

IN VITRO DIHAPLOID KUKORICAVONALAK KOMBINÁLÓDÓKÉPESSÉGE

SPITKÓ TAMÁS, SÁGI LÁSZLÓ, PINTÉR JÁNOS, MARTON L. CSABA ÉS
BARNABÁS BEÁTA

MTA Mezőgazdasági Kutatóintézete, Martonvásár

Három évben, martonvásári kísérletekben vizsgáltuk dihaploid (DH) vonal eredetű hibridkukoricák szántóföldi teljesítményét. A vizsgált növényanyagban összesen ötvenkét hibridkombináció eredményét hasonlítottuk össze két kereskedelmi értékű standard hibridkukorica teljesítményének átlagával. A kísérlet főátlagát tekintve a hibridek többsége statisztikailag jelentősen a standard átlag alatt teljesített, volt azonban olyan dihaploid vonal, amelynek hibridben realizált teljesítménye a standard értékével megegyezett. A vizsgálatok során találtunk olyan kombinációt, amelynek agronómiai értéke és termőképessége nem maradt el a standard átlagtól.

Az elért eredmények abból a szempontból jelentősek, hogy ezeket a dihaploid vonalakat *in vitro* növényregenerációs rendszerben előállítottuk elő, majd hosszú szelektív nemesítési munkát követően vizsgáltuk teljesítménykísérletekben. Az *in vivo* dihaploid előállítás gyakorlatával szemben az ilyen eredetű DH vonalak korábban még nem kerültek köztermesztésbe.

Kulcsszavak: általános kombinálódóképesség, dihaploid, kukorica

COMBINING ABILITY OF *IN VITRO* DOUBLED HAPLOID MAIZE LINES

T. SPITKÓ, L. SÁGI, J. PINTÉR, L. C. MARTON AND B. BARNABÁS

Agricultural Research Institute of the Hungarian Academy of Sciences,
Martonvásár

The field performances of maize hybrids with doubled haploid (DH) background were examined in Martonvásár over three years. The performance of fifty-two hybrid combinations was compared with that of two standard maize hybrids with commercial value. Compared with the grand mean of the experiment, the majority of hybrids performed well below the level of the standard mean, though it was possible to find a DH line that resulted in hybrids capable of producing yields equivalent to that of the standards and a combination whose agronomic value and yield potential were as good as the standard mean.

The importance of these results is that the DH lines were developed within an *in vitro* plant regeneration system and were tested in performance trials after long years of selection. Up till now only DH lines developed *in vivo* have been introduced into cultivation.

Key words: general combining ability, doubled haploid, maize

Bevezetés

Az *in vivo* DH vonalak a kereskedelmi értékű hibridnemesítési programokban mind nagyobb mértékben cserélik fel a hagyományos módon beltenyésztett vonalakat. Az *in vivo*, illetve *in vitro* DH vonalakon alapuló nemesítés sémája röviden a következő lépésekből áll: (i) a szelektált vonalak keresztezése új kombinációk képzése céljából, (ii) haploid indukció az F1 generációban, (iii) kromoszómakettőzés, (iv) a DH növények kiültetése és önporzása, (v) az utódvonalak értékelése egysoros obszervációs parcellákban, valamint emellett (vi) vetőmag-felszaporítási program indítása, (vii) tesztkeresztezések értékelése több termőhelyes teljesítményvizsgálatokban és kísérleti hibridek kialakítása. A leírt nemesítési ciklus végrehajtása mintegy 8 évet jelent, amely akár a felére is rövidíthető téli generáció alkalmazásával.

A DH vonalak használata javítja a vonalelőállítás és a szelekció hatékonyságát, valamint csökkenti a vonalfenntartás munkaigényét. Jelentős megtakarítás érhető el azáltal, hogy a DH vonalelőállításban nem szükséges az alvonalak külön beclése. Ez nemcsak a tenyészkert méretének csökkentését teszi lehetővé, de egyszerűsíti a főprogram és a téli másodprogram közötti logisztikát, továbbá évekkal meggyorsíthatja a hibridek kereskedelmi forgalomba kerülését. A haploid indukció hasznos eszköz még specifikus géneknek homozigóta vonalakban történő gyors rögzítésére. Miután a célgént azonosították, pl. korai back-cross generációkban, a DH technológiával az adott génkombináció az eredeti genetikai háttérben fixálható a lehető legrövidebb idő alatt, és a lehető legalacsonyabb költséggel (Röber *et al.*, 2005).

