

## Możliwości optymalizacji procedury wyprowadzania podwojonych haplo- idów na przykładzie jęczmienia (*Hordeum vulgare* L.) i pszenżyta (× *Triticosecale* Wittm.)

Iwona Żur, Ewa Dubas, Monika Krzewska, Anna Nowicka, Sabina Małaga

Instytut Fizjologii Roślin im. Franciszka Górskiego,  
Polska Akademia Nauk, Kraków; zur@ifr-pan.krakow.pl

Wykorzystanie systemów produkcji podwojonych haploidów (ang. *doubled haploids*, DH) pozwala na uzyskanie całkowicie homozygotycznych linii już w pierwszym pokoleniu, na każdym etapie programu hodowlanego. Dzięki temu uniknąć można wieloletnich cykli krzyżowania wsobnego i selekcji prowadzonych w celu wyrównania populacji. W tradycyjnej hodowli uzyskanie takiego stopnia homozygotyczności nie jest możliwe, a akceptowalny w praktyce poziom wyrównania genetycznego danej odmiany wymaga prowadzenia prac hodowlanych przeciętnie przez kilka do kilkunastu lat. Faktyczna liczba zaoszczędzonych lat pracy zależy od momentu (pokolenia), w którym rody wyprowadzone w tradycyjnym programie hodowlanym kierowane są do doświadczeń. Im trudniej uzyskać właściwy poziom wyrównania materiału hodowlanego, tym większa jest oszczędność czasu, nakładów pracy i kosztów przy zastosowaniu linii DH. Istotną zaletą skrócenia cyklu hodowlanego jest możliwość dużo szybszego dostosowania oferty hodowców do potrzeb rynkowych. Połączenie metod hodowli tradycyjnej krzyżowania wstecznego, selekcji w oparciu o markery molekularne (MAS, ang. *marker-assisted selection*) i DH pozwala również na szybką introgresję nowych cech (genów) do genomów interesujących pod względem ekonomicznym czy jakościowym. Linie DH umożliwiają również bardziej jednoznaczną ocenę fenotypu i selekcję materiału roślinnego, niż w przypadku pokoleń segregujących, w których zjawiska heterozji i dominacji maskują działanie genów recesywnych. Wreszcie, jeśli do wytworzenia linii DH służył mieszańiec, w jego potomstwie uzyskuje się maksymalnie duże zróżnicowanie właściwości użytkowych, ponieważ geny, które wpływałyby w jakimkolwiek stopniu na konkretną cechę są zawsze zdublowane. Dzięki temu duża kolekcja linii DH umożliwia wybranie najkorzystniejszej kombinacji genów rodzicielskich. Co więcej, ponieważ rośliny DH wytwarzają gamety męskie

i żeńskie tylko jednego rodzaju, ich potomstwo pozostaje genetycznie identyczne z roślinami macierzystymi.

DH znajdują szerokie zastosowanie również w innych dziedzinach nauki zarówno w badaniach podstawowych, jak i aplikacyjnych. Linie DH są niezwykle przydatne w mapowaniu genów i konstruowaniu map genetycznych, zwłaszcza w badaniach cech warunkowanych poligenicznie i ocenie *loci* warunkujących cechy ilościowe (QTL, ang. *quantitative trait loci*). Nowoczesne technologie wykorzystujące markery molekularne pozwalają na stworzenie relatywnie gęstej mapy genetycznej dla populacji DH w ciągu 3 lat. Linie DH znajdują też zastosowanie w badaniach dotyczących mutagenезy oraz inżynierii genetycznej.

Wprowadzana do programów hodowlanych metoda uzyskiwania linii DH musi jednakże spełniać określone kryteria: musi być efektywna dla szerokiego spektrum genotypów a uzyskiwane linie DH powinny być genetycznie stabilne. Do uzyskania populacji linii DH najczęściej wykorzystuje się techniki inicjujące proces androgenезy (indukcji rozwoju sporofitowego w komórkach męskiej linii gametofitowej) ze względu na potencjalnie najwyższą efektywność i stosunkowo proste procedury. Jednakże opracowanie efektywnej metody nie jest zagwarantowane, gdyż proces androgenезy warunkowany jest wieloma czynnikami wewnętrznymi, które w interakcji z czynnikami środowiskowymi determinują podatność poszczególnych genotypów. Do najważniejszych czynników wpływających na efektywność androgenезy należą: stan fizjologiczny rośliny donorowej, rodzaj i natężenie czynników stresowych indukujących androgenезę oraz warunki hodowli *in vitro* (skład i parametry fizyko-chemiczne pożywek indukcyjnej i regeneracyjnej oraz warunki zewnętrzne hodowli). Ich modyfikacje w znaczący sposób mogą wpływać na żywotność mikrospor, zdolność do tolerancji stresu związanego z izolacją i przeniesieniem do warunków *in vitro* oraz zdolność do prawidłowego rozwoju embriogenicznego w kulturach *in vitro*.

W prezentacji przedstawione zostaną wyniki ostatnich badań własnych prowadzonych w Zakładzie Biologii Komórki Instytutu Fizjologii Roślin PAN w Krakowie nad polskimi materiałami hodowlanymi jęczmienia (*Hordeum vulgare* L.) i pszenżyta ( $\times$  *Triticosecale* Wittm.). Pomimo, iż teoretycznie jęczmień należy do gatunków modelowych charakteryzuje go wysoka zmienność genotypowa co sprawia, iż efektywność uzyskiwana dla sporej części linii hodowlanych jest niewystarczająca. W przypadku polskich materiałów hodowlanych efektywność procesu wynosiła od 0 do 10 zielonych regenerantów w przeliczeniu na kłos rośliny macierzystej (ZR/kłos). Jeszcze gorsze rezultaty uzyskiwano dla pszenżyta (0-6 ZR/kłos), które prawdopodobnie dziedziczy cechę niskiej podatności po wybitnie „opornym”, w kulturach *in vitro*, życie. W prezentacji przedstawione zostaną standardowe procedury, możliwości wprowadzania modyfikacji optymalizujących technikę do wymogów konkretnych genotypów oraz prawdopodobne mechanizmy leżące u podłoża uzyskiwanych wyników.