

## PRIMJENA STERILITETA U SJEMENARSTVU NEKIH RATARSKIH KULTURA

I. Kolak

Zavod za oplemanjivanje bilja, genetiku i metodiku istraživanja  
Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Department for Plant Breeding, Genetics and Biometrics  
Faculty of Agriculture University of Zagreb

### SAŽETAK

U radu su obrađeni steriliteti koji se primjenjuju u proizvodnji sjemena osnovnih ratarskih kultura. Date su teoretske i praktične osnove primjene karioplazmatske, citoplazmatske i kombinirane muške sterilnosti u proizvodnji sjemena kukuruza, pšenice, sirka, suncokreta i šećerne repe.

Rad je opremljen grafičkim prikazima i tabelama, a namijenjen je sjemenarima i drugim stručnjacima za proizvodnju sjemena.

### UVOD

Muški sterilitet kod biljaka je pojava kad biljka ne proizvodi polen sposoban za oplodnju jer su polenova zrnca potpuno sterilna i nisu sposobna izvršiti oplodnju. Ova pojava se javlja zbog potpune zakržljivosti muških polnih organa (prašnika) ili se u normalno razvijenim prašnicima, zbog nepravilnosti u mejozi, ne razviju normalne mikrospore, te polen ostaje sterilan i potpuno nefunkcionalan.

Muški sterilitet je genetski uvjetovan, a razlikujemo tri tipa ovog steriliteta i to:

1. Karioplazmatski muški sterilitet ili nuklearni muški sterilitet, uvjetovan od jednog ili više gena na kromosomima.

2. Citoplazmatski muški sterilitet, uvjetovan ekstrakromosomskim čimbenicima ili plazmogenima.

3. Karioplazmatsko-citoplazmatski muški sterilitet, uvjetovan čimbenicima prethodna dva steriliteta, tj. karioplazmom i citoplazmom.

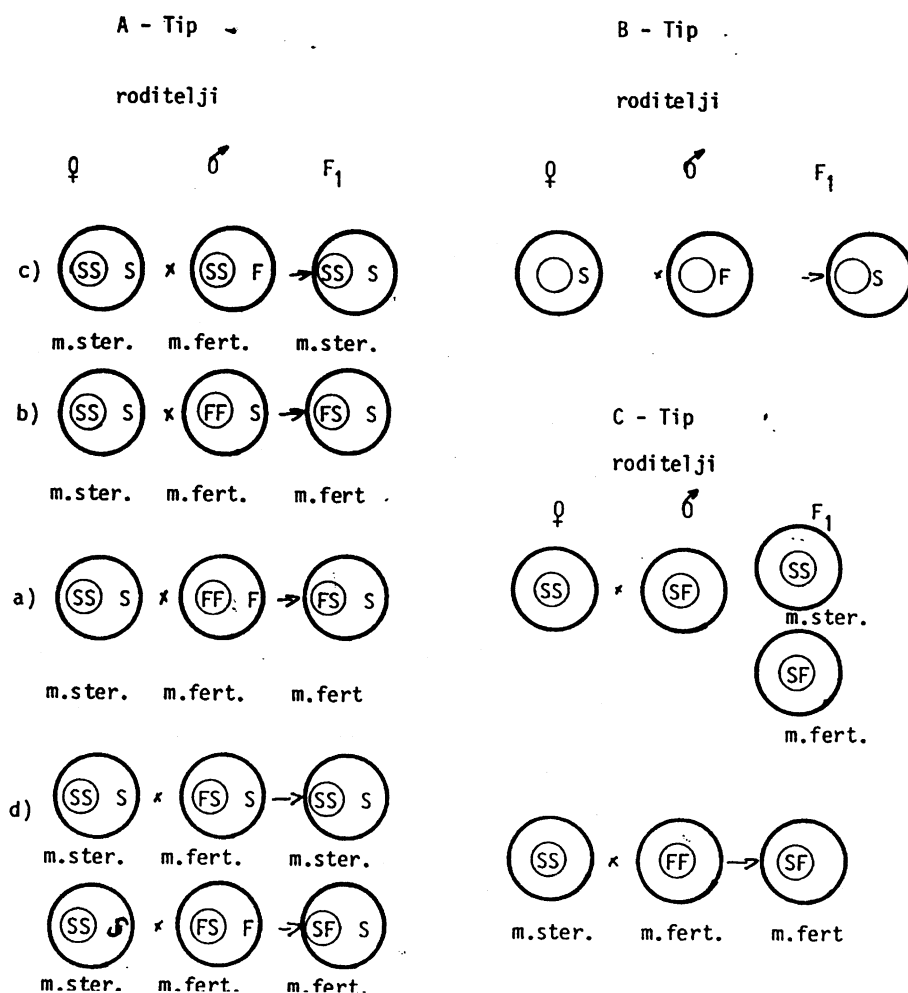
Sva tri tipa muškog steriliteta danas se mogu koristiti u proizvodnji hibridnog sjemena ali se najviše i najčešće koristi citoplazmatski muški sterilitet. Čimbenici za muški sterilitet se označavaju sa S, a faktori fertiliteta sa F.

### KAOPLAZMATSKI MUŠKI STERILITET

Ovaj sterilitet je ovisan o kromogenima (karioplazme), tj. jednim recesivnim genom (sirak) ali može biti i veći broj gena (ječam).

Kod proizvodnje sjemena za heterotičnu F<sub>1</sub> generaciju primjenjuje se posebna metoda i to tako da se linije sa spomenutim sterilitetom polena mogu održavati samo onda ako se te linije križaju sa heterozigotom, dakle SS sa SF.

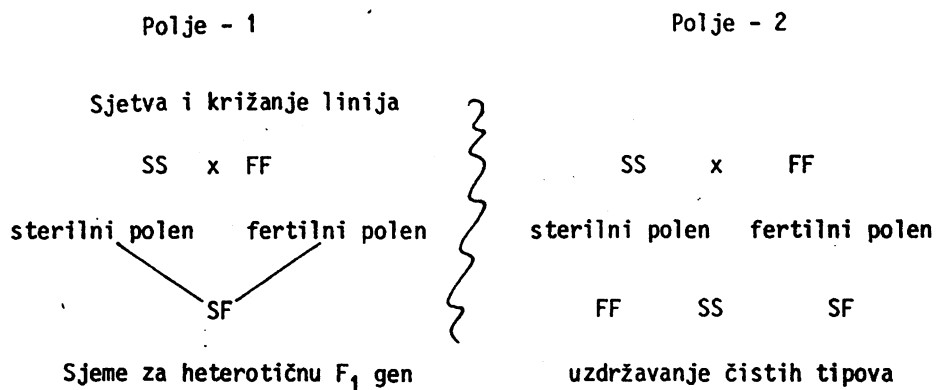
Sjeme za heterotičnu F<sub>1</sub> generaciju proizvodi se tako da se uzgoji potomstvo sterilnog polena. U takvom potomstvu je 50 % biljaka genetske konstitucije SS i 50 % konstitucije SF. Od tog potomstva sije se naizmjenično po 4-6 redova, a po 2 reda siju se od neke linije fertilnog polena koja nije u srodstvenoj vezi s genotipovima SS i SF. U redovima sa SS i SF treba prije cvatnje odstraniti sve biljke SF fertilnog polena.



Sl. 1. Uzgoj i proizvodnja muškosterilnih biljaka i uspostavljanje muškog fertiliteta

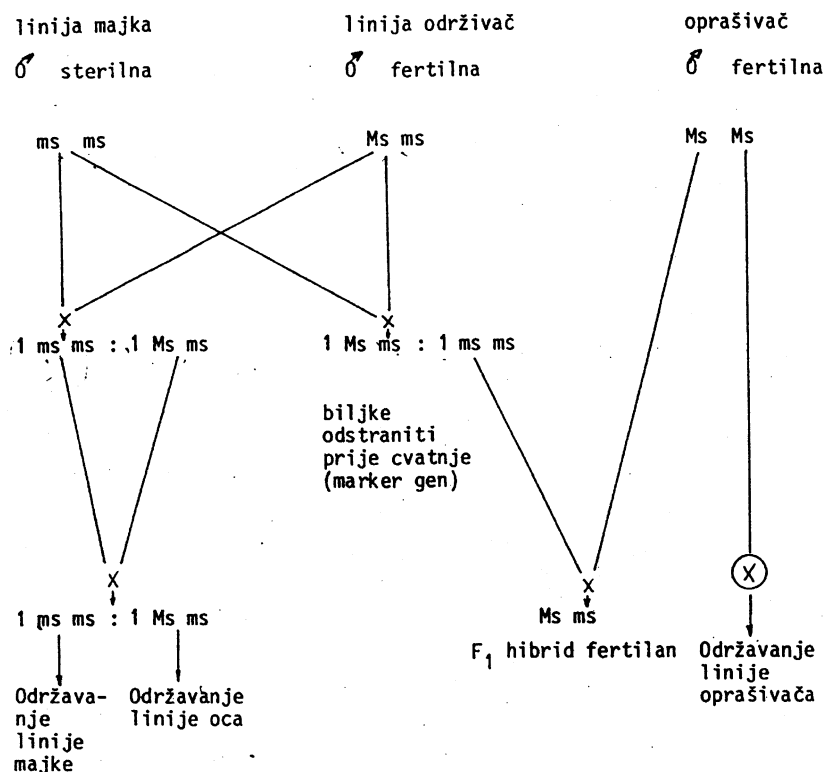
Kako se radi o kromosomskim genima, u potomstvu linije majke i oca dolazi do razdvajanja pa se procedura hibridnog sjemena suštinski razlikuje od citoplazmatskog steriliteta (cms).

