

TADEUSZ ADAMSKI <sup>1</sup>  
MARIA SURMA <sup>1</sup>  
ALEKSANDRA PONITKA <sup>1</sup>  
AURELIA ŚLUSARKIEWICZ-JARZINA <sup>1</sup>  
KAROLINA KRYSZKOWIAK <sup>1</sup>  
ANETTA KUCZYŃSKA <sup>1</sup>  
HANNA PUDELSKA <sup>1</sup>  
KRZYSZTOF RUBRYCKI <sup>2</sup>  
RENETA TRZECIAK <sup>1</sup>  
JOLANTA WOŹNA <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu

<sup>2</sup> Poznańska Hodowla Roślin Sp. z o. o. w Tulcach

## Efektywność uzyskiwania haploidów pszenicy metodą kultur pylnikowych oraz krzyżowania z kukurydzą

### Production efficiency of wheat haploids by anther culture and wheat × maize crosses

Celem pracy było porównanie efektywności uzyskiwania haploidów pszenicy metodą kultur pylnikowych oraz poprzez krzyżowanie z kukurydzą. Materiałem badawczym były mieszańce F<sub>1</sub> pszenicy ozimej z 48 kombinacji krzyżówkowych. Oceniano efektywność uzyskiwania zielonych roślin w odniesieniu do liczby wyłożonych pylników oraz liczby zapylnych kwiatków. Stwierdzono wyraźne różnice w efektywności otrzymywania roślin w zależności od zastosowanej metody i genotypu. Współczynnik korelacji między efektywnością otrzymywania form haploidanych dwiema zastosowanymi metodami był nieistotny ( $r = -0,036$ ). Wykorzystanie równolegle dwóch metod haploidyzacji pozwoliło otrzymać rośliny z 89,6% badanych genotypów.

**Słowa kluczowe:** androgeniza, krzyżowanie oddalone, otrzymywanie haploidów, pszenica ozima

Two methods of wheat haploid production - anther culture and wheat × maize crosses were compared. Material for the study covered F<sub>1</sub> hybrids of winter wheat from 48 cross combinations. Efficiency of green plant regeneration was assessed in relation to anthers plated and florets pollinated. Significant differences in efficiency of wheat plant production depending on the method and plant genotype used were found. The coefficient of correlation between the effectiveness of applied methods was very low and not significant ( $r = -0.036$ ). The parallel application of the two methods for haploid production made possible to obtain plants from 89.6% of the genotypes studied.

**Key words:** androgenesis, haploid production, wheat × maize crosses, winter wheat

## WSTĘP

Techniki haploidyzacji roślin są już od przeszło 30 lat z powodzeniem wykorzystywane zarówno w badaniach podstawowych, jak i pracach hodowlanych. Otrzymanie form haploidalnych, a następnie podwojenie liczby chromosomów u haploidów pozwala uzyskać w ciągu jednego pokolenia formy całkowicie homozygotyczne (linie podwojonych haploidów). Haploidy pszenicy na skalę komercyjną otrzymuje się poprzez eliminację chromosomów zachodzącą po skrzyżowaniu pszenicy z kukurydzą (Barclay, 1975; Laurie i Bennett, 1988, 1989; Wędzony i in. 1996; Krystkowiak i in., 2004) lub poprzez androgenezę (Ponitka i Ślusarkiewicz-Jarzina, 1996; Barnabás i in., 2001; Xynias i in., 2001; Redha i Talaat, 2008).

