100 ziarn pyłku każdego genotypu wykonano przy powiększeniu 10 × 40, stosując okular mikroskopowy z podziałką i mikrometr przedmiotowy.

W stadium dojrzałości pełnej zebrano losowo po 30 wiech głównych z każdego genotypu do oceny niektórych cech plonotwórczych. Określono średnią długość wiechy i liczbę kłosek, liczbę i masę ziarniaków, średnią płodność kłoska oraz masę tysiąca ziarniaków. Opracowanie statystyczne wyników przeprowadzono, używając programu Statistica 6. Najmniejsze istotne różnice obliczono testem Tukeya na poziomie istotności $\alpha = 0,05$. Zmienność badanych cech ilościowych w obrębie poszczególnych form określano, obliczając współczynnik zmienności (CV%).

WYNIKI I DYSKUSJA

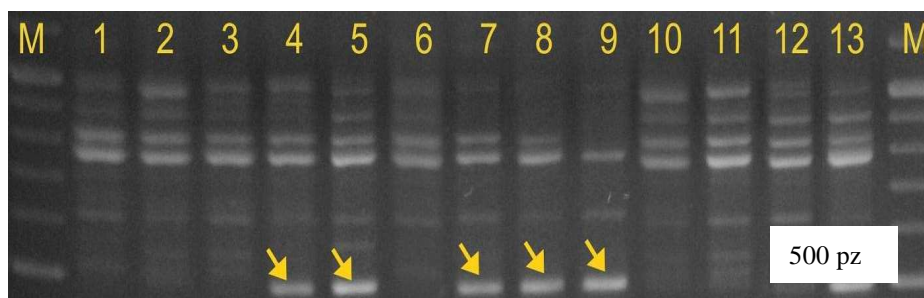
W programach hodowlanych opartych na krzyżowaniach niezmiernie ważna jest szybka identyfikacja genotypów mieszańcowych. Obecnie bardzo często wykorzystuje się w tym celu markery molekularne [Schulman 2007, Kumar in. 2009]. Metoda RAPD była z powodzeniem stosowana wielokrotnie do wykazania mieszańcowego pochodzenia populacji uzyskanych z krzyżowań międzygatunkowych w obrębie rodzaju *Avena* [Paczos-Grzęda 2003a, Chrzęstek i Paczos-Grzęda 2003].

Spśród 30 testowanych w pracy starterów RAPD wybrano cztery, które uczestniczyły w amplifikacji produktów potwierdzających mieszańcowy charakter potomstwa otrzymanego w wyniku różnych kombinacji krzyżowań *A. sativa* × *A. sterilis*. Poszukiwane fragmenty DNA były powielane u mieszańców i form ojcowskich, natomiast nie występowały u odmian macecznych. Każdy z produktów: D07¹⁰⁰⁰, L02⁵⁰⁰ oraz V15⁷⁰⁰ był charakterystyczny tylko dla pojedynczych mieszańców (tab. 1), natomiast obecność fragmentu SE231⁵⁰⁰ stwierdzono u trzech form mieszańcowych (fot. 1). Dla każdej kombinacji uzyskano po jednym z poszukiwanych produktów.

Tabela 1. Produkty RAPD potwierdzające mieszańcowy charakter kombinacji *Avena sativa* L. × *Avena sterilis* L.

Table 1. RAPD products confirmed hybrid character of *Avena sativa* L. × *Avena sterilis* L. combinations

Kombinacja mieszańcowa Hybrid combination	Produkty DNA DNA products
'Jawor' × AVE 941	D07 ¹⁰⁰⁰
'Borowiak' × AVE 941	SE231 ⁵⁰⁰
'Arab' × CN 25748	SE231 ⁵⁰⁰
'Borowiak' × CN 25748	SE231 ⁵⁰⁰
'Bachmat' × AVE 2068	L02 ¹⁵⁰⁰
'Borowiak' × AVE 2068	V15 ⁷⁰⁰



