



UNIWERSYTET ŚLĄSKI
INSTYTUT BIOLOGII, BIOTECHNOLOGII
I OCHRONY ŚRODOWISKA

Molekularne aspekty procesu embriogenezy w kulturze izolowanych mikrospor pszenicy (*Triticum aestivum*)

Okres realizacji: 1 stycznia – 31 grudnia 2023
(drugi rok realizacji projektu)

Kierownik projektu: dr Monika Gajeka (monika.gajeka@us.edu.pl)

Wykonawcy: prof. dr hab. Iwona Szarejko

Dr Beata Chmielewska

Justyna Zbieszczak

Realizowany temat badawczy:

Określenie czynników warunkujących optymalny rozwój zarodków indukowanych w kulturze *in vitro* dwóch odmian pszenicy jarej i dwóch odmian pszenicy ozimej

Realizacja: styczeń-grudzień 2023

Cele projektu w roku 2023:

Cel:	Osiągnięto cel:
1. Opracowanie protokołu regeneracji roślin pszenicy w kulturze izolowanych mikrospor	Tak
2. Określenie traktowania wstępnego warunkującego najwyższą efektywność regeneracji roślin w kulturze izolowanych mikrospor pszenicy	Tak
3. Określenie efektywności regeneracji roślin dla 4 genotypów pszenicy pochodzących z materiałów mieszańcowych uzyskanych od firm hodowli roślin	Tak

Materiał i metody

Materiał:

Kłosa pszenicy zawierające mikrospory w stadium średnio-późnym do późnego odmian:

- 'Pavon' i 'Chris' (Pszenica jara)
- 'Stylowa' i 'Zośka' (Pszenica ozima)
- Materiały mieszańcowe

Metody:

1. Wybranie pożywki umożliwiającej efektywną regenerację roślin pszenicy w kulturze izolowanych mikrospor
2. Wybranie traktowania wstępnego:
 - a. Traktowanie wstępne źdźbeł w 4 °C przez 21-28 dni
 - b. Traktowanie wstępne źdźbeł w 4 °C przez maksymalnie 7 dni w 0,01% 2-hydroxynicotinic acid (2-HNA) (Zheng i in. 2003),
 - c. Traktowanie wstępne mikrospor izolowanych ze świeżo zebranych kłosów w roztworze A (Zheng i in. 2001)
3. Sprawdzenie efektywności regeneracji roślin w kulturze izolowanych mikrospor materiałów pochodzących ze spółek hodowli roślin

Izolacja mikrospor i indukcja kultury

Sterylizacja
kłosów



(1,5% sodium hypochlorite for 20 mins)

Zebranie
kłosków



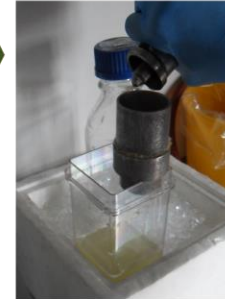
Izolacja
załączni



Mechaniczne
uwolnienie
mikrospor



Oczyszczanie
mikrospor



Zbiór
mikrospor



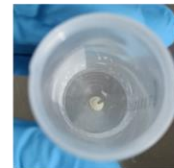
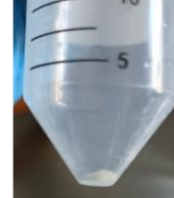
Zarodki po 35.
dniach kultury



