

**JANUSZ ZIMNY**  
**KATARZYNA MAKOWSKA**  
**ALEKSANDRA ZIMNY**  
**ANDRZEJ CZAPLICKI**  
**SŁAWOMIR SOWA**  
**SYLWIA OLESZCZUK**

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — Państwowy Instytut Badawczy, Radzików  
Zakład Biotechnologii i Cytogenetyki Roślin, Pracownia Kultur Tkankowych  
e-mail: j.zimny@ihar.edu.pl

## Postęp w indukowaniu androgenezy i regeneracji roślin na przykładzie kultur *in vitro* mikrospor żyta

Dokonania wielu laboratoriów w ciągu ostatnich 50 lat doprowadziły do praktycznego wykorzystania systemu podwojonych haploidów (DH) w hodowli roślin. W latach siedemdziesiątych zarejestrowano pierwszą odmianę jęczmienia uzyskaną przy wykorzystaniu zjawiska androgenezy. W następnych dziesięcioleciach obserwowano rosnące zainteresowanie wśród naukowców i hodowców podwojonymi haploidami u wielu gatunków roślin. W Polsce spółki HR Strzelce i HR Danko rejestrowały uzyskane tą metodą odmiany pszenżyta. Dziś wszystkie strategie hodowli heterozyjnej zbóż przewidują wykorzystanie DH na różnych etapach procesu hodowlanego (Marulanda i in., 2016). DH umożliwiają zastosowanie linii homozygotycznych w badaniach podstawowych, jak też w eksperymentalnej hodowli roślin. Potomstwo takich linii nie segreguje w kolejnych pokoleniach. Postęp obserwowany w hodowli roślin, który dokonuje się dzięki liniom homozygotycznym prowadzi do wniosku, że androgeneza indukowana *in vitro* jest obecnie najskuteczniejszą metodą biotechnologiczną stosowaną w praktyce hodowlanej.

Podstawowa zaletą androgenezy jest to, że linie homozygotyczne można uzyskać w krótkim czasie. Po wielu latach doświadczeń regeneracja DH żyta, owsa czy pszenicy nadal stanowi wyzwanie dla badaczy. Pomimo wysiłków zmierzających do opracowania skutecznej metody produkcji podwojonych haploidów zbóż nadal wiele problemów pozostaje nierozwiązanych. Jednym z nich jest to, że genotyp pozostaje ciągle głównym czynnikiem, od którego zależy efektywność androgenezy w kulturach *in vitro*.

Wymuszona zmiana szlaku rozwojowego haploidalnych komórek z gametofitowego na sporofitowy była wywoływana przez różne czynniki stresogenne. Zastosowanie odpowiedniego stresu na właściwym etapie nie tylko zatrzymuje rozwój mikrospor prowadzący naturalnie do powstania ziarna pyłku, ale również przeprogramuje te komórki w kierunku inicjowania rozwoju zarodka. Co więcej, rodzaj stresu ma związek z liczbą zregenerowanych zielonych i albinotycznych roślin, jak też skutecznością spontanicznego podwajania liczby chromosomów, dzięki czemu regeneranty stają się płodne.

Po roku 2000 w ZBiCR w IHAR — PIB we współpracy z dr Lucjanem Madejem rozpoczęto prace nad regeneracją roślin żyta z haploidalnych mikrospor. Dobór zastosowanego stresu zmieniającego ścieżkę rozwojową mikrospory oraz prace nad selekcją androgenicznych genotypów doprowadziły do regeneracji DH tego gatunku z wysoką wydajnością. Taka wydajność androgenezy umożliwi w przyszłości skrócenie cyklu hodowlanego nowych odmian heterozyjnych.

W ramach prezentowanych prac badano wpływ różnych stresów na żywotność mikrospor. Zastosowano wiele kombinacji stresowych w celu zaindukowania androgenezy. Eksperymenty przeprowadzono na mikrosporach i pylnikach kilku linii hodowlanych żyta ozimego. Wyniki wykazały korelację między genotypem i stosowanym stresem, a poziomem indukcji androgenezy i śmiertelności mikrospor we wczesnym etapie kultury. Przeżywalność mikrospor była najwyższa po wstępnym chłodzeniu kłosów w temperaturze 4°C przez dwa tygodnie i dalszej wstępnej kulturze pylników w roztworze mannitolu w temperaturze 4°C przez siedem dni. Chłodzenie kłosów przez trzy tygodnie, było równie skuteczne.

#### LITERATURA

- Marulanda J. J., Mi X., Melchinger A. E., Xu J-L Würschum T., Longin C. F. 2016. Optimum breeding strategies using genomic selection for hybrid breeding in wheat, maize, rye, barley, rice and triticale TAG; 129, 10: 1901 -1913