Teškoće u primjeni karioplazmatskog tipa steriliteta je u tome što fertile biljke treba eliminirati prije cvatnje kako ne bi oprašile muško sterilne biljke jer bi se time smanjio efekat heterozisa. Kako je gen za mušku fertilitet dominantan (Ms), potrebno je zasijati dva do tri puta više sjemena i dobiti niklih biljaka koje se razlikuju u marker genu (npr. ljubičasta boja) nego što je potrebno za proizvodnju sjemena. Sve biljke Ms ms koje se po nicanju u boji ili sl. razlikuju od ms ms biljaka je neophodno eliminirati prije cvatnje. Ovaj tip steriliteta se koristi u proizvodnji sjemena suncokreta, ječma, pšenice i sl.



SF - tipove treba prije cvatnje eliminirati

Sl.2. Proizvodnja heterotičnog sjemena na dva izolirana zemljišta



Ms - dominantni gen za mušku fertilnost; ms - recesivni gen za mušku sterilnost; x - križanje; ⊗ - samooplodnja

Sl. 3. Shema proizvodnje hibridnog sjemena na osnovu muške sterilnosti

### *Funkcionalni muški sterilitet*

Kod ovog tipa muške sterilnosti podrazumijeva se pojava da biljke proizvode normalno fertilan polen, ali je mehanizam otvaranja prašnika abnormalan i ne dolazi do oslobađanja polena, tj. nema polinacije. Ova pojava se može i korisno primjeniti za produkciju hibridnog sjemena ratarskih kultura, ali je češće primjenjivan kod kupine, rajčice, patlidana i sl. Biljke s funkcionalnim muškim sterilitetom se upotrijebe kao majke (♀) bez potrebe eliminacije (odstranjivanja) prašnika, a neka druga linija oca (♂), također bez potrebe da sadrži gene za restauraciju fertiliteta.

### *Kemijsko induciranje muškog steriliteta*

Gametocidi su kemijski preparati (Etel 2-kloretoanfosforna kiselina, Mendok 2,3 - dikloroizobutirat i sl.) koji služe za uništenje polena kod pšenice, ječma, ruže, šećerne repe i sl. u svrhu dobivanja sterilnih majki.

Naime, kod biljaka s dvospolnim cvjetovima gdje je teško dobiti karioplazmatski, citoplazmatski ili karioplazmatsko-citoplazmatski muški sterilitet, a ručno odstranjivanje prašnika bi bilo neekonomično, nastoji se gametocidima onesposobiti polen za oplodnju pri čemu tučak i plodnica ne smiju biti oštećeni.

Ovako induciranje muškog steriliteta gametocidima omogućuje brzu i jeftinu produkciju hibridnog sjemena bez unošenja cms plazmogeni i Rf gena (restorer faktor). Gametocidi uz sva svoja pozitivna svojstva imaju i negativne efekte kao: u potpunosti ne steriliziraju polen majke pa se smanjuje heterozis u F<sub>1</sub> hibrida i dosta su osjetljivi pa tretman treba ponavljati više puta u toku vegetacije. Osim navedenog gametocidi izazivaju oštećenja ženskih spolnih organa te dovode do deformacije biljke i produžetka vegetacije. Iako do sada nemaju široku primjenu ipak se od 1984. godine u Evropi proizvodi hibridno sjeme pšenice, ječma i sl. uz korištenje ovih kemijskih preparata. U praksi se dvostruko veća površina majke (sjetva u trakama), 16 redova, tretira gametocidima dok se 8 redova oca (sijanog u trake) ne tretira gametocidom pa polen oca nošen vjetrom normalno oplodi majku pri čemu se formira hibridno sjeme na majci. Ovako dobiveni hibridi daju i do 30 % veći prirodu u odnosu na klasične kultivare.

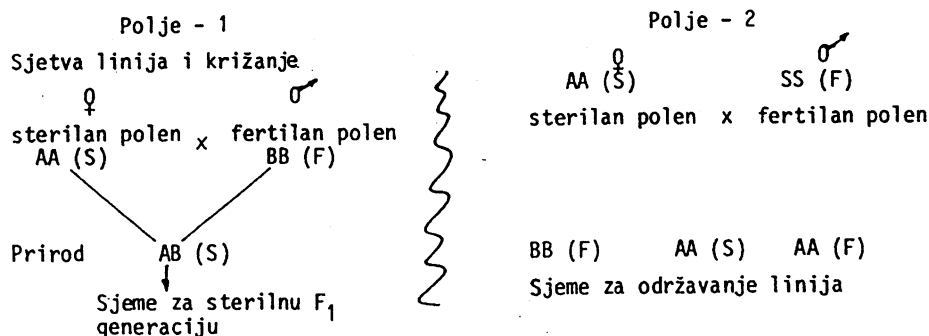
## CITOPLAZMATSKI MUŠKI STERILITET

Kada je sterilitet polena uvjetovan genima citoplazme (cm) onda se iz križanja takvog genotipa s genotipom fertilnog polena razvijaju biljke sterilnog polena. Ovo križanje je od neposredne koristi kod biljaka od kojih se koriste vegetativni organi: lukovice, gomolji i sl. Višestrukim povratnim križanjem može se karioplazma svake linije prenijeti u citoplazmu koja uvjetuje sterilitet polena. Ovako se razvije linija sterilnog polena koja se uzdržava kao majka za proizvodnju heterotičnog sjemena samo tada kada se križa s linijom koja ima jednaku karioplazmu ali u normalnoj citoplazmi. Umnažanje se odvija na dva izolirana polja.

Za cms osobinu odgovorni su plazmogeni koji se nalaze u citoplazmi a oni se prenose na potomstvo samo preko jajne stanice, jer otac polenom prenosi samo nukleus i nije u mogućnosti utjecati na potomstvo u pogledu muške sterilnosti. Prema tome, citoplazmatski muški sterilitet se ne može sam koristiti u sjemenarstvu heterotičnih hibrida, jer bi križanjem cms linija s drugom linijom dobili F<sub>1</sub> sterilni hibrid. Ovo nije problem kod bilja (luk, š. repa, krumpir i sl.) gdje se koriste vegetativni dijelovi biljke ali kod kukuruza, suncokreta i drugih vrsta, gdje je cilj proizvodnje sjeme, ne može se koristiti. Zato, linija

otac ili oprašivač (R-linije) mora imati gene za restauraciju muške fertilnosti, tzv. Rf. gene, kako bi biljke formirale sjeme koje je glavni cilj poroizvodnje.

Sjeme za heterotičnu F<sub>1</sub> generaciju proizvodi se na slijedeći način:



Proizvodnja hibridnog sjemena na osnovu cms linija obuhvaća slijedeći proces:

- a) unošenje cms svojstava u linije koje će služiti kao majčinska linija,
- b) održavanje cms linije (A-linija) i njenog fertilnog održivača ili analoga (B-linija),
- c) unošenje Ff-gena u liniju oprašivača (R-linija),
- d) održavanje R-linije, te
- e) proizvodnja hibridnog sjemena uzgojem u naizmjenične redove A - linije i R- linije.

a-1)

Dobiveno cms svojstvo unosi se u odgovarajuću liniju ili kultivar metodom povratnog križanja. Poslije 5-7 povratnih križanja cms linije s linijom oca, dobiva se A-linija koja sadrži sva svojstva linije oca i svojstvo cms linije.

b-1)

Udržavanje B-linije osigurava se umnažanjem u ručnoj ili sib oplodnji.

c-1)

Kako normalne fertilne linije, tj. one linije koje nisu cms, ne sadrže gene za restauraciju fertilnosti tzv. Rf. gene, neophodno je pronaći takove linije koje imaju Rf gene. Ove linije se nalaze u biološkom materijalu koji pripada istoj vrsti kao i cms materijal ali se mogu unositi križanjem u druge vrste (npr. Rf geni iz *Tr. timophevi* koji su unešeni u *Tr. aestivum*). Rf geni se unose metodom povratnog križanja u linije oprašivača (R-linije).

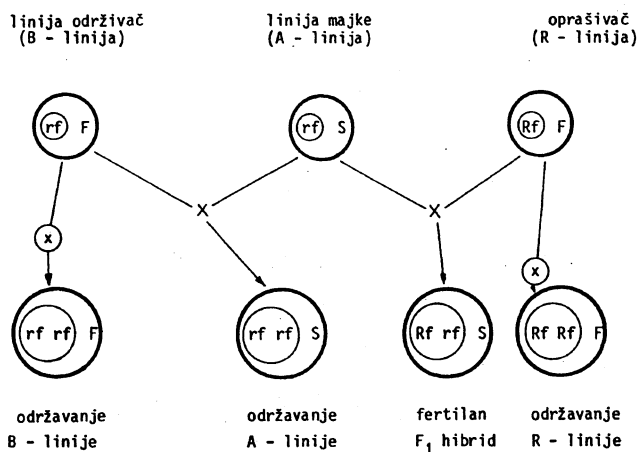
Ovo je obvezno kod vrsta koje se koriste za sjeme, a kod vrsta koje se koriste kroz vegetativne dijelove (š. repa, luk i sl.) nepotrebno je da linija oprašivač sadrži Rf gene.