W wyniku zapylenia pszenicy pyłkiem kukurydzy uzyskuje się zarodek mieszańcowy, jednak podczas kolejnych podziałów mitotycznych komórek eliminowany jest selektywnie genom kukurydzy, co w konsekwencji prowadzi do powstania formy haploidalnej pszenicy. Ze względu na postępującą degenerację bielma, konieczne jest wyizolowanie zarodka w okresie 14–18 dni po zapyleniu i przeniesienie go na pożywkę celem uzyskania w warunkach *in vitro* ukorzonej rośliny. Wszystkie otrzymane tą metodą rośliny są zielone, nie ma zmienności w liczbie chromosomów wynikającej z zastosowania kultury *in vitro*. Ponadto nie występują tzw. genotypy odporne, z których nie można uzyskać form haploidalnych (co często ma miejsce w metodzie kultur pylnikowych). Na efektywność uzyskiwania roślin haploidalnych tą techniką istotny wpływ mają zarówno czynniki abiotyczne (pożywka, warunki wzrostu roślin donorowych, technika kastrowania itp.) jak i genotyp roślin (Suenaga, 1994, Lei i in., 1996; Krystkowiak i in., 2004).

W procesie androgenozy następuje zahamowanie normalnego rozwoju mikrospor, które w kulturach *in vitro* zostają pobudzone do rozwoju w struktury wielokomórkowe (embrioidy) i poprzez androgeniczne zarodki lub kalus różnicują się rośliny haploidalne lub spontanicznie podwojone haploidy. Do indukcji androgenozy wykorzystuje się kultury pylnikowe lub kultury izolowanych mikrospor, które stwarzają możliwość regeneracji dużej liczby haploidalnych roślin z jednego pylnika. Uzyskiwanie haploidów jest procesem złożonym, uzależnionym od wielu czynników, między innymi stanu fizjologicznego rośliny, z której pobierane są pylniki, sposobu traktowania kłosów, stadium rozwojowego pyłku, komponentów pożywek indukcyjnych i regeneracyjnych (różniących się zawartością i stężeniem mikro- i makroelementów, substancji wzrostowych, witamin i cukrów), warunków fizycznych hodowli pylników jak temperatura, długość fotoperiodu i intensywność oświetlenia (Ghaemi i in., 1993; Karsai i in., 1994; Kang i in., 2003).

Celem badań było porównanie efektywności otrzymywania form haploidalnych pszenicy ozimej z wybranych mieszańców F<sub>1</sub> metodą krzyżowania z kukurydzą oraz metodą kultur pylnikowych. Dokonano także ich oceny pod względem parametrów związanych z efektywnością uzyskiwania roślin.

## MATERIAŁ I METODY

Materiałem do badań były mieszańce pokolenia F<sub>1</sub> pszenicy ozimej (*Triticum aestivum* L.) uzyskane w wyniku krzyżowań prostych i złożonych odmian oraz zaawansowanych rodów (łącznie 48 kombinacji krzyżówkowych). Mieszańce pochodziły z HR DANKO sp. z o.o. (CHD), HR Strzelce sp. z o.o. (STH), HR Smolice sp. z o.o. (SM), MHR Polanowice sp. z o.o. (P), Poznańskiej Hodowli Roślin Oddz. Antoniny (AND), HRR Nasiona Kobierzyc sp. z o.o. (K). Przeznaczone do badań rośliny jarowizowano w okresie zimowym w warunkach polowych. Wiosną rośliny przesadzano do doniczek w szklarni. W prowadzonych pracach nad uzyskaniem form homozygotycznych poprzez krzyżowanie pszenicy z kukurydzą i metodą kultur pylnikowych, korzystano z roślin donorowych wprowadzanych w tych samych warunkach środowiskowych.

**Metoda krzyżowania pszenicy z kukurydzą**

Materiał do badań stanowiły mieszańce F<sub>1</sub> z 35 kombinacji krzyżówkowych. Stosowano standardową procedurę otrzymywania form haploidalnych pszenicy drogą krzyżowań z kukurydzą (Laurie i Bennett, 1988). Pyłkiem kukurydzy odmiany Waza zapylano od 40 do 60 kłosów z każdej kombinacji krzyżówkowej. Kłosa po zapyleniu traktowano roztworem 2,4-D zgodnie z procedurą opisaną w pracy Krystkowiak i wsp. (2004). Zarodki izolowano na pożywkę B5 (Gamborg i in., 1968) po 15–18 dniach od zapylenia.

