

KAROLINA KRYSTKOWIAK**ANETTA KUCZYŃSKA****MICHAŁ REBARZ****RENATA TRZECIAK**

Instytut Genetyki Roślin PAN, Poznań

Efektywność uzyskiwania haploidów pszenicy z mieszańców F_1 i ich form wyjściowych poprzez krzyżowanie z kukurydzą

The efficiency of wheat haploid production from F_1 hybrids and parental genotypes by crossing with maize

Celem pracy było porównanie mieszańców pokolenia F_1 pszenicy z ich formami rodzicielskimi pod względem podstawowych parametrów związanych z efektywnością uzyskiwania haploidów drogą eliminacji chromosomów. Materiał do badań obejmował mieszańce pokolenia F_1 : Alidos $\times$ Kobra, Alidos $\times$ Kris, Alidos $\times$ Mikon, Alidos $\times$ Elena, Batis $\times$ Charger, Batis $\times$ Kris, Kornett $\times$ Elena, Kornett $\times$ Kobra oraz ich formy rodzicielskie. Formy haploidalne pszenicy uzyskiwano poprzez krzyżowanie z kukurydzą. Doświadczenie przeprowadzono w układzie całkowicie losowym w czterech powtórzeniach. Obserwowano liczbę rozrośniętych zalążni, liczbę zarodków oraz liczbę uzyskanych roślin haploidalnych. U mieszańców Alidos $\times$ Kobra i Alidos $\times$ Kris uzyskano istotnie więcej zarodków na 100 rozrośniętych zalążni niż u odmian rodzicielskich. Natomiast największy procent roślin haploidalnych na 100 zarodków otrzymano u mieszańców Kornett $\times$ Kobra i Alidos $\times$ Kris. Uzyskane wyniki potwierdziły zależność efektywności otrzymywania haploidów od genotypu pszenicy oraz wykazały wyższą efektywność uzyskiwania form haploidalnych z mieszańców F_1 niż z ich form wyjściowych.

Słowa kluczowe: haploidy, kultura *in vitro*, pszenica

The aim of this study was to compare wheat F_1 hybrids and their parents in terms of main parameters connected with the efficiency of haploid production by wheat $\times$ maize crosses. The material for the study covered F_1 hybrids and parental genotypes of the following cross combinations: Alidos $\times$ Kobra, Alidos $\times$ Kris, Alidos $\times$ Mikon, Alidos $\times$ Elena, Batis $\times$ Charger, Batis $\times$ Kris, Kornett $\times$ Elena, Kornett $\times$ Kobra. The experiment was carried out in a complete randomised design with four replications. The number of ovaries, ovaries with embryos and developed haploid plants were observed. The hybrids Alidos $\times$ Kobra and Alidos $\times$ Kris gave a higher percent of ovaries with embryos than their parents. In Kornett $\times$ Kobra and Alidos $\times$ Kris a number of haploids per 100 cultured embryos was higher than that in parental genotypes. Our results confirmed influence of genotypes on efficiency of wheat haploidization, and showed the higher effectively of haploid production from F_1 hybrids than from parental cultivars.

Key words: haploids, *in vitro* culture wheat, wheat × maize crosses

WSTĘP

Jedną z metod umożliwiających otrzymanie form haploidalnych pszenicy jest krzyżowanie tego gatunku z kukurydzą. W następstwie tych krzyżowań dochodzi do zapłodnienia, jednakże w trakcie kilku pierwszych podziałów komórkowych zygoty następuje naturalna eliminacja obcych chromosomów, a rozwijający się zarodek ma ich haploidalną liczbę (Barclay, 1975; Laurie i Bennett, 1986, 1988, 1989). Efektywność uzyskiwania form haploidalnych drogą krzyżowań oddalonych jest uzależniona od wielu czynników, między innymi takich jak genotyp form wyjściowych, technika przeprowadzania krzyżowań, rodzaj i stężenie zastosowanych substancji wzrostowych, warunki kultury *in vitro* niedojrzałych zarodków (Wędzony i Van Lammeren, 1996; Wędzony i in., 1998). Jednym z nich jest genotyp pszenicy (Suenaga, 1994; Lei i in., 1996; Lefebvre i Devaux, 1996). W hodowli roślin formy haploidalne uzyskuje się najczęściej z mieszańców pokolenia F₁. Mieszańce w przeciwieństwie do odmian wyjściowych są formami heterozygotycznymi i w związku z tym efektywność uzyskiwania z nich form haploidalnych może być wyższa z uwagi na możliwość występowania efektu heterozji.