Kada linija oprašivač sadrži Rf gen (gene) koji se nalazi na kromosomu, znači da cms linija pored sterilne citoplazme ima i karioplazmatske (nuklearne) gene koji nisu u stanju restaurirati fertilnost - rf gen (geni).

Hibridno sjeme nastalo na osnovi cms steriliteta ima mnogo poteškoća jer muška fertilnost nije dosta stabilna pa se kod A-linija javlja određen broj fertilnih biljaka. Na Rf

gene mogu utjecati i čimbenici vanjske sredine pa F<sub>1</sub> biljke nisu uvijek sve fertile, čime se smanjuje efekat heterozisa. S obzirom na probleme kod A linije, u praksi se događa da su manje otporne prema bolestima i štetnicima u odnosu na njihove normalne analoge.

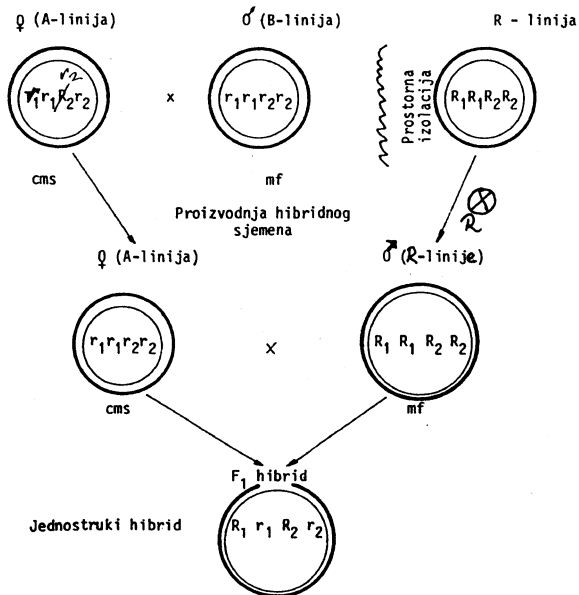
Proizvodnja hibridnog sjemena na osnovi citoplazmatskog muškog steriliteta izgleda ovako:



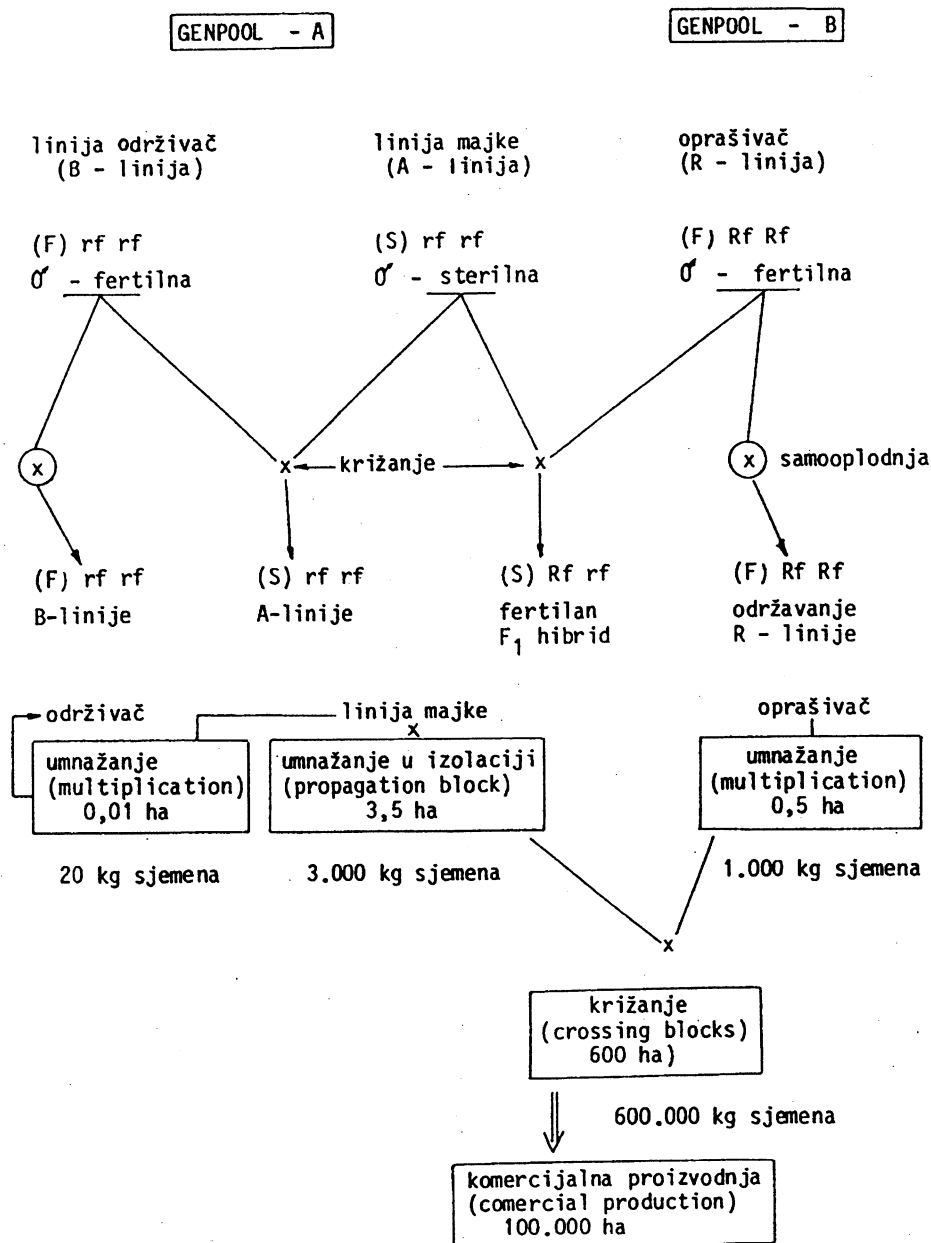
Sl. 4. Proizvodnja hibridnog sjemena na osnovu cms

S-sterilna citoplazma, F-fertilna citoplazma (ne prenosi se na potomstvo preko oca), Rf-geni za restauraciju muške fertiliteta, rf-geni koji ne restauriraju mušku fertilitet, x - križanje, x - samooplodnja

Održavanje linija:



Sl. 5. Održavanje linija i proizvodnja jednostrukog hibrida pšenice upotrebom citoplazmatskog steriliteta polena



Sl. 6. Prikaz proizvodnje hibridnog sjemena uljane repice na osnovu cms steriliteta

## KARIOPLAZMATSKO-CITOPLAZMATSKI MUŠKI STERILITET

Citoplazmatska muška sterilnost je kontrolirana genima citoplazme, dok kod genetsko-citoplazmatskog steriliteta postoji interakcija između genetskih čimbenika karioplazme i citoplazme. Citoplazma se uvijek prenosi majčinskom komponentom (maternalno nasljeđivanje).

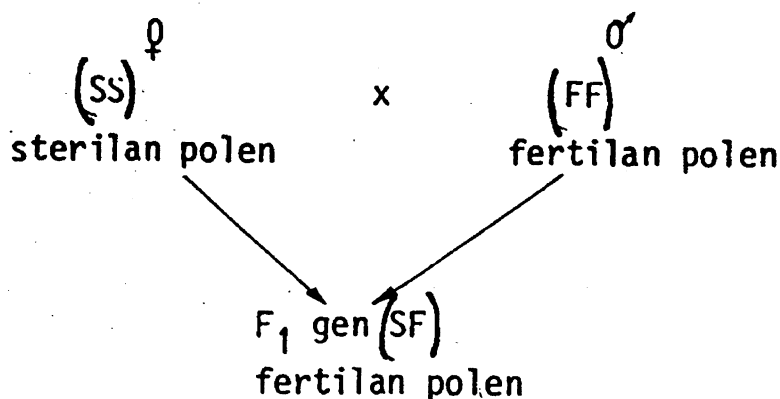
Kod citoplazmatskog i citoplazmatsko-genetskog steriliteta postoje dva tipa citoplazme (dva plazmotipa):

F ili N - normalni tip

S - sterilni tip citoplazme

Homozigotna muško-sterilna biljka kod koje je sterilitet polena uvjetovan sterilitetnim čimbenicima kako onima u karioplazmi, tako i onima u citoplazmi je konstitucija SS (S). Analogno tome je homozigotna biljka fertilnog (F ili N) polena konstitucije FF (F), Sl.7.

Kada se biljka sterilnog polena križa s biljkom fertilnog polena onda će iz sjemena izrasti biljka fertilnog polena, npr.:



Sl. 7. Križanje biljke sterilnog polena s biljkom fertilnog polena

Sjeme za fertilni F<sub>1</sub> gen. proizvodi se tako da se naizmjenično siju po 2 reda oca, tj. (FF) i po 4-6 redi majke genetske konstitucije (SS). Polen se vjetrom prenosi sa biljke oca na biljke majke, pa dolazi do oplodnje pri čemu se na majkama formira sjeme iz kojeg će izrasti heterotično potomstvo genetske konstitucije (FS) fertilnog polena, Sl. 7.