Az elmúlt években intézetünk Sejtbiológiai osztályán hatékony *in vitro* (portok alapú) szövettenyésztési rendszert fejlesztettek ki kukoricára (Barnabás, 2003), amellyel számos DH vonal állítható elő évente. Munkánk célja a korábban így előállított DH kukoricavonalak (Barnabás *et al.*, 2005; Spitzkó *et al.*, 2007) kombinálódóképesség vizsgálata volt annak tisztázására, hogy milyen szerepet játszhatnak ezek a vonalak (hibridjeikkel) a szántóföldi kukoricatermesztésben.

Anyag és módszer

Három egymást követő évben (2005-2007), tizenkét dihaploid és egy kereskedelmi értékű, de *in vitro* reakciót tekintve nem reagáló marionvásári vonalat (Mv Vonal) használtunk szülőkomponensként keresztezéses kísérleteinkben. A DH vonalakat jó haploidindukciós képességet hordozó kínai egzotikus vonalak, valamint a fenti és más, kereskedelmi hibridekben szereplő marionvásári beltenyésztett vonalak kombinációiból hoztuk létre. Ez utóbbiak elsősorban Iodent és Mindszentpusztai sárga rokonsági körökből származtak. Az *in vitro* DH kukoricavonalakat úgy állítottuk elő, hogy azokban a kereskedelmi vonal különböző arányban volt jelen (F1 és BC1 kombinációkban).

A teszterek marionvásári Iodent (IodSLC), Lancaster (LancSLC), Iowa Stiff Stalk Synthetic (ISSS SLC) testvonal keresztezéssel létrehozott (SLC- 'sister line cross') apák voltak, valamint egy negyedik, a fent említettek egyikébe sem tartozó, nem rokon SLC teszter volt

(NRSLC). A kísérletben FAO 390 és FAO 450 standardokat használtunk. A vizsgálatokat az MTA Mezőgazdasági Kutatóintézetének kísérleti terén, három ismétlésben és véletlen blokk elrendezésben végeztük el. A terméseredményeket ($t \cdot ha^{-1}$) 15% szemnedvességre átszámolva adtuk meg. A szemnedvesség értékeket betakarításkor NIR spektroszkópiával határoztuk meg és az így kapott százalékos eredményeket közöljük. Az általános kombinálódó-képességet (GCA) a vonalankénti hibrid származékok (termés és szemnedvesség) átlagának és a kísérlet főátlagának különbségéből számítottuk ki.

A kiértékelést kéttényezős varianciaanalízissel végeztük Sváb (1981) útmutatásai alapján.

Eredmények és következtetések

Az egy termőhelyen, három ismétlésben begyűjtött adatok összesített eredményeit az 1. táblázat mutatja be. Az 1/A táblázatban a 15%-os szemnedvességre átszámított terméseredményeket, az 1/B táblázatban a kombinációk betakarításkori tényleges szemnedvesség értékeit foglaltuk össze.

1. táblázat Faktoriális párosítási modell alapján összeállított hibridkombinációk szántóföldi teljesítménye és a szülők általános kombinálódóképessége (GCA)

1/A táblázat Termés ($t \cdot ha^{-1}$)

1/B táblázat Szemnedvesség (%)