Fot. 1. Produkty PCR uzyskane w wyniku amplifikacji z użyciem startera RAPD SE 231. Strzałkami oznaczono produkt SE 231⁵⁰⁰ potwierdzający mieszańców. M – marker wielkości, 1 – ‘Jawor’, 2 – ‘Jawor’ × AVE 941, 3 – ‘Borowiak’, 4 – ‘Borowiak’ × AVE 941, 5 – AVE 941, 6 – ‘Arab’, 7 – ‘Arab’ × CN 25748, 8 – ‘Borowiak’ × CN 25748, 9 – CN 25748, 10 – ‘Bachmat’, 11 – ‘Bachmat’ × AVE 2068, 12 – ‘Borowiak’ × AVE 2068, 13 – AVE 2068

Fot. 1. PCR products obtained from amplification with the primer RAPD SE 231. Arrows indicate product SE 231⁵⁰⁰ confirmed hybrid nature. M – marker of size, 1 – ‘Jawor’, 2 – ‘Jawor’ × AVE 941, 3 – ‘Borowiak’, 4 – ‘Borowiak’ × AVE 941, 5 – AVE 941, 6 – ‘Arab’, 7 – ‘Arab’ × CN 25748, 8 – ‘Borowiak’ × CN 25748, 9 – CN 25748, 10 – ‘Bachmat’, 11 – ‘Bachmat’ × AVE 2068, 12 – ‘Borowiak’ × AVE 2068, 13 – AVE 2068

Ważnym czynnikiem determinującym możliwość wykorzystania mieszańców międzygatunkowych w hodowli twórczej jest ich stabilność cytotogenetyczna. Zachowanie się chromosomów w kolejnych stadiach mejozy wpływa na żywotność gamet i ich zdolność do zapłodnienia. O zaburzeniach metafazy I świadczy obecność w komórkach macierzystych pyłku uniwalentów i układów multiwalentnych. Niewłaściwa segregacja chromosomów może prowadzić do zmian w ich strukturze i liczbie, co może skutkować utrzymywaniem się niestabilności cytotogenetycznej w kolejnych pokoleniach. Według McMullena i in. [1982] zaburzenia te mogą również ograniczać crossing-over, co utrudnia przełamywanie sprzężeń pomiędzy genami i spowalnia selekcję form o pożądanym cechach.

W większości komórek badanych w pracy odmian matecznych obserwowano głównie biwalentną koniugację chromosomów. Tworzyły one najczęściej biwalenty w postaci pierścieni, a ich średnia liczba wahała się od 18,68 w cv. Jawor do 19,91 w cv. Borowiak. W odmianach Bachmat i Jawor sporadycznie występowały uniwalenty (tab. 2). Zmienną częstotliwość uniwalentów w 12 odmianach owsa uprawnego obserwowali również Baptista-Giacomelli i in. [2000]. Chromosomy mieszańców międzygatunkowych tworzyły znacznie więcej biwalentów otwartych w porównaniu z formami matecznymi. Średnia liczba biwalentów w postaci prętów wahała się od 1,86 (‘Borowiak’ × AVE 2068) do 2,91 (‘Jawor’ × AVE 941). W komórkach metafazowych obserwowano średnio od 0,02 (‘Bachmat’ × AVE 2068) do 0,28 (‘Borowiak’ × CN 25748) uniwalentów. Wyższą frekwencję uniwalentów (0,77/KMP) stwierdzili McMullen i in. [1982] w pokoleniu F1 mieszańców *A. sativa* × *A. sterilis*. Podobne zachowanie się chromosomów owsa w metafazie I świadczące o ich biwalentnej koniugacji obserwowali wcześniej Rajhathy i Thomas [1972], Thomas i Al-Ansari [1988], Joshi i Howard [1995], Sheidai i in. [2003].

We wszystkich analizowanych odmianach rodzicielskich i mieszańcach stwierdzono zaburzenia segregacji chromosomów w anafazie I. Negatywnie wyróżniała się odmiana Bachmat, u której na jedną komórkę anafazową przypadało średnio 0,289 mostów chromatydowych i 0,066 chromosomów opóźnionych (tab. 2). Według McMullena i in. [1982] obecność mostów chromatydowych w anafazie I jest skutkiem zjawiska crossing-over zachodzącego pomiędzy strukturalnie zrearanżowanymi segmentami chromosomów, źródłem chromosomów opóźnionych są zaś uniwalenty występujące w metafazie I. W zdecydowanej większości badanych mieszańców stwierdzono więcej mostów chromatydowych i chromosomów opóźnionych niż w odmianach matecznych. Najmniej regularnym przebiegiem anafazy I charakteryzowała się kombinacja 'Borowiak' × CN 25748, u której w komórce obserwowano średnio 0,255 chromosomów opóźnionych i 0,283 mostów chromatydowych. Najwyższą frekwencję mostów chromatydowych (0,330/KMP) stwierdzono u mieszańców 'Borowiak' × AVE 941. U mieszańców tych jako jedynych spośród analizowanych kombinacji nie obserwowano opóźniania się chromosomów. W badanych przez McMullena i in. [1982] mieszańcach F₁ *A. sativa* × *A. sterilis* na komórkę przypadało od 0,55 do 1,79 chromosomów opóźnionych.