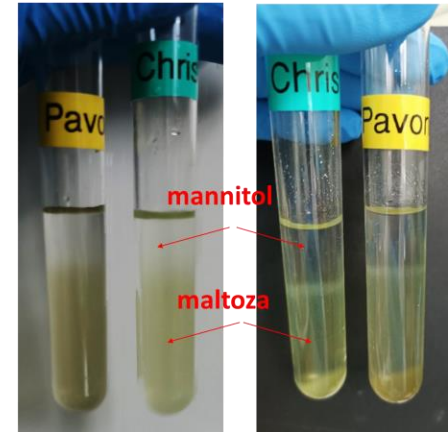
Kultura *in vitro*



Zebranie żywotnych
mikrospor

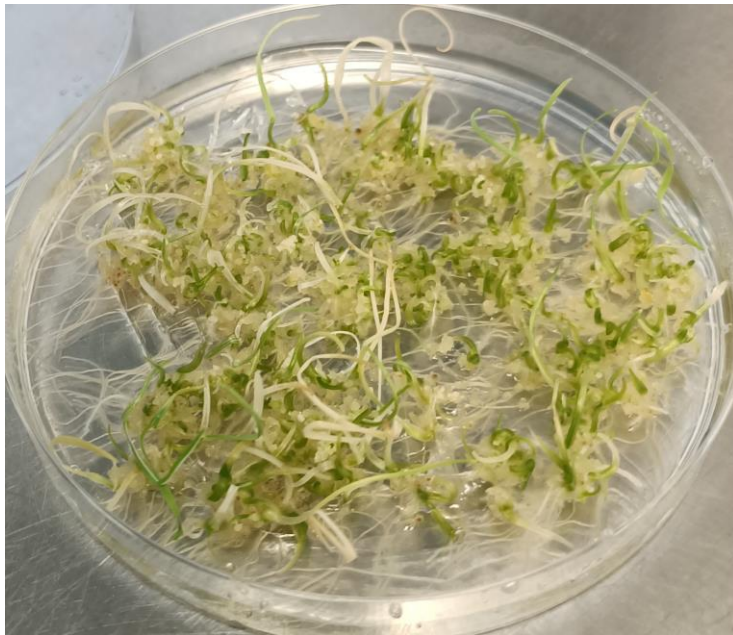


Wirowanie w gradiencie
steżeń



Wybranie pożywki umożliwiającej efektywną regenerację roślin pszenicy w kulturze izolowanych mikrospor

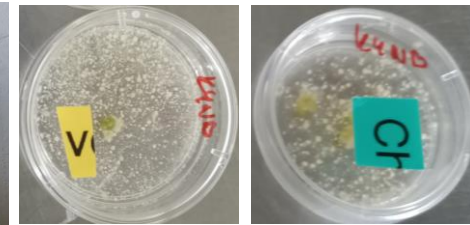
- **Pożywka B5-5** (Wang i in. 2019)
- **Pożywka K4NB** (Gajecka i in. 2021 za Kumlehn i in. 2006) używana rutynowo dla jęczmienia



Regeneracja
na pożywce B5-5



Regeneracja
na pożywce K4NB



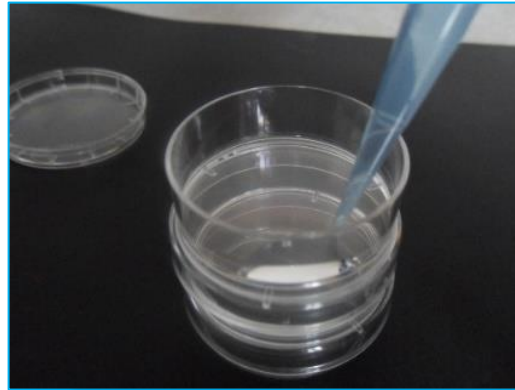
Szalki indukcyjne
zawierające zarodki
w odpowiednim stadium
do regeneracji

Regeneracja roślin w kulturze izolowanych mikrospor pszenicy była możliwa i efektywna na pożywce K4NB zarówno dla form jarych jak i ozimych

Wpływ traktowania wstępnego na indukcję zarodków w kulturze izolowanych mikrospor



Traktowanie wstępne źdźbeł w wodzie w 4°C przez 21-28 dni

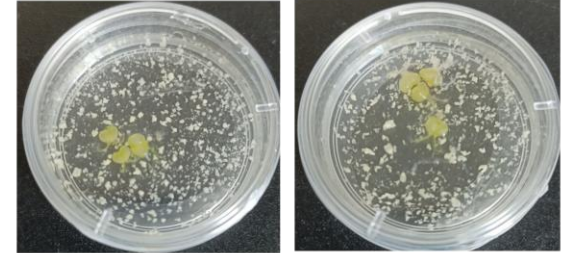


Traktowanie wstępne mikrospor izolowanych ze świeżo zebranych kłosów w Roztworze A przez 48 h w 28°C (Zheng i in., 2001)