**Metoda kultur pylnikowych**

Z roślin pokolenia F<sub>1</sub> z 33 kombinacji krzyżówkowych rosnących w szklarni ścinano pędy z kłosami zawierającymi pylniki w stadium jednojądrowych ziaren pyłku. Kłosa umieszczano przez 7 dni w roztworze inkubacyjnym zawierającym mikro- i makroelementy wg pożywki N6 (Chu i in., 1975) z dodatkiem 2 mg l<sup>-1</sup> 2,4-D, w temperaturze 4°C. W sterylnych warunkach izolowano po około 1500 pylników z każdego genotypu i wykładano na pożywkę PII (Chuang i in., 1978) indukującą proces androgenezy (po około 200 pylników na szalkę o średnicy 6 cm). Kultury pylnikowe inkubowano w termostacie, w temperaturze 28°C. Po miesiącu androgeniczne struktury przenoszono na pożywkę regeneracyjną 190-2 (Zhuang i Xu, 1983) zawierającą 0,5 mg l<sup>-1</sup> KIN + 0,5 mg l<sup>-1</sup> NAA. Dalszą hodowlę prowadzono w temperaturze 22°C, przy oświetleniu 4000 Lx, przez 12 godzin na dobę w celu zaindukowania organogenezy. Zielone, ukorzone w warunkach *in vitro* roślinki wysadzano do ziemi i aklimatyzowano do naturalnych warunków.

Efektywność uzyskiwania roślin z wykorzystaniem kultur pylnikowych i krzyżowania z kukurydzą porównano dla 20 wybranych mieszańców, które stanowiły wspólny dla obu metod materiał badawczy. W metodzie krzyżowania pszenicy z kukurydzą oceniano stosunek zarodków oraz roślin haploidalnych do liczby zapylnych kwiatków, natomiast w metodzie kultur pylnikowych stosunek androgenicznych struktur i zielonych roślin do liczby wyłożonych pylników.

## WYNIKI I DYSKUSJA

W tabeli 1 podano liczbę kwiatków zapylnych pyłkiem kukurydzy oraz liczbę zarodków i roślin haploidalnych uzyskanych z każdej kombinacji krzyżówkowej. Z zapylnych 59221

kwiatków otrzymano 38000 rozrośniętych załąźni, z których wyizolowano ponad 5800 zarodków. Rośliny uzyskano z każdej kombinacji krzyżówkowej, łącznie 1121 haploidów.

Tabela 1

**Rezultaty krzyżowania badanych mieszańców pszenicy z kukurydzą**  
**Effects in crosses between wheat hybrids and maize**