Tabela 2. Wybrane stadia mejozy u mieszańców F₃ *Avena sativa* L. × *Avena sterilis* L. i form matecznych

Table 2. Some meiosis stages of F₃ hybrids *Avena sativa* L. × *Avena sterilis* L. and maternal forms

Odmiany mateczne/ Mieszańce Maternal varieties/ Hybrids	Metafaza I Metaphase I			Anafaza I Anaphase I		Tetrydy Tetrads	
	bivalenty bivalents		średnia liczba uniwalen- tów mean number of univa- lents	średnia liczba mostów chromaty- dowych mean number of chromatid bridges	średnia liczba chromosomów opóźnionych mean number of lagging chromosomes	% tetrad bez mikrojąder % tetrads without micronuclei	średnia liczba mikrojąder w tetradzie mean number of micronuclei per tetrad
	średnia liczba pierścieni mean number of rings	średnia liczba prętów mean number of rods					
<i>Avena sativa</i> L.							
'Arab'	19,61	1,39	0,00	0,006	0,010	98,93	0,003
'Borowiak'	19,02	1,98	0,00	0,006	0,011	99,54	0,028
'Bachmat'	19,08	1,92	0,00	0,007	0,005	99,47	0,004
'Jawor'	19,69	1,31	0,00	0,006	0,005	98,64	0,003
<i>Avena sativa</i> L. × <i>Avena sterilis</i> L.							
'Arab' × CN 25748	18,69	2,28	0,160	0,162	0,027	89,10	0,181
'Borowiak' × CN 25748	18,11	2,78	0,220	0,215	0,152	97,28	0,052
'Bachmat' × AVE 2068	19,01	1,92	0,140	0,182	0,054	98,79	0,138
'Borowiak' × AVE 2068	19,12	1,84	0,080	0,296	0,056	98,14	0,036
'Borowiak' × AVE 941	19,31	1,63	0,120	0,097	0,012	99,52	0,010
'Jawor' × AVE 941	18,52	2,44	0,080	0,150	0,067	98,46	0,020

Tabela 3. Żywotność i wymiary ziarn pyłku mieszańców F₃ *Avena sativa* L. × *Avena sterilis* L. i form matecznychTable 3. Viability and size of pollen grains of hybrids F₃ *Avena sativa* L. × *Avena sterilis* L. and maternal forms

Formy mateczne/ Mieszańce Maternal forms/ Hybrids	Pylek żywotny Viable pollen (%)	Pylek nieżywotny Unviable pollen (%)		Wymiary ziarn pyłku Size of pollen grains (µm)			
	Całkowicie wypełniony cytoplazmą Fully filled up with cytoplasm	Częściowo wypełniony cytoplazmą Partly filled up with cytoplasm	Pusty Not filled up with cytoplasm	Średnia długość Mean length	Zakres Range	Średnia szerokość Mean width	Zakres Range
<i>Avena sativa</i> L.							
'Arab'	98,20	1,53	0,27	53,37	51,36–54,96	45,55	46,08–45,12
'Borowiak'	99,17	0,73	0,10	54,15	52,80–55,68	44,64	45,12–44,16
'Bachmat'	99,70	0,37	0,37	60,62	58,08–62,16	52,99	54,96–50,40
'Jawor'	98,70	1,16	0,14	56,31	54,48–58,80	47,95	50,16–46,32
<i>Avena sativa</i> L. × <i>Avena sterilis</i> L.							
'Arab' × CN 25748	98,89	0,23	0,88	55,70	49,59–64,35	49,86	41,92–58,53
'Borowiak' × CN 25748	99,39	0,09	0,52	55,18	48,58–61,38	46,85	42,50–57,99
'Bachmat' × AVE 2068	98,97	0,15	0,88	56,10	49,58–52,37	48,06	43,52–55,61
'Borowiak' × AVE 2068	98,97	0,71	1,02	54,52	48,57–59,40	47,68	42,51–58,01
'Borowiak' × AVE 941	98,82	0,53	0,65	57,66	47,57–62,37	50,34	37,44–58,14
'Jawor' × AVE 941	98,88	0,40	0,72	54,41	49,59–59,40	49,09	43,50–54,56