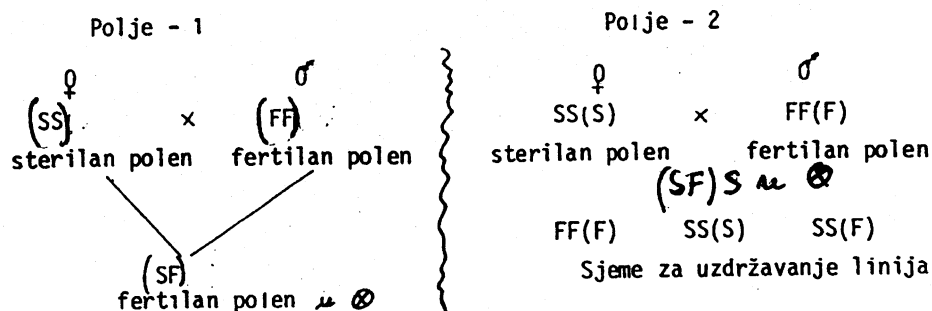
Dok se fertilne biljke genotipa (FF) ako se kultiviraju na prostorno izoliranim površinama, do kojih ne dopire strani polen, mogu lako uzgajati u homozigotetu, mnogo kompliciranije je uzgajati biljke muškog steriliteta i genetske konstitucije (SS). U tu svrhu biljke (SS) treba križati s onima biljkama u kojima je gen za sterilitet u karioplazmi, dok citoplazma mora biti takve genetske konstitucije da se može razviti fertilni polen. Genetska konstitucija takve biljke je (SS).

Kada se želi uzgojiti sjeme za ekspresiju heterozisa, potrebno je sjeme sijati na dva prostorno izolirana zemljišta gdje se provode ova križanja, Sl.8.

Pomoću karioplazmatsko-citoplazmatskog muškog steriliteta mogu se uzgojiti i nove inbred linije sterilnog polena, npr. biljke sterilnog polena genetske konstitucije SS (S) križaju se s biljkama fertilnog polena FF (F). U F<sub>2</sub> gen. tog križanca odaberu se biljke



sterilnog polena konstitucije SS (S). Ove se biljke križaju s polenom roditelja konstitucije FF (F) a u daljnjim generacijama provodi se i samooplodnja. Ovo se radi tako dugo dok se cijeli genom oca, osim fertilnog gena ne prenese u S-citoplazmu. Ovaj tip steriliteta se koristi kod š. repe, lana, luka i sl.



Sl. 8. Prikaz proizvodnje hibridnog sjemena upotrebom karioplazmatskog-citoplazmatskog steriliteta

Prema tome, muški sterilitet je pojava da biseksualne biljke, tj. biljke s hermafroditnim cvjetovima i monoecijske biljke ne produciraju viabilan polen. Muški sterilitet, dakle, može biti uzrokovan:

a) defektivnim mehanizmom oslobađanja normalno funkcionalnih polenovih zrnaca iz antera jer normalan polen ostaje zatvoren u anterama, a ova pojava se zove *funkcionalni muški sterilitet*. Ovaj sterilitet je pronađen kod riže, kukuruza, rajčice, djeteline i drugih kultura. Funkcionalni sterilitet ima manju važnost i primjenu u produkciji sjemena u odnosu na pravi muški sterilitet;

b) defektivnim procesom razvoja antera ili polena gdje su prašnici slabo razvijeni ili degenerirani, a i kad su razvijeni ne sadrže normalno fertilan polen, pa se ova pojava zove *pravi muški sterilitet*.

Pravi muški sterilitet je pronađen kod velikog broja kultiviranih vrsta, pa se može pretpostaviti da skoro sve kultivirane vrste posjeduju barem neke oblike ove sterilnosti. Ekonomski interes u proizvodnji hibridnog sjemena i korištenje heterotičnog efekta omogućuju stvaranje i korištenje muško sterilnih oblika u različitim biljnim materijalima.

Ekspersija genetske muške sterilnosti može biti različita: antere i polen mogu degenerirati ili abortirati u različitim stadijima razvoja. Opće pravilo za genetski muški sterilitet je da postoji jedan plazmotip S koji je u interakciji s recesivnim alelom (ili alelima) steriliteta (ms) i alelom restauracije fertilnosti (Ms). Ovaj tip steriliteta je kontroliran jednim parom gena ili s manjim brojem recesivnih gena. Broj alela tih gena može katkad biti i veliki, a muški sterilitet će se pojaviti ako su oba gena lokusa recesivna (homozigot). Kod nekih kultura rađena je dvosturka recesivna kontrola muškog steriliteta. Monogena dominantna muška sterilnost je utvrđena, opisana i u primjeni je putem sjemenarstva kod manjeg broja ratarskih kultura (pšenica, ječam i sl.).

Mnogo složenije situacije genetske muške sterilnosti, pronađene i primijenjene u sjemenarstvu, vezane su za komplikaciju genetske kontrole ili pak specifično ponašanje kromosoma. Kod ove sterilnosti se koristi pojam nuklearne (kromosomske) muške sterilnosti.

Muško sterilan tip citoplazme (S) je najčešće u interakciji s parom alela nukleusa od kojih je jedan osjetljiv na tip citoplazme, a označava se sa ms ili rf (ako je recesivan), dok drugi omogućava restauraciju fertiliteta i označava se sa Ms ili Rf (ako je dominantan). Muški sterilitet će rezultirati jedino tada kada postoji recezivna komozigota rf rf i S citoplazma tj. (S, rf rf).

Kada se dominantan alel restauriranja fertiliteta (restorer gen) nalazi u sterilnoj citoplazmi, tada takav alel (gen) djeluje u tom smislu da sterilna citoplazma nema efekta na plodnost i antere produciraju normalan polen.

U sjemenarstvu se koristi citoplazmatski sterilnu komponentu kao majku, dok očinska komponenta mora donositi restorer gene. Prema tome, normalni muško-fertilni individui mogu imati različite genetsko-citoplazmatske interakcije i konstitucije i to: (S, Rf Rf), (S, Rf rf), (F, Rf Rf), (F, Rf rf), i (F, rf rf). Kod izvođenja svih mogućih logičnih kombinacija muško sterilne majčinske biljke s muško fertilnom očinskom, dobivamo ove tipove potomstva, tabela 1.

Tab. 1. Kombinacijsko križanje muško-sterilne majčinske komponente s muško-fertilnim očevima u jednostavnijem slučaju citoplazmatsko-genetske muške sterilnosti

Muško-sterilna majka		Muško-fertilan otac	Potomstvo (F <sub>1</sub> )
(S, rf rf)	x	(S, Rf Rf)	(S, Rf rf) m. fert.
(S, rf rf)	x	(F, Rf Rf)	(S, Rf rf) m. fert.
(S, rf rf)	x	(S, Rf rf)	1/2 (S, Rf rf) m. fert. i 1/2 (S, rf rf) m. fert.
(S, rf rf)	x	(F, Rf rf)	1/2 (S, Rf rf) m. fert. i 1/2 (S, rf rf) m. fert.
(S, rf rf)	x	(F, rf rf)	(S, rf rf) m. fert.

Novija istraživanja u sjemenarstvu su pokazala da su situacije u prirodi često kompliciranije jer kod nekih vrsta i kultivara postoji mnogo više nezavisnih muško-sterilnih plazmotipova, a isto tako može postojati i veći broj restorer faktora. Muško-sterilne biljke koje služe kao majčinska komponenta u sjemenarstvu nije potrebno emaskulirati što je osnovni razlog primjene ovog sustava u suvremenoj proizvodnji hibridnog sjemena.

Muški sterilitet je potrebno razlikovati u procesu oplemenjivanja od primjene u sjemenarstvu. U oplemenjivanju može biti djelomično zadovoljni i s parcijalnim muškim sterilitetom kao i s nepotpunom restauracijom fertiliteta. Naprotiv, u sjemenskoj proizvodnji ovi čimbenici imaju izvanredno veliku ulogu i moraju biti potpuno djelotvorni. Primjena muško-sterilnih komponenata u sjemenarstvu nije jednostavna. Kod kreiranja točno definirano potomstva, potrebno je svaki roditeljski par posebno izolirati i to papirnatim vrećicama, platnom, specijalnim komorama ili prostornom izolacijom koja se najčešće koristi u sjemenarstvu. Što je biljka stranooplodnija to izolaciju treba izvesti preciznije. Kod križanja trava, muško sterilnu majčinsku biljku zatvaramo s muško fertilnim ocem pod istu poluprozirnu papirnatu vrećicu, a kod repa (stočnih i šećernih) zajedno zatvorimo samo pojedine grane.

U sjemenarstvu se koristi sjetva u redove gdje se između redova muško-sterilnih majki siju redovi muško-fertilnih očinskih biljaka. Omjer fertile i sterilne komponente prvrenstveno zavisi od količine polena kojeg proizvodi očinska komponenta, te o broju cvatova majčinske i očinske komponente kao i o viabilnosti polena te efikasnosti oplodnje. U sjemenarstvu je vrlo značajno pitanje izbora muškog steriliteta. Sjemenar u pravilu dobiva sve komponente steriliteta i uputstvo od oplemenjivača, kreatora dotičnog hibrid-

nog kultivara, s detaljnim opisom što treba raditi tijekom proizvodnje hibridnog sjemena ili održavanja linija.

Osim izvora muške sterilnosti koja se nalazi u slobodnoj prirodi ili one koju oplemenjivač-sjemenar kreira, muški sterilitet se može inducirati kemijskim spojevima (gametocidima), radijacijom (zračenjem) i sl. Isto tako muški sterilitet može biti rezultata interspecies i intergenus križanja, a ova hibridizacija se koristi za unošenje čimbenika steriliteta u kultivare poljoprivrednog bilja. Za unošenje steriliteta iz jednog biološkog materijala u drugi koriste se metode potpunih povratnih križanja.