Genotyp Genotype	Liczba zapylnych kwiatków Pollinated florets	Liczba zarodków Embryos (no.)	Liczba otrzymanych roślin haploidalnych Haploid plants (no.)	Liczba roślin haploidalnych /100 zarodków Haploids/100 embryos	Liczba roślin haploidalnych /100 kwiatków Haploids/ 100 florets pollinated
<b>CHD 4047</b>	<b>680</b>	<b>38</b>	<b>16</b>	<b>42,1</b>	<b>2,3</b>
<b>CHD 4070</b>	<b>1062</b>	<b>89</b>	<b>12</b>	<b>13,5</b>	<b>1,1</b>
<b>CHD 4103</b>	<b>754</b>	<b>69</b>	<b>12</b>	<b>17,4</b>	<b>1,6</b>
<b>CHD 4143</b>	<b>1676</b>	<b>126</b>	<b>20</b>	<b>15,9</b>	<b>1,3</b>
<b>CHD 4172</b>	<b>845</b>	<b>92</b>	<b>4</b>	<b>4,3</b>	<b>0,5</b>
<b>CHD 4173</b>	<b>606</b>	<b>21</b>	<b>9</b>	<b>42,9</b>	<b>1,5</b>
<b>CHD 4265</b>	<b>886</b>	<b>120</b>	<b>5</b>	<b>4,2</b>	<b>0,6</b>
<b>CHD 4310</b>	<b>716</b>	<b>36</b>	<b>2</b>	<b>5,6</b>	<b>0,3</b>
<b>AND 34</b>	<b>2776</b>	<b>129</b>	<b>72</b>	<b>55,8</b>	<b>2,6</b>
<b>AND 170</b>	<b>2416</b>	<b>184</b>	<b>65</b>	<b>35,3</b>	<b>2,7</b>
<b>AND 79</b>	<b>2372</b>	<b>149</b>	<b>57</b>	<b>38,3</b>	<b>2,4</b>
<b>K 317</b>	<b>3715</b>	<b>558</b>	<b>103</b>	<b>18,5</b>	<b>2,8</b>
K 267	2217	251	69	27,5	3,1
K 96	2838	479	104	21,7	3,7
<b>SM 14</b>	<b>3807</b>	<b>444</b>	<b>86</b>	<b>19,4</b>	<b>2,3</b>
<b>SM 15</b>	<b>4192</b>	<b>348</b>	<b>70</b>	<b>20,1</b>	<b>1,7</b>
<b>SM 16</b>	<b>3942</b>	<b>337</b>	<b>66</b>	<b>19,6</b>	<b>1,7</b>
<b>STH 268</b>	<b>4126</b>	<b>413</b>	<b>24</b>	<b>5,8</b>	<b>0,6</b>
<b>STH 506</b>	<b>2267</b>	<b>218</b>	<b>22</b>	<b>10,1</b>	<b>1,0</b>
STH 206	356	14	3	21,4	0,8
STH 208	386	43	9	20,9	2,3
STH 21	246	11	2	18,2	0,8
STH 232	622	64	18	28,1	2,9
STH 25	516	48	15	31,2	2,9
STH 265	384	44	6	13,6	1,6
STH 35	890	115	50	43,5	5,6
STH 358	576	100	27	27,0	4,7
STH 73	670	43	13	30,2	1,9
STH 98	412	74	20	27,0	4,8
STH 1364J	768	65	1	1,5	0,1
STH 1374J	381	58	5	8,6	1,3
STH 1420J	493	32	2	6,2	0,4
<b>P 25566</b>	<b>3429</b>	<b>322</b>	<b>45</b>	<b>13,4</b>	<b>1,3</b>
<b>P 25579</b>	<b>3690</b>	<b>352</b>	<b>52</b>	<b>14,8</b>	<b>1,4</b>
<b>P 25590</b>	<b>3509</b>	<b>343</b>	<b>35</b>	<b>10,2</b>	<b>1,0</b>
Suma — Total	59221	5829	1121	-	-
Średnia — Mean	1692,0	166,5	32,0	21,0	1,9

Czcionka pogrubiona — genotypy, dla których zastosowano obie metody

Bold characters — genotypes examined using both methods

Procent otrzymanych roślin w stosunku do izolowanych zarodków, w zależności od badanych form, wahał się od 1,5 (STH1364) do 55,8 (AND34). Średnia efektywność uzyskiwania haploidów, mierzona liczbą roślin na 100 zapylnych kwiatków, wynosiła

1,9. Wystąpiły znaczne różnice w efektywności, w zależności od genotypu badanych form od 0,1 (STH1364J) do 5,6% (STH35).