Zaburzenia koniugacji i segregacji chromosomów mogą prowadzić do powstawania mikrojąder w tetradach. Z badań, jakie przeprowadzili Babbista-Giacomelli in. [2000] wynika, że część mikrojąder jest eliminowana z tetrad w procesie mikrosporogenezy. Według McMullena i in. [1982] istnieje korelacja pomiędzy występowaniem uniwalentów w metafazie I i chromosomów opóźnionych w anafazie I a liczbą mikrojąder w tetradach. W analizowanych materiałach nie zawsze obserwowano taką zależność. W odmianach matecznych tetrazy z mikrojądrami stanowiły mniej niż 1%, a ich frekwencja wahała się od 0,001 do 0,010 (tab. 2). We wszystkich populacjach mieszańcowych z wyjątkiem kombinacji 'Bachmat' × AVE 2068 stwierdzono większą częstotliwość mikrojąder w tetradach w porównaniu z odmianami rodzicielskimi. Na jedną tetradę u mieszańców przypadało od 0,004 mikrojąder w kombinacji 'Bachmat' × AVE 2068 do 0,052 w roślinach kombinacji 'Borowiak' × CN 25748.

W mieszańcach oddalonych obserwuje się często obniżoną żywotność pyłku, co wpływa negatywnie na płodność roślin i ogranicza możliwości ich wykorzystania w hodowli. Analizowane populacje mieszańcowe charakteryzowały się wysokim poziomem żywotności pyłku. Udział ziarn pyłku całkowicie wypełnionych cytoplazmą zawierał się w przedziale od 98,27% u mieszańców 'Borowiak' × AVE 2068 do 99,39% w kombinacji 'Borowiak' × CN 25748 (tab. 3). W trzech kombinacjach mieszańcowych obserwowano mniej żywotnego pyłku niż u komponentów matecznych. Gatunki i odmiany owsa różnią się pod względem wielkości i kształtu ziarn pyłku, a cechy te wykazują korelację z poziomem ploidalności [Gornall 1977, Katasiotis i Forsberg 1995, Chrząstek i in. 2004]. Kształt ziarn pyłku owsa jest z reguły eliptyczny. Średnia długość ziarna pyłku analizo-

wanych mieszańców *A. sativa* × *A. sterilis* zawierała się w przedziale od 54,41 do 57,66 μm, średnia szerokość zaś wahała się od 46,85 do 50,34 μm. Większość mieszańców wytwarzała pyłek o większych wymiarach niż odmiany mateczne. Ziarna pyłku mieszańców z wyjątkiem kombinacji 'Bachmat' × AVE 2068 były pod względem kształtu bardziej zbliżone do kulistego niż w odpowiedniej formie matecznej.

Tabela 4. Wartości średnie niektórych cech plonotwórczych wiechy głównej mieszańców międzygatunkowych F₃ *Avena sativa* L. × *Avena sterilis* L.

Table 4. Mean values of some yielding traits of main panicle interspecific hybrids F₃ *Avena sativa* L. × *Avena sterilis* L.

Kombinacja mieszańcowa Hybrid combination	Długość wiechy Panicle length (cm)	Liczba kłosek Number of spikelets	Liczba ziarniaków Number of kernels	Masa ziarniaków Weight of kernels (g)	Płodność kłoska Fertility of spikelet	Masa 1000 ziarniaków 1000 kernels weight (g)
'Arab' × CN 25748	16,4 a	12,2 a	31,7 a	0,92 a	2,6 d	28,47 ab
'Borowiak' × CN 25748	22,3 b	29,3 bc	62,3 bc	1,89 b	2,20 cd	31,89 b
'Bachmat' × AVE 2068	21,6 b	36,7 c	58,8 bc	1,54 ab	1,62 ab	26,91 ab
'Borowiak' × AVE 2068	21,6 b	36,9 c	64,6 c	1,76 b	1,75 abc	27,20 ab
'Borowiak' × AVE 941	17,0 a	17,4 ab	33,9 ab	1,01 a	1,96 bc	29,09 ab
'Jawor' × AVE 941	19,5 ab	35,3 c	53,4 abc	1,27 ab	1,46 a	24,57 a