Održavanje muško-sterilnog biološkog materijala u sjemenarstvu a u jednostavnijim slučajevima citoplazmatsko-genetskog steriliteta, vrši se tako da se uz muško sterilnu liniju (S, rf rf) ili A-liniju uzgaja linija B strukture (F, rf rf). Linija B je muško fertilna i producirana se samooplođnjom, a potomstvo joj je uvijek muško fertilne skstrukture (F, rf rf). Križanje linije B s A linijom dobiva se muško sterilno potomstvo po genetskoj strukturi jednako liniji A (S, rf rf), te se može koristiti za križanje s odgovarajućim muško fertilnim roditeljem tipa restorer za proizvodnju hibridnog sjemena.

Proizvodnja hibridnog sjemena ratarskih kultura vezana je s nizom teškoća, od tehničkih (postizanje potpune hibridizacije između dva roditelja), do smanjenja priroda sjemena uslijed primjenom inbred linija u proizvodnji.

Kako se u proizvodnji hibridnog sjemena jedan roditelj koristi isključivo kao majčinska komponenta, a drugi kao očinska, pri čemu je svaka samooplođnja majčinske komponente krajnje štetna i nepoželjna, to su i tehnički problemi vezani za hibridizaciju vrlo složeni.

Tako npr. kod jednodomnih biljnih vrsta s razdvojenim muškim i ženskim cvatovima kakav je npr. kukuruz (metlica, klip) problem se lako rješava mehaničkom emaskulacijom majčinske komponente tj. čupanja metlice prije pojave polena. Ipak se i ovim putem potpuna kontrola metlica u praksi teško postiže (kiše, nedostatak kvalificirane radne snage i sl.), a i skupo je jer uključuje velik broj radnika i kontrola kvalitete njihovog rada. Uz navedeno, čupanje metlica je najveći izvor rizika koji prate ovu skupu proizvodnju.

Mehanička emaskulacija muških polnih orgna na majčinskoj komponenti sjemenske proizvodnje kod vrsta s hermafroditnim cvjetovima ne dolazi u obzir, pa je proizvodnja hibridnog sjemena (suncokreta, sirka, lucerne i sl.) moguća isključivo primjenom kemikalija (gametocida koji sprečavaju formiranje i rasipanje polena na majčinskim biljkama, te primjenomprethodno opisanog muškog steriliteta.

Muški sterilitet u proizvodnji hibridnog sjemena možemo koristiti na tri načina, i to:

1. Karioplazmatski (genetski) muški sterilitet koji se zasniva na korištenju nucelarnih gena za muški sterilitet vezanih za kromosomske aberacije tj. najčešće za delicije.

2. Citoplazmatski muški sterilitet koji se zasniva na korištenju različitih tipova citoplazme koja izaziva muški sterilitet, dok se fertilnost F<sub>1</sub> gen. restaurira korištenjem očinske komponente koja posjeduje dominantne alele restorer gena za ovaj tip steriliteta.

3. Kombinirani tip, citoplazmatsko-karioplazmatski, izveden iz naprijed navedenih i opisanih steriliteta.

Najvažniji i najčešći tip steriliteta u proizvodnji hibridnog sjemena, dakako i ekonomski najinteresantniji, je citoplazmatski tip muškog steriliteta koji je pronađen kod svih ratarskih kultura. Prema Sheri u (1985) citoplazmatski muški sterilitet je pronađen kod 169 biljnih vrsta koje pripadaju 61 rodu, odnosno 28 familija. Od ratarskih kultura ovaj tip steriliteta u proizvodnji sjemena se koristi kod: pšenice, ječma, sirka, lucerne, lana, kukuruza, šećerne repe, suncokreta i dr.

U nastavku ćemo dati primjere korištenja citoplazmatskog muškog steriliteta (cms) kod važnijih ratarskih kultura (kukuruz, pšenica, sirak, suncokret i lucerna).

#### *Korištenje cms-a u proizvodnji hibridnog sjemena kukuruza*

Neovisno o tipu cms-a, njegovo korištenje u proizvodnji hibridnog sjemena podrazumijeva:

- a) da potpuno eliminira (ili bitno smanji) potrebu čupanja metlica na majčinskoj biljci, a time proizvodnju hibridnog sjemena učini jeftinijom, kvalitetnijom i manje rizičnom,
- b) korištenjem cms-a ne smiju se mijenjati osobine hibrida,
- c) sigurnost oplodnje komercijalnog sjemenskog usjeva u bilo kojem rajonu (području) uzgoja ne smije biti dovedena u pitanje,
- d) povećanje citoplazmatske uniformnosti zbog njene šire primjene u sjemenarstvu ne smije postati uzrok nepredviđenih i nekontroliranih epifitocija bolesti i štetnika.

Tri su glavna tipa muškog steriliteta koja se mogu koristiti u proizvodnji hibridnog sjemena i to: teksaški tip (cms-T), moldavski ili S tip koji se danas zove USDA tip (cms-S) i C- tip (cms-C) koji je kod nas i najrašireniji. Teksaški muški sterilitet (cms-T) je do 1970. godine bio najviše korišten u proizvodnji hibridnog sjemena kukuruza jer je imao najveću stabilnost sterilnosti u ovisnosti od genotipa i uvjeta vanjske sredine, a uz to je i broj linija koje nose restorer gen (Rf1) nizak (oko 1 %). Pojavom epidemije *Helminthosporium maydis* rase "T", ovaj sterilitet je u čitavom svijetu povučen iz daljnjeg korištenja u proizvodnji hibridnog sjemena kukuruza iza 1970. god.

Do tada je, naime, preko 90 % hibridnog sjemena kukuruza proizvedeno na osnovi cms-T steriliteta, ali je zbog pojave *Helminthosporium maydis* rase "T", specifično virulentnog za ovaj tip citoplazme, njegova daljnja upotreba morala biti prekinuta kako u SAD tako i u svim zemljama za koje se smatra da imaju klimatske uvjete pogodne za razvoj ovog parazita. Od 1970. godine, dogovorom instituta i sjemenarskih kuća i bivša Jugoslavija je potpisala međunarodni dokument o eliminaciji cms-T steriliteta u proizvodnji hibridnog sjemena kukuruza.

Poslije prave katastrofe (1970) izazvane upotrebom cms-T steriliteta, genetičari, oplemenjivači i sjemenari su tražili novo rješenje problema čupanja metlica na majčinskoj komponenti hibridne proizvodnje kukuruza. Tako je pronađeno više rješenja, počev od mogućnosti da se specifična osjetljivost T-citoplazme na patoksin-T korigira korištenjem nucelnog gena supresora (Smith, 1971) do korištenja genetske muške sterilnosti u kombinaciji s pogodnim kromozomskim aberacijama (Peterson, 1971). Kako ova rješenja nisu našla praktičnu primjenu u sjemenarstvu već samo u oplemenjivanju, istraživanja su usmjerena na preispitivanje postojećih i otkrivenih tipova citoplazmatske muške sterilnosti.

Tako je 1971. g. Beckett, pored postojećeg S-tipa (moldavskog tipa) muške sterilnosti, otkrio novi tip kojeg je označio kao "cms-B" odnosno cms-C. Uporedna istraživanja cms-S i cms-C su pokazala da je cms-C pogodniji za sjemenarstvo, iako je cms-C manje pogodan od cms-T pošto se u ovom tipu bez teškoća može u zadovoljavajućoj mjeri sterilizirati samo oko 50% inbred linija. Prema Josephson, 1980. 20 % linija kukuruza su potpuni, a 30 % djelomični prirodni restoreri za ovaj tip steriliteta, pa se on u principu može koristiti u ograničenom obujmu i to samo za određene specifične povoljne hibridne kombinacije. Približno mogućnosti nudi i korištenje S-tipa steriliteta u hibridnoj proizvodnji sjemena kukuruza, pa se svaki od tipova može koristiti kod onih hibrida kod kojih daje najbolje rezultate, potvrđene i provjerene u praksi. Kod nas se skoro sve sjemenske

kuće koriste cms-C sterilitetom u proizvodnji hibridnog sjemena kukuruza, pa ćemo ovaj tip u nastavku detaljnije objasniti.

Praktično korištenje cms-C tipa muške sterilnosti mora udovoljavati zahtjevima navedenim pod a,b,c i d.

Problem citoplazmatske uniformnosti je imanentan (neodvojiv) ovim sustavima i zajednički svim kulturama kod kojih se cms koristi. Premda cms-C ne pokazuje specifičnu osjetljivost u odnosu na bilo kojeg poznatog patogena ostaje neugodno iskustvo i hipoteka da se to može dogoditi imajući u vidu stalnu promjenjivost i prilagođavanje patogena. Zato se upotreba samo jednog izvora (tipa) steriliteta u sjemenskoj proizvodnji kukuruza nameće s ograničenjem i vrlo strogim mjerama kontrole i opreza. Da bi riješili ovaj problem, *Gorgan* (1971) preporuča korištenje dva ili više tipova muške sterilnosti citoplazmi u smjesi (multiplasm approach). Ovo rješenje kod kukuruza se pokazalo najpovoljnijim jer otklanja problem citoplazmatske uniformnosti, ali mu je negativna strana što oplemenjivačima i sjemenarima nameće veliki selekcijski rad potreban za paralelno preobraćanje roditeljskih komponenti u različite sastave. Dakako da se podrazumijeva i mogućnost zadovoljavajuće sterilizacije istih genotipova u različitim tipovima citoplazme što nije uvijek slučaj u sjemenskoj proizvodnji kukuruza.