Tabela 2  
Efektywność uzyskiwania androgenicznych struktur i roślin z 33 mieszańców pszenicy ozimej  
Frequencies of embryo-like structures and plants obtained from anther culture of 33 winter wheat hybrids

Genotyp Genotype	Liczba wyłożonych pylników Number of anthers plated	Androgeniczne struktury Embryo-like structures		Zielone rośliny Green plants	
		liczba number	%	liczba number	%
<b>CHD 4047</b>	<b>1555</b>	<b>237</b>	<b>15,2</b>	<b>4</b>	<b>0,3</b>
<b>CHD 4070</b>	<b>1711</b>	<b>389</b>	<b>22,7</b>	<b>138</b>	<b>8,1</b>
<b>CHD 4103</b>	<b>1435</b>	<b>82</b>	<b>5,7</b>	<b>9</b>	<b>0,6</b>
<b>CHD 4143</b>	<b>1599</b>	<b>174</b>	<b>10,9</b>	<b>10</b>	<b>0,6</b>
<b>CHD 4172</b>	<b>1604</b>	<b>104</b>	<b>6,5</b>	<b>15</b>	<b>0,9</b>
<b>CHD 4173</b>	<b>1600</b>	<b>19</b>	<b>1,2</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>CHD 4265</b>	<b>1506</b>	<b>166</b>	<b>11,0</b>	<b>8</b>	<b>0,5</b>
<b>CHD 4310</b>	<b>1490</b>	<b>51</b>	<b>3,4</b>	<b>8</b>	<b>0,5</b>
<b>AND 34</b>	<b>1500</b>	<b>476</b>	<b>31,7</b>	<b>86</b>	<b>5,7</b>
<b>AND 170</b>	<b>1541</b>	<b>109</b>	<b>7,1</b>	<b>41</b>	<b>2,7</b>
<b>AND 79</b>	<b>1869</b>	<b>70</b>	<b>3,7</b>	<b>13</b>	<b>0,7</b>
<b>K 317</b>	<b>1588</b>	<b>20</b>	<b>1,3</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
K 109	1856	184	9,9	71	3,8
K 234	1710	72	4,2	0	0
K 297	1603	41	2,6	0	0
<b>SM 14</b>	<b>1740</b>	<b>48</b>	<b>2,8</b>	<b>33</b>	<b>1,9</b>
<b>SM 15</b>	<b>1656</b>	<b>68</b>	<b>4,1</b>	<b>41</b>	<b>2,5</b>
<b>SM 16</b>	<b>1522</b>	<b>85</b>	<b>5,6</b>	<b>11</b>	<b>0,7</b>
<b>STH 268</b>	<b>1515</b>	<b>639</b>	<b>42,2</b>	<b>14</b>	<b>0,9</b>
<b>STH 506</b>	<b>1535</b>	<b>630</b>	<b>41,0</b>	<b>164</b>	<b>10,7</b>
STH 10	1607	26	1,6	13	0,8
STH 60	1523	70	4,6	116	7,6
STH 63	1505	35	2,3	17	1,1
STH 121	1500	0	0	0	0
STH 130	1400	0	0	0	0
STH 207	1478	23	1,6	46	3,1
STH 226	1501	301	20,1	3	0,2
STH 231	1532	128	8,4	13	0,8
STH 315	1500	16	1,1	12	0,8
STH 517	1498	186	12,4	6	0,4
<b>P 25566</b>	<b>1303</b>	<b>82</b>	<b>6,3</b>	<b>13</b>	<b>1,0</b>
<b>P 25579</b>	<b>1666</b>	<b>99</b>	<b>5,9</b>	<b>15</b>	<b>0,9</b>
<b>P 25590</b>	<b>1607</b>	<b>133</b>	<b>8,3</b>	<b>36</b>	<b>2,2</b>
Suma Total	51755	4763	—	956	—
Srednia Mean	1568,3	144,3	9,2	29,0	1,8