Średnie w obrębie każdej cechy oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie przy $\alpha = 0,05$. Means within every trait marked with the same letters do not differ significantly at $\alpha = 0.05$.

Analizowane mieszańce *A. sativa* × *A. sterilis* różniły się istotnie między sobą pod względem niektórych cech wiechy głównej. Średnia długość wiechy u mieszańców wahała się od 16,4 do 22,3 cm (tab. 4). Kombinacje mieszańcowe 'Arab' × CN 25748, 'Borowiak' × AVE 941 i 'Jawor' × AVE 941 wytwarzały wiechę istotnie krótszą od pozostałych form mieszańcowych. Najwyższy współczynnik zmienności tej cechy (24,83%) stwierdzono w populacji mieszańcовой 'Borowiak' × AVE 941, w pozostałych grupach mieszańców wskaźnik ten nie przekraczał 20% (tab. 5). Podobnie małe zróżnicowanie długości wiechy głównej w obrębie mieszańców międzygatunkowych owsa obserwowali Chrząstek i in. [2010] oraz Paczos-Grzęda [2003b].

Z długością wiechy najczęściej dodatnio skorelowana jest liczba kłosek [Petr i Frey 1966, Chae i Forsberg 1975]. U większości analizowanych mieszańców również występowała taka zależność. Poszczególne kombinacje mieszańcовой wytwarzały średnio od 12,2 do 36,9 kłoska w wieszce głównej (tab. 4). W formach 'Arab' × CN 25748 i 'Borowiak' × AVE 941 stwierdzono istotnie mniej kłosek w wieszce w porównaniu z pozostałymi mieszańcami. Najwięcej kłosek wytwarzała wiecha mieszańców 'Borowiak' × AVE 2068. We wszystkich kombinacjach mieszańcowych stwierdzono duże zróżnicowanie międzyosobnicze pod względem analizowanej cechy. Współczynnik zmienności wynosił od 36,08% ('Bachmat' × AVE 2068) do 66,17% ('Borowiak' × AVE 941). W obrębie testowanych wcześniej przez Chrząstek i in. [2010] mieszańców *A. sativa* × *A. sterilis* wartość tego współczynnika wahała się od 27,47 do 62,51%, natomiast dla *A. sativa* × *A. fatua* była mniejsza i wynosiła od 18,30 do 48,58%.

Tabela 5. Współczynniki zmienności V (%) dla niektórych cech plonotwórczych wiechy głównej mieszańców międzygatunkowych F₃ *Avena sativa* L. × *Avena sterilis* L.

Table 5. Variability coefficients V (%) for some yielding traits of main panicle interspecific hybrids F₃ *Avena sativa* L. × *Avena sterilis* L.

Kombinacja mieszańcowa Hybrid combination	Długość wiechy Panicle length (cm)	Liczba kłosek Number of spikelets	Liczba ziarniaków Number of kernels	Masa ziarniaków Weight of kernels (g)	Płodność kłoska Fertility of spikelet	Masa 1000 ziarniaków 1000 kernels weight (g)
'Arab' × CN 25748	17,46	52,69	52,91	57,06	19,06	11,05
'Borowiak' × CN 25748	15,43	63,43	62,69	49,09	33,45	22,41
'Bachmat' × AVE 2068	19,79	36,08	39,86	38,65	21,28	22,74
'Borowiak' × AVE 2068	17,44	40,77	47,46	53,10	24,84	25,77
'Borowiak' × AVE 941	24,83	66,17	81,78	86,06	41,64	20,13
'Jawor' × AVE 941	14,13	52,10	68,98	64,38	20,27	16,42