Potreba da se problem zakidanja metlica rješava djelomičnom upotrebom muške sterilnosti s jedne, te navedene teškoće i ograničenja s druge strane, prisilile su proizvođače hibridnog sjemena kukuruza da prihvate treće kompromisno rješenje. Ovo rješenje se sastoji u tome da se 50 do 70 % sjemena proizvodi na osnovi jedne od muško sterilnih citoplazmi, najčešće cms-C, a ostatak na osnovi normalne (fertilne) N-citoplazme (F-citoplazme) uz uobičajeno čupanje metlica. Kako ovaj pristup ne rješava u potpunosti problem čupanja metlica, on ublažava problem citoplazmatske uniformnosti a istovremeno prisiljava proizvođače da održavaju dovoljne količine osnovnog sjemena u normalnoj (N) citoplazmi kako bi u slučaju potrebe bila omogućena brza zamjena. Institut za oplemenjivanje i proizvodnju bilja, Zagreb, ulaže velike napore da proizvođačima hibridnog sjemena omogući ukupnu proizvodnju na osnovi smjese dva tipa citoplazmatske muške sterilnosti kod najraširenijih hibrida, pa se u ovom pravcu mogu uskoro očekivati dobri rezultati.

Tabela 1. Interakcija Inbred linije (IL) x Citoplazme (C) na prirod sjemena s 14 % vlage u t/ha

Inbred linija	Proizvod u t/ha		Razlika (C - N)
	Citoplazma - C <sup>1</sup>	Citoplazma - N	
V - 158	3,83	3,44	+ 0,39
Š - 144	3,60	2,54	+ 1,05
B - 73	5,71	5,13	+ 0,58
Mo - 17	4,96	4,39	+ 0,57
A - 632	5,02	4,80	+ 0,22
L - 518	3,24	3,31	- 0,07
Prosjeck:	4,39	3,93	+ 0,46
	Inbred linija (IL)	Citoplazma (C)	Interakcija (ILxC)
LSD	0,05	0,33	0,46
	0,01		0,61

<sup>1</sup>Inbred linije u C-citoplazmi su muško sterilne; Sve inbred linije u Citoplazmi-N su fertilne

Nepovoljnih utjecaja primjene steriliteta u sjemenarstvu kukuruza (prirod, kvalitet i sl.) nema. Dapače, muško-sterilne inbred linije skoro uvijek pokazuju superiornost u

pogledu priroda sjemena što se napose izražava u nepovoljnim klimatskim uvjetima i godinama (stresovi). Ovo se objašnjava indirektnim utjecajem muškog steriliteta jer muško-sterilne biljke ne troše hranjiva i energiju na formiranje polena i polinaciju već ta hranjiva i energiju usmjeravaju u nalijevanje sjemena.

Isto tako, hibridi dobiveni na osnovi muške sterilnosti pokazuju određenu superiornost u formiranju priroda u sušnim uvjetima ili kod većih sklopova. Muško sterilne biljke daju 10-15 % veći prirod sjemena od svojih fertilnih analoga, a ovu činjenicu koriste sjemenari u iskorištavanju tako što će proizvesti hibridno sjeme s nepotpuno povećanom fertilnošću u kome se postotak muškog steriliteta biljaka kreće 50-70%. U praksi se i kod nas koristi ova spoznaja kod proizvodnje hibridnog sjemena jer prisustvo muško-sterilnih biljaka od 50-70 % ne utječe na kvalitetu oplodnje sve dotle dok je postotak muško fertilnih biljaka veći od 25 %, Tabela 1. i 2.

Tabela 2. Interakcija Hibrid (H) x Citoplazma (C) na prirod sjemena s 14 % vlage u t/ha

Inbred linije	Prirod u t/ha		Razlika (C - N)
	Citoplazma - C	Citoplazma - N	
V - 158 x OH-43	10,28	9,81	+ 0,47
B - 73 x Mo-17 <sup>1</sup>	12,01	10,65	+ 1,36
A - 632 x L 155	8,89	8,87	+ 0,02
B - 73 x R-59	10,39	10,23	+ 0,16
V - 158 x Š-144 <sup>2</sup>	9,11	9,34	- 0,23
(V - 158 x Š-144) x 017-43	9,55	10,36	- 0,70
Prosjek:	10,06	9,88	+ 0,18
	Hibrid (H)	Citoplazma (C)	Interakcija (HxC)
LSD	0,05	0,18	0,45
	0,01	0,48	0,59

<sup>1</sup>cms-C verzija hibrida je imala 68% muško sterilnih biljaka

<sup>2</sup>cms-C verzija hibrida je bila muško sterilna

Prema Tabeli 1. i 2. vidljivo je da pojedini genotipovi s C- citoplazmom pokazuju određenu superiornost u odnosu na svoje normalne (N) analoge u pogledu priroda koja je izrazitija kod inbred linija zbog utjecaja čimbenika sterilitea. Postoji značajna interakcija između tipa citoplazme i genotipa, pa je superiornost cms-C analoga hibrida B 73 x Mo 17 bila najveća (povećan prirod za 12,77 %) što je dijelom posljedica prisustva 60 % muškog steriliteta biljaka u ovom hibridu za vrijeme istraživanja.

Vidljiva inferiornost posljednja dva hibrida u Tabeli 2. je prema ovim istraživanjima posljedica prisustva recesivnog alela jednog od restorer gena za cms-C prisutnog u liniji S- 144 nonrestorer - C, iz čega izvodimo zaključak da i različitih aleli restorer gena mogu imati značajan utjecaj na osobine linija i hibrida u sjemenskoj proizvodnji.

Restauracija fertilnosti F<sub>1</sub> generacije je vrlo važan preduvjet koji mora zadovoljiti svaki korišteni izvor steriliteta kod sjemenske proizvodnje, ali samo za kulture kod kojih je cilj uzgoja plod ili sjeme (pšenica, sirak, kukuruz i sl.). Problem upotrebe očinske komponente u sjemenarstvu s ugrađenim dominantnim genima za obnavljanje fertiliteta može se uspješno riješiti kod svih tipova citoplazmatske muške sterilnosti u proizvodnji hibridnog sjemena kukuruza. Restauracija fertilnosti cms-T vrše dominantni komplementarni geni Rf<sub>1</sub> Rf<sub>2</sub> na nivou sporofita, kod cms-S gen Rf<sub>3</sub> na nivou gametofita, dok je obnavljanje fertiliteta kod cms-C nedovoljno izučeno, a prema novijim istraživanjima za

to postoji više paralelnih sustava dominantnih komplementarnih gena, pri čemu je za neke od njih poznato da predstavljaju sustave od po tri komplementarna gena.

Sjemenare prvenstveno interesira korištenje cms tipa steriliteta s pozicije stabilnosti muške-sterilnosti majčinske komponente. Iako je cms uvjetovana čimbenicima citoplazme (plazmogeni) njihova ekspanzija je podložna modifikacijama kako činioca unutrašnje genotipske tako i uvjeta okoline. Rezultat tih utjecaja je pojava problema stabilnosti muške sterilnosti majčinske komponente, bilo kroz nemogućnosti učinka određenih linija sterilnim ili da neke muške sterilne linije na određenim lokacijama ili u određenim godinama pokazuju određen postotak fertiliteta. Kod onih linija koje se ne mogu potpuno prevesti na sterilitet, pokušava se reselekcijom ili sterilizacijom polena u drugom tipu citoplazme, pa kad nema rezultata, te se linije koriste kao muško-sterilni roditelji. Pojava fertiliteta kod upotrebe muško-sterilnih komponenti nameće proizvođačima ozbiljne probleme u sjemenarstvu.

Premda se na takvim biljkama izvjesna količina polena javlja sa kašnjenjem od 5-7 dana (probijanje steriliteta) u odnosu na normalno fertile analoge i iako je taj polen skoro uvijek nefunkcionalan i malo ga ima, aprobator-sjemenar u skladu sa zakonskim propisima ima pravo i obvezu smatrati te biljke muško-fertilnim pa je proizvođač sjemena u ovakvim slučajevima zatečen.

Naime, računajući na mušku sterilnost proizvođač ne čupa metlice i nije osigurao radnu snagu, pa mogu nastati konflikti problemi između proizvođača i sjemenara-aprobatora. Ovakvi problemi se rješavaju dogovorom. Instituti i sjemenske kuće rigorozno testiraju svoje komponente i isključuju svaku mogućnost korištenja onih muško sterilnih komponenti koje bilo kada i bilo gdje pokažu sposobnost da proizvedu funkcionalan polen prema tome, nije moguće isključiti i one koji povremeno izbacuju prazne antere ili eventualno proizvode malu količinu abortiranog polena. Kako se u određenim uvjetima okoline može dogoditi da muško-sterilne biljke proizvedu i funkcionalan polen, to se opreznost mora sačuvati, a aprobatoru dokazati da se proizvodnja odvija u skladu sa zakonodavstvom u sjemenarstvu. Postoje tri testa koji mogu potvrditi točnost navedenih podataka pri čemu prvi omogućava donošenje brze odluke u vrijeme oplodnje, a ostala dva služe za dokaz ili osporavanje kvalitete proizvodnje hibridnog sjemena kukuruza (kontrola pri berbi i u laboratoriju - elektroforeza).