Czcionka pogrubiona — genotypy, dla których zastosowano obie metody

Bold characters — genotypes examined using both methods

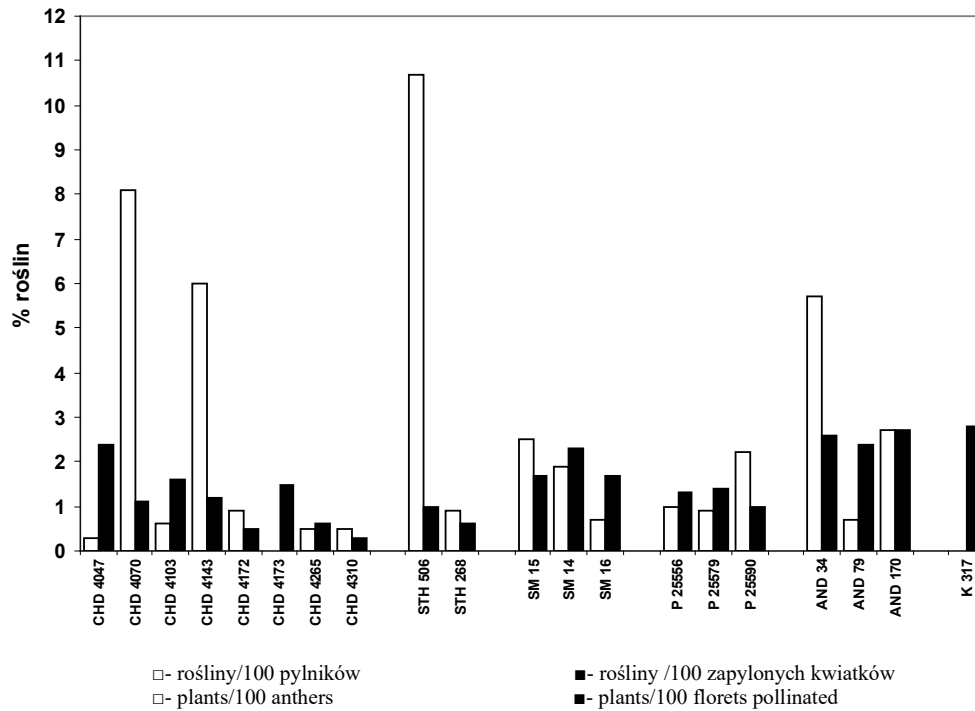
Badania prowadzono na mieszańcach pokolenia F<sub>1</sub> uzyskanych z 5 firm hodowlanych. Obserwując efektywność uzyskiwania form haploidalnych z kombinacji krzyżówkowych pochodzących z tej samej stacji największej roślin na 100 zapylnych kwiatków uzyskano z mieszańców wytworzonych w HR Nasiona Kobierzyc, HR Strzelce oraz Poznańskiej Hodowli

Roślin Oddział Antoniny (od 2,6 do 3,2 roślin/100 zapylnych kwiatków). Należy zwrócić uwagę, że rośliny donorowe pochodziły z doświadczeń zakładanych w różnych miejscowościach, a pobieranie roślin z pola nie następowało w tym samym terminie (decydowały o tym warunki pogodowe). Różnice w efektywności uzyskiwania roślin między materiałami pochodzącymi z poszczególnych stacji mogą mieć podłoże zarówno genetyczne, jak i być wynikiem występowania interakcji genotypowo-środowiskowej.

Z trzydziestu trzech mieszańców pszenicy ozimej wyłożono 51755 pylników na pożywkę indukcyjną, z których po miesiącu uzyskano 4763 androgenicznych struktur (średnio 9,2%). Obserwowano duże zróżnicowanie w indukcji androgenezy, w zależności od genotypu otrzymano od 1,1 do 42,2% androgenicznych struktur. Po 3–4 tygodniach kultury tych struktur na pożywkę regeneracyjnej uzyskano 956 zielonych roślin (średnio 1,9% w stosunku do wyłożonych pylników). Rośliny otrzymano z 27 mieszańców, przy czym efektywność wahała się od 0,2 do 10,7% w zależności od genotypu. Wysoką częstotliwość (powyżej 5,5%) uzyskiwania zielonych roślin w stosunku do wyłożonych pylników stwierdzono dla 5 genotypów: STH 506 (10,7%), C 4070/07 (8,1%), STH 60 (7,6), C 4143/07 (6,0%) i AND 34/07 (5,7%). Efektywność powyżej 2% zanotowano dla kolejnych 5 genotypów, natomiast największą grupę (23 genotypy) stanowiły formy, z których otrzymano od 0,2 do 2,0% zielonych roślin (tab. 2).