genotípus	Iod SLC	Lanc SLC	ISSS SLC	NR SLC	GCA	genotípus	Iod SLC	Lanc SLC	ISSS SLC	NR SLC	GCA
DH31	9,38	8,80	8,82	7,97	-0,21	DH31	20,61	24,23	21,51	23,83	2,19
DH53	9,11	7,83	9,16	9,58	-0,03	DH53	18,75	21,76	20,20	20,41	-0,08
DH56	8,50	8,10	10,21	10,62	0,41	DH56	18,06	19,89	19,39	20,23	-0,97
DH57	8,62	9,84	9,27	9,26	0,30	DH57	19,20	22,88	20,01	20,90	0,39
DH63	7,18	7,40	6,91	8,01	-1,58	DH63	16,95	17,88	17,43	17,94	-2,81
DH64	7,57	8,05	9,81	9,61	-0,19	DH64	18,28	20,05	20,24	20,67	-0,55
DH105	8,69	8,25	8,34	9,68	-0,21	DH105	18,54	22,47	19,59	20,94	0,02
DH109	9,32	7,94	7,57	8,83	-0,53	DH109	19,21	22,94	22,75	23,86	1,83
DH136	9,16	9,16	9,69	9,30	0,38	DH136	18,85	21,02	22,14	22,79	0,84
DH141	9,03	9,69	7,31	9,47	-0,07	DH141	18,45	19,67	21,61	20,91	-0,20
DH143	8,59	8,96	8,82	9,82	0,10	DH143	19,57	20,32	21,03	21,92	0,35
DH384	8,79	7,97	7,80	9,21	-0,51	DH384	18,56	22,77	19,78	20,11	-0,05
MvVonal	9,99	10,71	9,48	11,42	1,45	MvVonal	22,14	19,60	18,56	20,14	-0,25
GCA	-0,19	-0,28	-0,24	0,49		GCA	-1,35	0,83	-0,03	0,77	

Standardok átlaga: $10,66 t \cdot ha^{-1}$; $SzD_{5\%}=0,56$; Főátlag: $8,95 t \cdot ha^{-1}$ (Szemtermés)

Standardok átlaga: 19,74%; $SzD_{5\%}=0,71$; Főátlag: 20,36% (Szemnedvesség)

A táblázatok oszlopaiban felül a 4 martonvásári teszter apa komponens, a sorokban a 12 DH szülővonal van feltüntetve, valamint a kereskedelmi értékű martonvásári vonal szerepel kontrollként. Az utolsó oszlop a DH vonalak általános kombinálódó-képességét (GCA) mutatja, míg az utolsó sor a teszterek

hasonló eredményeit ismerteti. A sorok és oszlopok egyes metszéspontjaiban az adott hibridkombinációk eredményei láthatók.

Szemtermés eredmények

A kísérletben a nem rokon (NRSLC) teszterrel alkotott kombinációk mutatták a legnagyobb, a többi apai átlagtól statisztikailag is igazolható heterozist. A DH vonalak kombinációinak fele, pontosabban 23 hibrid, a kísérleti átlag felett teljesített, ám két kivétellel nem közelítették meg a kontroll martonvásári vonallal alkotott kombinációk teljesítményét.

A vizsgált hibridek többsége a standard átlaghoz viszonyítva statisztikailag igazolhatóan kevesebbet termelt. A kísérlet főátlaga is jóval a várt érték alatt alakult. Voltak azonban olyan DH vonal eredetű kombinációk, amelyek elérték a kereskedelmi hibridek átlagát (DH56*ISSS SLC és DH56*Egyéb SLC). A vizsgált hibridek közül a kontroll vonal két kombinációja is jól teljesített, egyik esetben elérte (Mv Vonal* Lanc SLC), másik esetben szignifikánsan meghaladta (Mv Vonal* Egyéb SLC) a standardok átlagát.

A kiszámított GCA értékek alapján elmondható, hogy a vizsgált 12 DH vonal közül négy járult hozzá terméstöbblettel a hibridjeik teljesítményéhez. Kimagasló termésjavító értékkel rendelkezett a kontroll, amely átlagosan 1,45 t·ha⁻¹ eredménynövekedést okozott a vele alkotott hibridekben. A teszterek közül a nem pontosan meghatározott, de a három fő rokonsági körtől különböző, negyedik teszter kombinálódó képessége volt kedvező a hibridek teljesítményének kialakításában.

Szemnedvesség eredmények

Az általános kombinálódó képesség értékeinél dölten jelöltek azok a számok, amelyek negatívak, azaz a hibridek betakarításkori szemnedvességét csökkentették a főátlaghoz viszonyítva. Ez esetben a negatív GCA értékeket keressük, mert a betakarításkor az alacsonyabb szemnedvesség érték elérése a kívánatos. A GCA értékek mértékegysége az 1/B táblázatban százalék, mivel a betakarításkori szemnedvesség értékekből számítottuk ki.