Celem badań było porównanie mieszańców pokolenia F₁ pszenicy z ich formami rodzicielskimi pod względem podstawowych parametrów związanych z efektywnością uzyskiwania haploidów poprzez krzyżowanie z kukurydzą.

MATERIAŁY I METODY

Materiał do badań stanowiły mieszańce pokolenia F₁: Alidos × Kobra, Alidos × Kris, Alidos × Mikon, Alidos × Elena, Batis × Charger, Batis × Kris, Kornett × Elena, Kornett × Kobra oraz ich formy rodzicielskie. Formy haploidalne uzyskiwano poprzez krzyżowanie z kukurydzą zgodnie z procedurą opisaną w pracy Adamskiego i wsp. (2001). Doświadczenie przeprowadzono w 2002 roku w układzie całkowicie losowym w trzech powtórzeniach. Powtórzenie stanowiło co najmniej 5 kłosów zapylonych tego samego dnia mieszką pyłku czterech odmian kukurydzy: Ela, Mieszko, Melba i Hermes. Zarodki po upływie 15 do 18 dni po zapyleniu wykładano na pożywkę B5 Gamborga (Gamborg i in., 1968).

Przeprowadzone obserwacje dotyczyły liczby rozrośniętych załączni, liczby zarodków oraz liczby uzyskanych roślin haploidalnych. Uzyskane z doświadczenia dane, wyrażone w procentach, przekształcono wg formuły $y = \arcsin \sqrt{x}$, a następnie obliczono statystycznie stosując jednoczynnikową analizę wariancji. Porównanie średnich przeprowadzono wykorzystując test wielokrotny Duncana.

WYNIKI

Na podstawie przeprowadzonej analizy wariancji stwierdzono istotne zróżnicowanie badanych form pod względem wszystkich badanych cech (tab. 1).

Tabela 1

Analiza wariancji dla cech związanych z efektywnością uzyskiwania haploidów pszenicy poprzez krzyżowanie z kukurydzą
Analysis of variance for traits connected with efficiency of wheat haploid production by wheat × maize crosses

Cecha Trait	Źródło zmienności Source of variation	Liczba stopni swobody Degrees of freedom	Średni kwadrat Mean square	F-stat.
% załączni % ovaries	Genotyp Genotype	15	238,59	15,83**
	Błąd Error	32	15,07	
Zarodki/100 załączni Embryos/100 ovaries	Genotyp Genotype	15	95,25	17,64**
	Błąd Error	32	5,40	
Haploidy/100 zarodków Haploids/100 embryos	Genotyp Genotype	15	453,73	31,51**
	Błąd Error	32	14,40	
Haploidy/100 kwiatków Haploids/100 florets	Genotyp Genotype	15	28,46	13,49**
	Błąd Error	32	2,11	

** P ≤ 0,01

Tabela 2

Efektywność uzyskiwania roślin haploidalnych pszenicy poprzez krzyżowanie z kukurydzą
The efficiency of wheat haploid production by wheat × maize crosses