Mieszańce kombinacji 'Arab' × CN 25748 zawiązywały w porównaniu z pozostałymi najmniej ziarniaków w wieszce głównej (31,7) o najniższej masie (0,92 g) (tab. 4). Pod względem liczby ziarniaków w wieszce pozytywnie wyróżniały się mieszańce 'Borowiak' × AVE 2068 (64,6), natomiast największą masą ziarniaków charakteryzowała się wiecha główna kombinacji mieszańcовой 'Borowiak' × CN 25748 (1,89 g). Zmienność liczby ziarniaków w obrębie populacji mieszańcowych wahała się od 39,86% do 81,78%, a zmienność masy – od 38,65% do 86,06% (tab. 5). Wysokie współczynniki zmienności dla tych cech uzyskiwały także cytowane wcześniej Chrząstek i in. [2010]. Wartość tego parametru sięgała 56% w przypadku liczby oraz 67% w przypadku masy ziarniaków.

Wartość użytkowa odmiany uprawnej w dużym stopniu jest determinowana średnią płodnością kłoska. Dla hodowli najbardziej wartościowe są formy zawiązujące w kłoskach 2 ziarniaki w kwiatach pierwszo- i drugorzędowych. Mają one z reguły większą masę i zawierają mniej plewki w porównaniu z ziarniakami z kwiatów trzeciorzędowych [Takeda i Frey 1980, Pałagyi 1983]. W badanych formach mieszańcowych średnia płodność kłoska była bardzo zróżnicowana i wahała się od 1,46 u mieszańców 'Jawor' × AVE 941 do 2,6 u mieszańców 'Arab' × CN 25748 (tab. 4). Najwyższy współczynnik zmienności dla tej cechy równy 41,64% stwierdzono dla roślin w obrębie populacji 'Borowiak' × AVE 941, natomiast najbardziej jednorodna była kombinacja 'Arab' × CN 25748 (19,06%).

Testowane formy mieszańcowe różniły się pod względem masy tysiąca ziarniaków, która wahała się od 24,57 g do 31,89 g. Istotne różnice stwierdzono pomiędzy kombinacją mieszańców 'Jawor' × AVE 941 o najniższej MTZ i mieszańcami 'Borowiak' × CN 25748, w której stwierdzono największą wartość tej cechy. Obserwowano małą zmienność cechy wewnątrz poszczególnych populacji mieszańców. Współczynnik zmienności wahał się od 11,05% ('Arab' × CN 25748) do 25,77% ('Borowiak' × AVE 2068).

WNIOSKI

1. Metoda RAPD może być z powodzeniem stosowana do identyfikacji mieszańców międzygatunkowych owsa.

2. Zachowanie się chromosomów w anafazie I i metafazie I, niska frekwencja mikrojąder w tetradach oraz wysoki poziom żywotności pyłku świadczą o wysokiej stabilności cyto-genetycznej analizowanych mieszańców.

2. Zróżnicowanie mieszańców pod względem cech plonotwórczych oraz niski poziom zaburzeń w mejozie umożliwiają selekcję wartościowych genotypów dla hodowli twórczej owsa.