A hibridek betakarításkori szemnedvesség értékeinek több mint fele a standardok által elért eredmények közelében alakultak. A megfelelő szemnedvességgel azonban nem párosult magas szemtermés érték, ezért a továbbiakban csak a négy alkalmasnak ígérkező kombináció értékeit elemeztük részletesebben. Ezek egyike sem tért el statisztikailag jelentősen a standardok eredményeitől.

Hat DH vonal (köztük a DH56) GCA értékei bizonyultak a tulajdonságot tekintve megfelelőnek, eredményük alapján 0,05 - 2,81 %-al javították a hibridjeik betakarításkori szemnedvességét. A DH 63 jelentős javító értéket mutatott, de e tulajdonság alacsony szemtermés értékekkel párosult (7-8 t/ha),

így nem sorolhattuk az általunk megfelelőnek ítélt vonalak közé. Koraisága másik FAO csoportba tartozó standardokkal történő összehasonlítását kívánt volna, de külön kísérletben való vizsgálata nem volt lehetséges.

A teszterek közül az Iodent SLC és az ISSS SLC vonalak javították a hibridek szemnedvesség értékeit, a másik két teszter kis mértékben rontott, bár e tulajdonság összefügg azzal, hogy a Lanc SLC és az Egyéb SLC apák később virágoztak társaiknál.

A DH 109 a kínai vonal közvetlen leszármazottjaként külön figyelmet érdemelt kísérletünkben. Kombinációi az Iodent SLC teszterrel bizonyultak a legsikeresebbnek, szemnedvesség értéke ez esetben a főátlag és a standard átlag alatt volt (19,21%), azonban szemtermése nem volt megfelelő (9,32 t·ha⁻¹). Más teszterekkel alkotott hibridjeinek eredménye kifejezetten kedvezőtlen volt. A DH 105 a másik, az antéra választ mint tulajdonságot hordozó vonal átlagos szemnedvesség értékek mellett szintén nem eredményezett megfelelő mértékű szemtermés növekedést az utódok teljesítményében.

Összességében elmondható, hogy a dolgozatban vizsgált, DH szülőkomponensű hibridkombinációk jó esetben elérték, de nem haladták meg a kereskedelmi standard átlagot. A kísérlet kiértékelésekor azonban figyelembe kell venni, hogy relatíve kis számú mintán végzett kísérletről van szó, amelyben ennek ellenére is találtunk két olyan kombinációt, amely statisztikailag igazolhatóan a standardok átlagának megfelelő szinten termett úgy, hogy közben a betakarításkori szemnedvesség értéke is elfogadható szinten maradt (nem volt jelentősen magasabb a standard átlagnál).

A fentiek alapján feltételezhető, hogy a vizsgálatok kiszélesítésével (pl. új genetikai források bevonásával) az *in vitro* DH technika is a kereskedelmi hibrid-előállítás szolgálatába állítható a jövőben.

Köszönetnyilvánítás

A kutatást az NKTH Jedlik Ányos Pályázatának (OM-00063/2008) támogatásával végezzük.

Irodalom

- Barnabás B. (2003): Anther culture of maize (*Zea mays* L.) pp.103-108 In: M. Maluszinsky, K.J. Kasha, B.P. Foster, I. Szarejko (Eds.), Doubled Haploid Production in Crop Plants. A Manual Kluwer Academic Publ.
- Barnabás B., Spitkó T., Jäger K., Pintér J., Marton L.C. (2005): Strategy for improvement of doubled haploid production in maize. *Acta Agronomica Hungarica*, 53 (2) pp. 177-182
- Röber F.K., Gordillo G.A., Geiger H.H. (2005): *In vivo* haploid induction in maize- performance of new inducers and significance of doubled haploid lines in hybrid breeding, *Maydica* 50: 275-283
- Spitkó T., Sági L., Marton L.C., Barnabás B. (2006): Haploid induction capacity of maize (*Zea mays* L.) lines of various origin and of their hybrids. *Maydica*, 50:537-542
- Sváb J. (1981): Biometrical Methods in Research Work. Mezőgazdasági Kiadó, pp. 113-116. (in Hungarian)