Genotyp pszenicy Wheat genotype	Rozrośnięte załącznie/100 zapylnych kwiatków Ovaries/100 pollinated florets	Zarodki/100 rozrośniętych załączni Embryos/100 ovaries	Haploidy/100 zarodków Haploids/100 embryos	Haploidy/100 zapylnych kwiatków Haploids/100 pollinated florets
Alidos × Kobra	64,61 ^{fg}	27,23 ^{bcd}	54,47 ^{bc}	9,70 ^{bcd}
Alidos × Kris	69,11 ^{def}	36,02 ^a	60,67 ^{ab}	13,90 ^a
Alidos × Mikon	76,44 ^{bc}	26,43 ^{bcd}	48,80 ^{cd}	10,00 ^{bcd}
Alidos × Elena	53,68 ^h	26,80 ^{bcd}	46,47 ^d	6,80 ^{efg}
Batis × Charger	76,29 ^{bc}	27,00 ^{bcd}	50,03 ^{cd}	10,30 ^{bcd}
Batis × Kris	67,71 ^{ef}	24,07 ^{de}	44,77 ^{de}	7,30 ^{ef}
Kornett × Elena	68,28 ^{ef}	19,30 ^{fg}	35,10 ^{fg}	5,43 ^{fghi}
Kornett × Kobra	69,22 ^{def}	20,93 ^{ef}	63,13 ^a	8,20 ^{de}
Alidos	65,34 ^{fg}	16,36 ^{gh}	29,74 ^{gh}	3,20 ^{ij}
Batis	73,66 ^{cde}	13,54 ^h	31,37 ^{gh}	3,10 ^{ij}
Charger	81,20 ^{ab}	25,56 ^{cd}	49,53 ^{cd}	10,70 ^{bc}
Elena	83,27 ^a	29,82 ^b	19,58 ⁱ	1,90 ^j
Kobra	66,30 ^{fg}	18,35 ^{fg}	39,17 ^{ef}	4,80 ^{ghi}
Kornett	81,02 ^{abc}	21,19 ^{ef}	34,07 ^{fgh}	5,80 ^{fgh}
Kris	87,04 ^a	28,81 ^{bc}	35,10 ^{fg}	8,80 ^{cde}
Mikon	61,12 ^g	24,52 ^{de}	28,16 ^h	4,20 ^{hij}

W kolumnach średnie oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie na poziomie $\alpha = 0,05$

Within columns the means followed by the same letters do not differ significantly at $\alpha = 0.05$

U badanych genotypów obserwowano średnio 71,5% rozrośniętych załąźni, przy czym procent ten u mieszańców wahał się od 53,7 do 76,4, natomiast u form rodzicielskich był nieznacznie wyższy i przybierał wartości od 61,1 do 87,0. W powiększonych załąźniach znajdowało się średnio 24,1% zarodków (tab. 2). U form mieszańcowych procentowy udział zarodków w załąźniach wynosił średnio 26,0 i był nieznacznie wyższy od średniej dla odmian wyjściowych (22,3%). Uwagę zwracają mieszańce Alidos × Kobra i Alidos × Kris, u których zaobserwowano istotnie więcej zarodków niż u odmian rodzicielskich. Procent uzyskanych roślin haploidalnych w stosunku do przeszczepionych zarodków u mieszańców wynosił od 35,1 do 63,1 (średnio 50,4), natomiast u form rodzicielskich od 28,2 do 49,5 (średnio 33,3). Najwięcej roślin haploidalnych na 100 zarodków uzyskano z mieszańców Kornett × Kobra (63,1) i Alidos × Kris (60,7). Można zauważyć, że we wszystkich ośmiu analizowanych kombinacjach krzyżówkowych mieszańce pod względem omawianej cechy okazały się lepsze od form rodzicielskich, przy czym tylko w dwóch przypadkach (Batis × Charger i Kornett × Elena) różnice te były nieistotne. Spośród ośmiu badanych kombinacji w pięciu przypadkach efektywność uzyskiwania haploidów z form mieszańcowych okazała się istotnie większa niż z ich odmian rodzicielskich. Różnice w efektywności między mieszańcami a lepszą z form rodzicielskich największe były w kombinacjach Alidos × Mikon (5,8%), Alidos × Kris (5,1%) i Alidos × Kobra (4,9%).