PIŚMIENNICTWO

- Baptista-Giacomelli F.R., Pagliarini M.S., de Almeida J.L., 2000. Elimination of micronuclei from microspores in a Brazilian oat (*Avena sativa* L.) variety. *Genet. Mol. Biol.* 23, 681–684.
- Chae Y.A., Forsberg R.A., 1975. Inheritance of node, branch and spikelet number in oat panicles. Diallel analysis of F₁ and F₂. *Crop Sci.* 15, 457–460.
- Chrząstek M., Paczos-Grzęda E., 2003. Analiza molekularna i cytologiczna oraz ocena niektórych cech ilościowych mieszańców międzygatunkowych *Avena sativa* L. × *A. fatua* L. *Biul. IHAR* 230, 387–397.
- Chrząstek M., Paczos-Grzęda E., Miazga D., 2004. Charakterystyka cytologiczna i molekularna niektórych gatunków z rodzaju *Avena*. W: P. Krajewski, Z. Zwierzykowski, P. Kachlicki (red.), *Genetyka w ulepszaniu roślin użytkowych*. IGR PAN, Poznań, 67–74.
- Chrząstek M., Kruk K., Wójtowicz E., 2010. Zmienność mieszańców międzygatunkowych owsa pod względem niektórych cech plonotwórczych wiechy głównej. *Zesz. Probl. PNR* 556, 357–365.
- Doyle J.L., Doyle L.L., 1990. A rapid total DNA preparation procedure for fresh plant tissue. *Focus* 12, 13–15.
- Gornall R.J., 1977. Notes on the size and exine ornamentation of *Avena* pollen grains. *Can. J. Bot.* 55, 2622–2629.
- Joshi A.B., Howard H.W., 1995. Meiotic irregularities in hexaploid oats. *J. Agric. Sci.* 45, 380–387.
- Katsiotis A., Forsberg R.A., 1995. Pollen grain size in four ploidy levels of genus *Avena*. *Euphytica* 83, 103–108.
- Kumar P., Gupta V.K., Misra A.K., Modi D.R., Pandey B.K., 2009. Potential of molecular markers in plant biotechnology. *Plant Omics J.* 2, 141–162.
- Loskutov I.G., 2001. Interspecific crosses in the genus *Avena* L. *Rus. J. Genet.* 37, 467–475.
- Loskutov I.G., 2002. *Avena* L. wild species is a source of diseases resistance, biochemical characters and agronomical traits in oat breeding. *Agric. Lith.* 78, 94–103.
- McMullen M.S., Phillips R.L., Stuthman D.D., 1982. Meiotic irregularities in *Avena sativa* L./*A. sterilis* L. hybrids and breeding implications. *Crop Sci.* 22, 890–897.
- Paczos-Grzęda E., 2003a. Badania cytogenetyczne i molekularne mieszańców międzygatunkowych heksaploidalnego owsa *Avena sativa* L. × *Avena sterilis* L. oraz form wyjściowych. *Biul. IHAR* 229, 21–32.
- Paczos-Grzęda E., 2003b. Charakterystyka niektórych cech ilościowych mieszańców międzygatunkowych heksaploidalnego owsa *Avena sativa* L. × *Avena sterilis* L. oraz form wyjściowych. *Biul. IHAR* 229, 33–41.

- Palagyi A., 1983. Tertiary seed proportions in the grain yield of several oat varieties. *Cereal Res. Comm.* 11, 269–274.
- Petr F.C., Frey K.J., 1966. Genotypic correlations, dominance and heritability of quantitative characters in oats. *Crop Sci.* 6, 259–262.
- Rajhathy T., Thomas H., 1972. Genetic control of chromosome pairing in hexaploid oats. *Nat., New Biol.* 239, 217–219.
- Rajhathy T., Thomas H., 1974. Cytogenetics of oats (*Avena L.*). *Misc. Genet. Soc. Can., Ottawa.*
- Schulman A.H., 2007. Molecular markers to assess genetic diversity. *Euphytica* 158, 313–321.
- Sheidai M., Koobaz P., Zehzad B., 2003. Meiotic studies of some *Avena* species and populations in Iran. *J. Sci. Islam. Repub. Iran* 14, 121–131.
- Stalker H.T., 1980. Utilization of wild species for crop improvement. *Adv. Agron.* 33, 111–147.
- Takeda K., Frey K.J., 1980. Tertiary seed set in oat cultivars. *Crop Sci.* 20, 771–774.
- Thomas H., Al-Ansari N., 1988. Genotypic control of chromosome pairing in amphiploids involving the cultivated oat *Avena sativa L.* *Euphytica* 37, 37–45.
- Williams J.G.K., Kubelik A.R., Livak K.J., Rafalski J.A., Tingey S.V., 1990. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucl. Acids Res.* 18, 6531–6535.

Summary. The interspecific hybrids F_3 *Avena sativa L.* × *Avena sterilis L.* and maternal varieties were the subject of this research. The RAPD method was used for the confirmation of the hybrid nature of the cross progeny. All genotypes were estimated with regard to the cytogenetic stability. Chromosome behavior at metaphase I and anaphase I, frequency of micronuclei in tetrads and pollen viability were studied. No serious disturbances during conjugation and segregation of the chromosomes or tetrad formation in hybrids were observed. Pollen viability of the analyzed hybrid combinations was over 98%. High hybrids differentiation regarding most of the analyzed yielding traits allows to select the valuable genotypes for oat breeding.

Key words: *Avena sativa L.*, *Avena sterilis L.*, cytogenetic stability, interspecific hybrids, RAPD, yielding traits