

**Zdanie 4-1-02-4-02 (85) „Badanie reakcji mikrospor żyta na stres i warunki kultury *in vitro*”  
kierownik: prof. dr hab. J. Zimny**

**Temat 1.** Analiza wpływu różnych czynników stresowych na indukcję androgenezy.

Celem badań było sprawdzenie zróżnicowania reakcji mikrospor na 9 rodzajów stresu przeprogramowujących ich rozwój gametofitowy w kierunku sporofitowego. Potwierdzono znaczenie odpowiednio dobranego rodzaju stresu dla efektywności indukowania androgenezy żyta w kulturach pylników. Linie 5 i 8 zareagowały wyraźnie lepiej w porównaniu do linii 6, niezależnie od zastosowanego stresu. Obok działania na ścięte pędy stresem 4°C/21 dni istotne znaczenie miało zastosowanie prekultury pylników w mannitolu lub w pożywkce SolA. Wyraźnie źle reagowały pylniki wszystkich genotypów na stres z zastosowaniem HNA w połączeniu z BAP i 2,4-D.

Wnioski. Różna reakcja na zastosowane stresy stwarza konieczność zbadania i dostosowania stresu do konkretnego genotypu. Uniwersalnym typem stresu jest chłodzenie pędów z kłosami przez 21 dni oraz chłodzenie pędów z kłosami w połączeniu prekulturą w roztworze mannitolu lub pożywkce SolA.

**Temat 2.** Zbadanie wpływu czynników stresowych i składu pożywek na zjawisko albinizmu regenerantów. Celem prac było określenie możliwości ograniczenia zjawiska albinizmu poprzez dobór stresu inicjującego androgenezę oraz modyfikację składu pożywek zastosowanych na etapie indukcji procesu.

Poziom regeneracji wahał się w granicach od 0 do ponad 20 roślin (zielone + albinotyczne) na 100 pylników, w zależności od genotypu, rodzaju stresu i stosowanej pożywki. Wytypowano genotypy o wysokim potencjale regeneracyjnym oraz takie, dla których możliwe było otrzymanie kilku roślin, tylko w niektórych kombinacjach stresowych. Poziom albinizmu wahał się od 0 do 10,5%, w zależności od rodzaju zastosowanego stresu i pożywki. Zastosowanie pożywki KBP przyniosło wzrost wydajności regeneracji roślin, ale nie wpłynęło na zredukowanie zjawiska albinizmu.

Wnioski: Genotyp ma kluczowe znaczenie dla efektywności procesu androgenezy, regeneracji roślin oraz poziomu albinizmu, niemniej jednak poprzez odpowiedni dobór warunków zewnętrznych możliwe jest wpływanie na powyższe parametry. Rodzaj stresu ma wpływ na liczbę roślin albinotycznych u konkretnych genotypów. Pożywka KBP istotnie poprawia wydajność regeneracji roślin, dla niektórych genotypów i zastosowanych stresów.

**Temat 3.** Zbadanie wpływu ustalonego stresu, warunków kultury i systemu podwajania liczby chromosomów na liczbę regenerowanych zielonych roślin. Morfologiczna i cytometryczna charakterystyka oraz ocena poziomu płodności otrzymanych regenerantów.

Odsetek osobników diploidalnych wynosił 72%. Nie uwidocznił się związek pomiędzy częstotliwością spontanicznej diploidyzacji a genotypem. Różnice m.in. w ogólnym pokroju (liczbie wytworzonych pędów, długości źdźbła i kłosów), intensywności wzrostu i rozwoju pomiędzy liniami w obrębie genotypu, obserwowano niezależnie od zastosowanego czynnika stresowego. Około 5% linii odznaczało się odchyleniami morfologicznymi. Płodne rośliny stanowiły od 16 % do 75 % dla różnych linii. Od 30 do 60% osobników wykazywało częściową płodność. Często ziarniaki były małe i pomarszczone, a efektywność ich zawiązywania wynosiła od 1 do 47/na roślinę. Liczba nasion w kłosie była wyższa w wyniku swobodnego przypylenia.

Wnioski: Cytometryczna ocena diploidyzacji regenerantów nie przekłada się na płodność ocenioną na etapie pełnej dojrzałości. Płodność regenerantów i efektywność zawiązywania ziarniaków nie są związane z rodzajem stresu indukującego androgenezę.

**Temat 4.** Ocena wpływu herbicydów antymitotycznych na podwajanie liczby chromosomów w kulturach *in vitro* – badania wstępne. Badania obejmowały przetestowanie wytypowanych w roku ubiegłym inhibitorów mitozy na przeżywalność androgenicznych roślin.

Odnotowano wysoką śmiertelność wśród młodszych roślin (ok 2cm) powodowaną toksycznym działaniem antymitotyków tj. 5 μM oryzaliny oraz 10 μM trifluraliny. W grupie starszych eksplantatów – tj. ukorzenionych roślin, nie znaleziono powiązania między liczbą regenerantów, które przeżyły/wypadły po wysadzeniu do gleby, a rodzajem antymitotyku i czasem jego ekspozycji. Na etapie wysadzania do gleby obserwowano zamieranie głównie roślin rachitycznych, obecnych również w kontroli.

Wnioski: Przeżywalność eksplantatów poddawanych działaniu antymitotyków w formie herbicydów na pożywkach w warunkach *in vitro* jest zależna od ich stadium rozwojowego. Oryzalina wykazuje silniejsze działanie fitotoksyczne w porównaniu do trifluraliny na etapie małych roślin. Spadek przeżywalności regenerantów wysadzonych do gleby nie jest spowodowany działaniem substancji antymitotycznych.

**Przeprowadzone badania potwierdzają zależność genotypową chociaż podnosząca się wydajność regeneracji u niektórych osobników świadczy o stopniowym postępie w stwarzaniu kulturom, odpowiednich do rozwoju warunków środowiskowych, a z drugiej strony o możliwości kumulowania się genów odpowiedzialnych za zdolność do androgenezy w konkretnych liniach żyta.**