Porównanie efektywności uzyskiwania roślin obiema metodami przedstawiono na rysunku 1. Obserwowana zmienność w liczbie uzyskanych roślin metodą kultur pylnikowych była znacznie większa, niż metodą wykorzystującą zjawisko eliminacji chromosomów (tab. 3). Świadczą o tym uzyskane wartości współczynników zmienności (odpowiednio 137,8 i 51,2%) oraz uzyskane wartości minimalne i maksymalne (odpowiednio 0–10,7% oraz 0,3–2,8). Nie stwierdzono zależności w efektywności otrzymywania roślin między stosowanymi technikami. Współczynnik korelacji wynosił -0,03 i był nieistotny. Obserwowano genotypy, z których otrzymano rośliny z wysoką efektywnością tylko jedną z metod: w kulturach pylnikowych — CHD 4070 i STH 506, metodą krzyżowania z kukurydzą — CHD 4047, CHD 4173, AND 79 i K 317. Z kilku genotypów otrzymano rośliny ze zbliżoną, w porównaniu do średniej dla każdej techniki efektywnością (AND 170, SM 14 i SM 15).

W pracach nad uzyskiwaniem linii homozygotycznych pszenicy na skalę komercyjną wydaje się uzasadnione stosowanie obu technik równocześnie. Metodą krzyżowania pszenicy z kukurydzą otrzymuje się rośliny z każdego genotypu, podczas gdy metodą kultur pylnikowych nie jest to możliwe. Metoda ta jednak w porównaniu z kulturami pylnikowymi jest bardziej pracochłonna. Natomiast poprzez androgenezę można uzyskać wyższą wydajność regeneracji roślin z jednego kłosa, ponieważ w każdym wyłożonym na pożywkę pylniku możliwe jest zaindukowanie dużej liczby jednojądrowych ziaren pyłku do rozwoju w androgeniczne struktury. Ponadto u pszenicy, podobnie jak u innych zbóż, część uzyskanych tą techniką roślin stanowią spontanicznie podwojone haploidy (Ponitka i Ślusarkiewicz-Jarzina, 1996; Ślusarkiewicz-Jarzina i Ponitka, 2003; Soriano i in., 2007).



**Rys. 1. Porównanie efektywności uzyskiwania roślin metodą kultur pylnikowych oraz metodą krzyżowania z kukurydzą u wybranych mieszańców pszenicy ozimej**  
**Fig. 1. Efficiency of wheat plant regeneration by means of anther culture and wheat x maize crosses for selected wheat hybrids**

**Zmienność efektywności uzyskiwania roślin pszenicy metodą krzyżowania z kukurydzą oraz kultur pylnikowych dla 20 wybranych mieszańców F<sub>1</sub>**  
**Variability in production efficiency of wheat plants by wheat x maize crosses and anther culture for 20 selected F<sub>1</sub> hybrids**

Metoda Method	Cecha Trait	Średnia ± SE Mean ± SE	Współczynnik zmienności Coefficient of variability (%)	Zakres Range	Współczynnik korelacji Correlation coefficient
Krzyżowanie z kukurydzą Wheat × maize crosses	Liczba roślin/100 zapylnych kwiatków Plants/100 pollinated florets	1,52 ± 0,17	51,20	0,28-2,77	-0,036
Kultury pylnikowe Anther culture	Liczba roślin/100 pylników Plants/100 anthers	2,07 ± 0,64	137,80	0,00-10,70	

WNIOSKI

1. Zakres zmienności efektywności uzyskiwania roślin metodą kultur pylnikowych jest znacznie szerszy w porównaniu z metodą wykorzystującą zjawisko eliminacji chromosomów.
2. Stwierdzono brak korelacji między efektywnością uzyskiwania roślin metodą kultur pylnikowych i metodą krzyżowania z kukurydzą.
3. W pracach nad uzyskiwaniem form homozygotycznych pszenicy na skalę komercyjną wydaje się uzasadnione równoczesne stosowanie krzyżowania z kukurydzą oraz kultur pylnikowych.