Należy zaznaczyć, iż mimo występowania różnic między genotypami pszenic formy haploidalne uzyskano ze wszystkich badanych odmian i mieszańców. Fakt ten wskazuje na przewagę metody haploidyacji pszenicy poprzez krzyżowanie z kukurydzą nad haploidyacją metodą kultur pylnikowych. W przypadku kultur pylników istnieją bowiem genotypy odporne, które nie poddają się indukcji androgenicznej. Dla takich genotypów krzyżowanie z kukurydzą może być jedyną drogą uzyskania form haploidalnych (Laurie, 1989; Laurie i in., 1990; Suenaga, 1994).

WNIOSKI

Wyższa efektywność uzyskiwania form haploidalnych z mieszańców F_1 w porównaniu z formami wyjściowymi wynikała z większej liczby zawiązywanych i rozwijających się w kulturach *in vitro* zarodków. Fakt ten wskazuje, że w praktyce hodowlanej można metodą krzyżowań z kukurydzą uzyskać haploidy ze wszystkich genotypów, w tym także z mieszańców między formami o niskiej efektywności krzyżowań z kukurydzą.

LITERATURA

- Adamski T., Ponitka A., Surma M., Ślusarkiewicz-Jarzina A. 2001. Otrzymywanie linii podwojonych haploidów u zbóż, instrukcja wdrożeniowa. IGR PAN, Poznań.
- Barclay I. R. 1975. High frequencies of haploid production in wheat (*Triticum aestivum* L.) by chromosome elimination. *Nature* 256: 410 — 411.
- Gamborg O. L., Miller R. A., Ojima K. 1968. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Exp. Cell Res.* 50: 157 — 158.
- Laurie D. A., Bennett M. D. 1986. Wheat × maize hybridization. *Can. J. Genet. Cytol.* 28: 313 — 316.

- Laurie D. A., Bennett M. D. 1988. The production of haploid wheat plants from wheat × maize crosses. *Theor. Appl. Genet.* 76: 393 — 397.
- Laurie D. A., Bennett M. D. 1989. The timing of chromosome elimination in hexaploid wheat × maize crosses. *Genome* 32: 953 — 961.
- Laurie D. A., O'Donoghue L. S., Bennet M. D. 1990. Wheat × maize and other wide sexual hybrids: Their potential for genetic manipulation and crop improvement. In: *Gene Manipulation in Plant Improvement. II Proc. 19th Stadler Genet. Symp.* J. P. Gustafson (ed.), Plenum Press, New York: 95 — 126.
- Lefebvre D., Devaux P. 1996. Doubled haploids of wheat × maize crosses: genotypic influence, fertility and inheritance of the 1BL-1RS chromosome. *Theor. Appl. Genet.* 93: 1267 — 1273.
- Lei Z. S., Zhou Y., Hai Y., He X. C., Lin Z. J., Zhang S.C., Yang H. M., Huang B. Y., Lai Q. R. 1996. Efficient wheat haploid production by wheat × maize. *Proc. of 5th International Wheat Conference*, Ankara, Turkey, 374.
- Suenaga K. 1994. Doubled haploid system using the intergeneric crosses between wheat (*Triticum aestivum* L.) and maize (*Zea mays* L.). *Bulletin of the National Institute of Agrobiological Resources (Japan)* 9: 83 — 139.
- Wędzony M., Marcińska I., Ponitka A., Ślusarkiewicz-Jarzina A., Woźna J. 1998. Production of doubled haploids in triticale (*X Triticosecale* Wittm.) by means of crosses with maize (*Zea mays* L.) using Picloram and Dicamba. *Plant Breed.* 117: 211 — 215.
- Wędzony M., Van Lammeren A. A. M. 1996. Pollen tube growth and early embryogenesis in wheat × maize crosses influenced by 2,4-D. *Annals of Botany* 77: 639 — 649.