

MARZENA WARCHOŁ
ILONA CZYCYŁO-MYSZA
KINGA DZIURKA
IZABELA MARCIŃSKA
ANGELIKA NOGA
KAMIŁA KAPŁONIAK
EDYTA SKRZYPEK

Instytut Fizjologii Roślin im. F. Górskiego Polskiej Akademii Nauk, Kraków
e-mail: m.warchol@ifr-pan.edu.pl

Wpływ rodzaju pożywki indukcyjnej oraz substancji przeciwutleniających na powstawanie struktur zarodkowych w kulturach pylników owsa (*Avena sativa* L.)

Otrzymywanie *in vitro* haploidalnych roślin poprzez indukcję androgenezy stanowi potencjalnie najefektywniejszą metodę otrzymywania w pełni homozygotycznych linii podwójnych haploidalnych (DH), wykorzystywanych w programach hodowlanych oraz badaniach genetycznych. Androgenezę definiuje się jako alternatywną dla zygotycznej embriogenezy drogę rozwojową, opartą na zmianie kierunku rozwoju mikrospor z gametofitowego na sporofitowy. Istnieją dwie podstawowe metody androgenezy: kultury pylników oraz izolowanych mikrospor, prowadzące do powstania zarodków i roślin, które dziedziczą cechy genetyczne męskiej rośliny dawcy. Wiele czynników endogennych i egzogennych wpływa na embriogenną odpowiedź pylników w kulturze, do których należą: genotyp, etap rozwoju mikrospor, wstępne traktowanie pylników oraz skład pożywki indukcyjnej.

Materiał do badań stanowiły dwie odmiany owsa: Bingo i Chwat. Pędy roślin donorowych ścinano i umieszczano w płynnej pożywce Hoaglanda (Hoagland i Arnon, 1983) na okres 2 tygodni w temperaturze 4 °C, a następnie na 24 godziny w temperaturze 32°C. Kultury pylnikowe indukowano na pożywce W14 (Ouyang i in., 1989) z dodatkiem auksyny: kwasu 2,4-dwuchlorofenoksyoctowego (2,4-D) w stężeniu 2,0 mg/dm³ oraz cytokininy: kinetyny 0,5 mg/dm³. Pożywkę wzbogacono 9% maltozą, a pH ustalono na 6,0. W badaniach zastosowano pożywki W14: stałą, agarową (agar 6 g/dm³), dwuwarstwową (pożywka agarowa z warstwą pożywki płynnej) oraz płynną. W pożywce płynnej obniżono stężenie soli mineralnych o 50% oraz dodawano fikal w stężeniu 100

g/dm³. Każdy rodzaj pożywki wzbogacono kwasem askorbinowym (50 mg/dm³) lub zredukowaną formą glutationu (GSH) w stężeniu 30 mg/dm³. Efektywność androgenezy oceniano przeliczając uzyskane struktury na 100 pylników wyłożonych na pożywkę.

Struktury zarodkowe tworzyły się z mikrospor obydwu badanych odmian. U odmiany Chwat otrzymano 86 struktur zarodkowych (0,52%), a u odmiany Bingo — 13 (0,1%). Rodzaj pożywki nie miał istotnego wpływu na liczbę otrzymanych struktur. Najwięcej struktur zarodkowych otrzymano, prowadząc kulturę pylników na pożywkach stałych W14 z dodatkiem 2,0 mg/dm³ 2,4-D, 0,5 mg/dm³ kinetyny oraz W14 z dodatkiem 2,0 mg/dm³ 2,4-D, 0,5 mg/dm³ kinetyny i (GSH) w stężeniu 30 mg/dm³ (odpowiednio: 0,45% oraz 0,42%). Dodatek substancji przeciwutleniających miał statystycznie istotny wpływ na liczbę powstałych struktur zarodkowych. Struktury nie tworzyły się na pożywkach wzbogaconych 50 mg/dm³ kwasu askorbinowego, natomiast na pożywkach z GSH w stężeniu 30 mg/dm³ otrzymano 0,15% struktur zarodkowych.

LITERATURA

- Hoagland D. R., Arnon D. I. 1938. A water culture method for growing plants without soil. California Agricultural Experiment Station Circulation 347: 1 — 39.
- Ouyang J. W., Jia S. E., Zhang C., Chen X. D., Feng G. H. 1989. A new synthetic medium (W14 medium) for wheat anther culture. Annual Report, Institute of Genetics, Academia Sinica (1986–1988): 91 — 92.