Prema tome, prvi ili operativni test se sastoji u uzimanju uzoraka na tzv. djelomično fertilnim biljkama, polen se stavi pod lupu ili mikroskop uz povećanje 40-60 puta i pregleda. Kod ove analize vidljiva su dva tipa polenovih zrnaca i to osušena (nepravilnog oblika, trokutasta) i okrugla (potpuno prozirna) pri čemu su oba tipa polenovih zrnaca nefunkcionalna (abortirana) pa nije potrebno čupanje metlica. Ponekad se kod pregleda i analize uzoraka javlja i treći tip polenovih zrnaca koja su ispunjena škrobom, nešto manja od fertilnih, nisu prozirna pa mogu biti funkcionalna. Ovdje se mora utvrditi prosječni postotak fertilnih polenovih zrnaca, pa ako je on veći od 2 %, a kod pojedinačnih biljaka prelazi 5 % pri manje od 80 % završene oplodnje mora se ići na kontrolno čupanje metlica.

Neovisno da li se kontrolno čupanje metlica provodi ili ne, potrebno je provesti test koji će pokazati da li je uočen polen funkcionirao u oplodnji i ako jeste u kojoj količini. Zato su u tom cilju izoliraju metlice slučajnim izborom na sjemenskoj površini koje pokazuju fertilnost uz istovremeno pronalaženje toliko klipova koji nisu svilali pa ih izoliramo. Poslije jednog dana potrebno je uzeti polen s izoliranih majčinskih biljaka i na pojedinačnoj osnovi izvršiti oplodnju, kod čega vrećice korištene za izolaciju metlice ostaju pričvršćene na test biljaka kako bi onemogućile naknadnu oplodnju. Zatim se određuje postotak biljaka majčinske komponente koje praše okom vidljivi polen u vrijeme oplodnje.

Pred berbu je potrebno otvoriti izolirane vrećice na test biljkama i vidjeti da li ima oplodnje tj. da li se formiralo sjeme, pa ako nema, što je najčešće, sjemenski usjev je u redu. Ukoliko na oklasku ima sjemena, što je rijedak slučaj, potrebno je utvrditi postotak formiranih sjemenki na test biljkama te isti pomnožiti s postotkom biljaka koje su prašile u vrijeme oplodnje, a dobivenu vrijednost podijeliti sa 100. Ako rezultat, koji približno predstavlja maksimalno mogući postotak samooplodnje bude veći od jedan, treba provesti i biološki test koristeći za to tzv. zimsku generaciju kada je to moguće, obično u Dalmaciji. Normalan, zadovoljavajući nivo hibridizacije sjemenskog usjeva je realiziran kada biološki test pokaže manje od 0,5 % roditeljske komponente u hibridnom sjemenu kukuruza. U navedenu proceduru ne ulaze normalno fertile biljke i autkrosevi koji se iz razno raznih uzroka mogu pronaći u muško-sterilnoj komponenti jer se one u redovnoj kontroli mogu lako uočiti i eliminirati mehaničkim putem, svakako prije prašenja (polinacije i oplodnje).

Odnos između fenotipske tj. vidljive fertiliteta biljaka i funkcionalne fertiliteta njihovog polena kod različitih genotipova možemo vidjeti u Tabeli 3. Fenotipska fertilitet se određuje putem ocjene fertiliteta (1-5) prema Beckettu (1971) i postotka biljaka koje praše (3-5). Funkcionalna fertilitet polena određivana je indeksom ukupne fertiliteta,  $If(t)$ . Vidljivo je da se kod genotipova s manjim postotkom biljaka koje praše (ispod 10 %) rijetko javlja funkcionalan polen. Hoće li se ili ne pojaviti funkcionalni polen zavisi od genotipa, pa tako kod linije A-632 cms-C (Bjeljina, 1983) kod 25 % biljaka koje praše nije bilo funkcionalnog polena, ali se funkcionalni polen pojavio kod muško sterilnog hibrida (L-518 x L-2039) cms-C i kod 1,3 % biljaka koje su prašile. Ponekad se i selekcijom unutar inbred linije može izolirati genotip sa vrlo dobrom stabilnošću steriliteta. Tako npr. linija S-61 (132/11) cms-C dobivena je selekcijom u populaciji linije S-61 čiji sterilitet ne zadovoljava.

Tabela 3. Stabilnost muške sterilnosti Interakcija genotipa x cms-C (prosjeak za 2 god. i 2 lokacije)

Red. br.	Ocjena fertiliteta	% biljaka koje praše	Ukupna fertilitet u % $If(t)$	
1	2	3	4	
1.	L-518 cms-C	2,77(1-5)	63,55(33-76)	44,79(39-51)
2.	L-518 cms-C x L-2039	1,02(1-4)	0,52(0,0-1,3)	0,16(0,0-0,8)
3.	V-158 cms-C	1,00	0,00	0,00
4.	Š-144 cms-C	1,09(1-3)	2,12(0,0-5,7)	0,00
5.	K-158 cms-C x Š-144 nr C	1,09(1-3)	0,23(0,0-0,5)	0,00
6.	Š-144 cms-C x V-158 nr C	1,05(1-3)	0,55(0,0-2,1)	0,00
7.	A-632 cms-C HT	1,38(1-3)	7,69(0,7-25)	0,00
8.	A-032 cms-C Ht x A-632	1,76(1-4)	23,32(11-44)	1,95
9.	Tt-81/1-cms-C	1,00	0,00	0,00
10.	Td-81/1-cms-C-xS-610	2,27(1-5)	08,30(33-74)	12,29(12-13)
11.	S-61 cms-C x Td-81/1-1	2,16(1-5)	44,48(23-63)	28,26(14-43)
12.	S-61 cms-C x F-182 nr C	1,03(1-3)	0,35(0,0-0,8)	0,00
13.	S-61 cms-C x K-1 nr C	1,29(1-5)	8,45(2,8-13,3)	1,72(1,3-2,14)
14.	S-61 cms-C	1,60(1-3)	20,66(10-34)	3,95(3,8-8,1)
15.	S-61 (132/11)cms-C	1,00	0,00	0,00



Sustav proizvodnje sjemena hibrida kukuruza (ovaj sustav vrijedi i za sve druge kulture) prikazat ćemo u nastavku teksta (proizvodnja osnovnog sjemena, proizvodnja komercijalnog hibridnog sjemena).

*Proizvodnja osnovnog sjemena kukuruza*

1. Umnažanje muško sterilnih inbred linija;  
muško-sterilna linija A rf/rf cms x muško-fertilna linija A rf/rf = muško-sterilna linija A. rf/rf cms
2. Umnažanje muško sterilnih hibrida  
muško-sterilna linija A rf/rf x muško-fertilna linija B Rf/Rf = muško-sterilni hibrid (AxB) rf rf cms

*Proizvodnja komercijalnog hibridnog sjemena*

1. Dvolinijski hibrid (Single cross)  
muško-sterilna linija A rf/rf cms x muško-fertilna linija B Rf/Rf = muško-fertilni hibrid (AxB) Rf/rf cms
2. Trolinijski hibrid (Threeway cross)  
muško-sterilni hibrid (AxB) rf/rf cms x muško-fertilna linija C Rf/Rf = muško-fertilni hibrid  $[(AxB) \times C]$ . Rf/rf cms
3. Četverolinijski hibrid (Double cross) na 2 načina a i b:
  - a) muško-sterilni hibrid (AxB) rf/rf cms x muško-fertilni hibrid (CxD) Rf/rf cms = 50% muško-fertilni hibrid (AxB) x (CxD) Rf/rf cms i 50% muško-sterilni hibrid (AxB) x (CxD) rf/rf cms
  - b) muško-sterilni hibrid (AxB) rf/rf cms x muško-fertilni hibrid (CxD) Rf/Rf = muško-fertilni hibrid (AxB) x (CxD) Rf/rf cms

Kod šećerne i stočne repe i drugih kultura gdje je glavni cilj hibridizacije vegetativni organ (korijen i sl.) restauracija fertiliteta F<sub>1</sub> generacije je nepotrebna.

*Korištenje cms-a u proizvodnji hibridnog sjemena pšenice*

Korištenje bujnosti rasta (heterozisa), a k tome i muškog steriliteta se kod pšenice ozbiljnije razvija za sada u Francuskoj, Engleskoj, Nizozemskoj i sl. Da bi korištenje heterozisa u proizvodnji hibridnog sjemena bilo ekonomski opravdano neophodno je riješiti slijedeće probleme:

- a) pronaći pogodan tip citoplazmatskog muškog steriliteta sa zadovoljavajućom stabilnošću steriliteta,
- b) pronaći odgovarajuće restorer gene koji bi pouzdano obnavljali fertilitet F<sub>1</sub> generacije, i
- c) riješiti probleme vezane za sam proces hibridizacije, odnosno proizvodnju hibridnog sjemena pšenice.