LITERATURA

- Barclay I. R. 1975. High frequencies of haploid production in wheat (*Triticum aestivum* L.) by chromosome elimination. *Nature* 256: 410 — 411.
- Barnabás B., Szakács E., Karsai I., Bedő Z. 2001. *In vitro* androgenesis of wheat: from fundamentals to practical application. *Euphytica* 119: 211 — 216.
- Chuang C. C., Ouyang J., Chia H., Chou S. M., Ching C. K. 1978. A set of potato media for wheat anther culture. In: Proc. China – Australia, Plant Tissue Culture Symp., Peking 1978: 51 — 66.
- Chu C. C., Wang C. C., Sun C. S., Hsu C., Yin K. C., Chu C. Y., Bi F. Y. 1975. Establishment of an efficient medium for anther culture of rice through comparative experiments on the nitrogen sources. *Sci. Sinica* 18: 659 — 668.
- Ghemi M., Sarrafi A., Alibert G. 1993. Influence of genotype and culture conditions on the production of embryos from anthers on tetraploid wheat (*Triticum aestivum*). *Euphytica* 65: 81 — 85.
- Kang T. J., Yang M. S., Deckard E. L. 2003. The effect of osmotic potential on anther culture in spring wheat (*Triticum aestivum*). *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 75: 35 — 40.
- Karsai I., Bedő Z., Hayes P. M. 1994. Effect of induction medium, pH and maltose concentration on *in vitro* androgenesis of hexaploid winter triticale and wheat. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 39: 49 — 53.
- Krystkowiak K., Kuczyńska A., Rębarz M., Trzeciak R. 2004. Efektywność uzyskiwania haploidów pszenicy z mieszańców F<sub>1</sub> i ich form wyjściowych poprzez krzyżowanie z kukurydzą. *Biul. IHAR* 231: 37 — 41.
- Laurie D. A., Benett M.D. 1988. The production of haploid wheat plants from wheat × maize crosses. *Teor. Appl. Genet.* 76: 393 — 397.
- Laurie D. A., Benett M. D. 1989. The timing of chromosome elimination in hexaploid wheat × maize crosses. *Genome* 32: 953 — 961.
- Ponitka A., Ślusarkiewicz-Jarzina A. 1996. Anther culture response in F<sub>1</sub> hybrids of winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *J. Appl. Genet.* 37: 253 — 260.
- Redha A., Talaat A. 2008. Improvement of green plant regeneration by manipulation of anther culture induction medium of hexaploid wheat. *Plant Cell Tiss Organ Cult.* 92: 141 — 146.
- Soriano M., Cistué L., Vallés M.P., Castillo A.M. 2007. Effects of colchicines on anther and microspore culture of bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 91: 225 — 234.
- Ślusarkiewicz-Jarzina A., Ponitka A. 2003. Efficient production of spontaneous and induced doubled haploid triticale plants derived from anther culture. *Cereal Res. Commun.* 31: 289 — 296.
- Wędzony M., Van Lammeren A. A. M. 1996. Pollen tube growth and embryogenesis in wheat x maize crosses influenced by 2,4-D. *Annals of Botany* 77: 639 — 649
- Zhuang J. J., Xu J. 1983. Increasing differentiation frequencies in wheat pollen callus. In: *Cell and Tissue Culture Techniques for Cereal Crop Improvement*, Science Press. Beijing: 431.
- Xynias I. N., Zamani I. A., Gouli-Vavdinoudi E., Roupakias D. G. 2001. Effect of cold pre-treatment and incubation temperature on bread wheat (*Triticum aestivum* L.) anther culture. *Cereal Res. Commun.* 29: 331 — 338.