Do sada je kod pšenice pronađeno više tipova muškog steriliteta od kojih je *Triticum timophevi* tip pokazao najbolje rezultate. Daleko veći problem u sjemenarstvu pšenice (a i drugih strnih žitarica, ječam, raž, zob i sl.) je pronalaženje pogodnih restorer gena koji bi pouzdano i sigurno obnovili fertilitet F<sub>1</sub> generacije. Kako je pšenica samooplodna kultura, a građa cvijeta nije podešena rasipanju svog i primanju stranog polena kod najvećeg broja kultivara, a što bi značilo i potrebnu reselekciju u tom cilju. Eksperimentalni utvrđeni nivo heterozisa kod pšenice nije veličine heterozisa kukuruza, što proizvodnju hibridnog sjemena pšenice danas u svijetu ograničava na 300-500.000 ha. Shematska primjena proizvodnje hibridnog sjemena pšenice ista je kao i kod kukuruza pa ju je nepotrebno ponavljati.

Osim cms steriliteta kod pšenice se eksperimentira i u pokusnoj proizvodnji primjenjuje s drugim alternativnim sustavima kao što su sustav balansiranih tercijarnih trisomika i tzv. XYZ sustavi, koji spadaju u genetsko-kromosomsku mušku sterilnost. Istovremeno se ispituju i mogućnosti korištenja inducirane muške sterilnosti koja bi se postigla tretiranjem majčinske komponente sa nekom od kemikalija (gametocida) koje sprečavaju fomiranje i rasipanje polena na klasu pšenice.

#### *Korištenje cms-a u proizvodnji hibridnog sjemena sirka*

Suvremena proizvodnja sirka se ne može danas zamisliti bez upotrebe hibridnog sjemena. Prva prava komercijalna proizvodnja hibridnog sjemena na osnovi cms-a započeta je još 1954. godine (Stephens i Holland). Kako je sirak jednodomna stranooplodna biljna vrsta sa hermafroditnim cvjetovima, proizvodnja hibridnog sjemena je bila omogućena otkrićem i primjenom cms-a. Preko 80% ukupnog sjemena koji se koristi za proizvodnju merkantilnog siraka proizveden je na osnovi cms-a, pri čemu se isključivo koristi milo-kafir sustav citoplazmatskog muškog steriliteta. Međutim, evidentna su nastojanja da se iznađu novi tipovi cms-a i time ublaži problem citoplazmatske uniformnosti. Pored već pomenutog pronađeni su i novi tipovi muškog steriliteta koji se sada koriste u proizvodnji hibridnog sjemena sirka kao što je A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>3</sub>, A<sub>4</sub>, i 9E koji se razlikuju međusobno, ali i od milo citoplazme na osnovu test križanja s restorer linijama, a što potvrđuje Schertz, 1983. godine.

#### *Korištenje cms-a u proizvodnji hibridnog sjemena suncokreta*

Još je davne 1969. godine Leclercque otkrio i u sjemenarstvu primjenio producirajući prvi hibrid suncokreta na osnovu cms-a INRA 6501. Time je otvorena nova stranica u proizvodnji sjemena hibridnog suncokreta koja se danas primjenjuje u svijetu 95 % ukupne sjemenske proizvodnje sjemena suncokreta. Svi hibridi suncokreta se uglavnom zasnivaju na cms tipu muškog steriliteta koji je dobiven iz križanja *Helianthus petiolaris* i *Helianthus annuus*. Restauraciju fertiliteta izazivaju dominantni komplementarni geni čiji broj nije točno do danas utvrđen a procjenjuje se da ih ima 2-4 (Whelen, 1980). Obzirom da je suncokret stranooplodna vrsta, sustav proizvodnje hibridnog sjemena je klasičan (kao i kod kukuruza) pa je bitna razlika u odnosu na kukuruz ta što je suncokretu potrebna znatno veća izolacija nego za kukuruz. Ovo iz razloga što insekti (bumbari, pčele i sl.) lete na udaljenosti od nekoliko kilometara i mogu izazvati nekontroliranu oplodnju. Kao i kod drugih kultura, u toku su istraživanja novih tipova muške sterilnosti čime bi se ublažio problem citoplazmatske uniformnosti pri čemu su i postignuti određeni rezultati (Škorić, 1985; Avert, 1986). Sve zagrebačke, osječke i novosadske kreacije uljanog i bjelančevinastog suncokreta su hibridi napravljeni na osnovi citoplazmatskog muškog tipa steriliteta.

#### *Korištenje cms-a u proizvodnji hibridnog sjemena šećerne repe*

U proizvodnji hibridnog sjemena šećerne repe koristi se jedan tip citoplazmatske muške sterilnosti označen kao "S-tip" (Owen, 1954). Kod ovog tipa steriliteta, dominantni aleli gena X i Z ponašaju se kao supresori muške sterilnosti pri čemu pojedinačno vrše djelomičnu, a zajedno potpunu restauraciju fertiliteta. Da bi se određena linija koristila kao muško-sterilna majčinska komponenta u proizvodnji hibridnog sjemena šećerne repe, ona mora posjedovati recesivne alele ova dva gena.

Proizvodnja hibridnog sjemena šećerne repe vrši se križanjem muško-sterilne linije majke s muško fertilnom linijom oca koja ima normalno fertilnu, (F) ili (N) citoplazmu i može, a ne mora nositi dominantne alele gena X i Z obzirom da restauracija fertiliteta F<sub>1</sub>

generacije kod repe nije značajna (cilj uzgoja nije sjeme već korijen). U posljednje vrijeme u proizvodnji hibridnog sjemena šećerne repe se prelazi na isključivo korištenje hibridnog sjemena što je orijentacija svih selekcijskih kuća u Europi.

#### ZAKLJUČAK

Na osnovu iznešenog u ovom radu možemo zaključiti:

Otkrivanje muške sterilnosti u biljnoj proizvodnji putem genetskih i oplemenjivačkih istraživanja omogućilo je stabiliziranje steriliteta i njegovu primjenu u sjemenarstvu.

Praktična primjena različitih izvora muške sterilnosti u sjemenarstvu omogućava ogromne racionalizacije i uštede novca pri proizvodnji hibridnog sjemena, te ostvarenje značajnog profita.

Integralno sjemenarstvo u suvremenim trendovima se ne može ni zamisliti bez korištenja različitih izvora muške sterilnosti.

#### USE OF MALE STERILITY IN SEED PRODUCTION OF FIELD CROPS

##### SUMMARY

The paper deals with male sterility and its use in seed production of major field crops. Theoretical aspects of utilization of carioplasmatic, cytoplasmatic and combined male sterility in maize, wheat, sorghum, sunflower and sugar beet seed production has been discussed.

The main purpose of the paper is to help seed producers and all the other professionals interested in seed production.

##### LITERATURA-REFERENCES

1. Airy, J. M. 1950. Current problems of detasseling. Rept. 5th Ann. Hybrid Corn Industry Res. Conf., 5:17-17.
2. Beckett, J. B. 1971. Classification of male sterile cytoplasm in maize. (*Zea mays* L.) Crop. Sci., 11:724-727.
3. Duvick, D. N. I. 1972. Potential usefulness of new cytoplasmic male steriles and sterility systems. Proc. of the 27th Ann. Corn and Sorghum Res. Conf. - pp. 197-201.
4. Josephson, L. M. 1978. Genetics and inheritance of fertility restoration of male sterile cytoplasm in corn. Proc. 33-th Corn-Res. Conf., 7-13
5. Milošević, J. 1971. Oplemenjivanje bilja, Zagreb
6. Mišaljević, I. 1972. Iznalaženje restauratora fertilnosti i proučavanje restauracije kod cit. m. st. sorti pšenice. Savremena poljoprivreda XXI (2): 31-45. Novi Sad
7. Heneberg, R. 1988. Sjemenarstvo (Opći dio za ratere), interna skripta, Zagreb
8. Kolak, I. 1989. Sjemenarstvo (I), interna skripta za ratere, Zagreb. Kolak, I. 1989. Sjemenarstvo II (sjemenarstvo strnih žitarica), interna skripta, Zagreb.
10. Kolak, I. 1989. Sjemenarstvo III (principi dorade sjemena žitarica i krupnosjemenih fabaceae), interna skripta, Zagreb
11. Kolak, I. 1989. Sjemenarstvo IV (metode uzimanje uzoraka sjemena) interna skripta, Zagreb
12. Patterson, E. B. 1971. Proposed procedures for the use of genetic male sterility in hybrid maize production. Illinois Corn Breeders Scholl, March 11
13. Sharz, K. F. 1983. Potential with new cytoplasmic male sterility system in sorghum, 37-th Proc. Corn and sorghum Res. Conf., pp 1-10.
14. Smith, D. R. 1971. Disease reaction of thirty sources of cytoplasmic male sterile corn to *Helminthosporium maydis* race-t. Crop. Sci., 11:772-773.
15. Tavčer, A. 1950. Dominantna sterilnost kod kukuruza, Jug. akad. znan. i umjet. Zagreb
16. Tavčer, A. i Kump, M. 1956. Komibnatorna vrijednost nekih naših samooplođenih linija kukuruza. Biljna proizvodnja, Zagreb

I. Kolak: Primjena steriliteta u sjemenarstvu nekih ratarskih kultura

Sjemenarstvo 12(95)4-5, str. 329-348

---

17. Tavčer, A. 1959. Oplemenjivanje bilja, Zagreb

18. Whelen, E. D. P. 1980. A new source of cytoplasmic male sterility in sunflower. Euphytica 29:33-46.

**Adresa autora - Author's address:**

prof.dr. Ivan Kolak  
Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu  
Zavod za oplemenjivanje bilja, genetiku i metodiku istraživanja  
Svetošimunska 25  
HR - 10 000 Zagreb

**Primljeno - Received:**

15. 05. 1995.