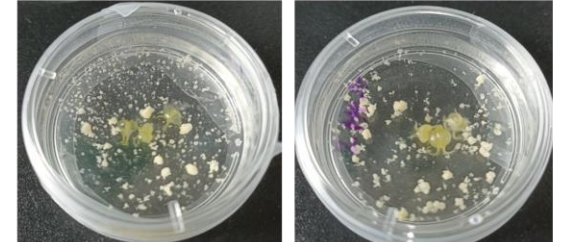
Traktowanie wstępne źdźbeł w 0.01% kwasie 2-hydroksynikotynowym, 1 μ M BAP; 10 μ M 2,4-D przez 7 dni w 4°C; (Zheng i in., 2003)

cv. Pavon cv. Chris

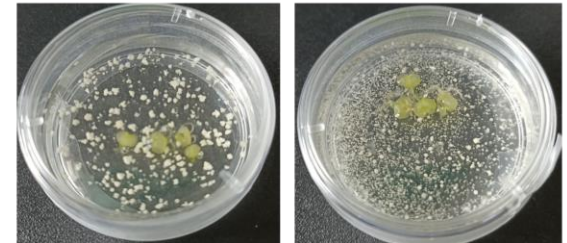
Źdźbła,
Woda



Źdźbła,
2-HNA



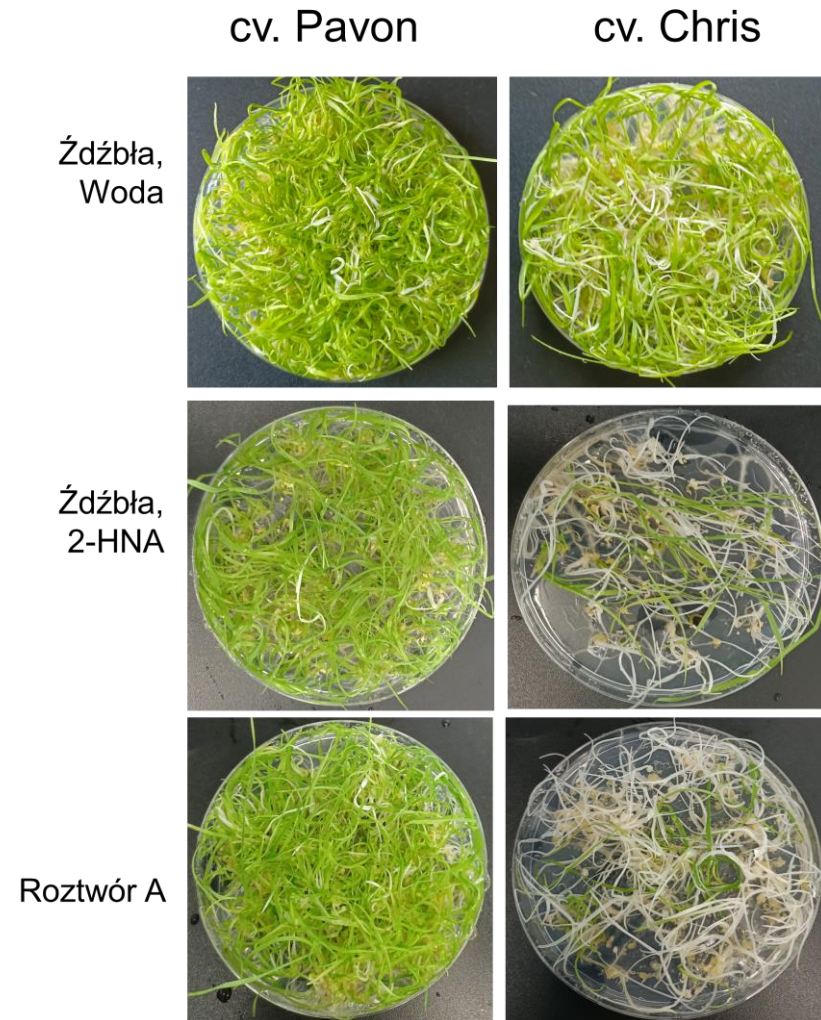
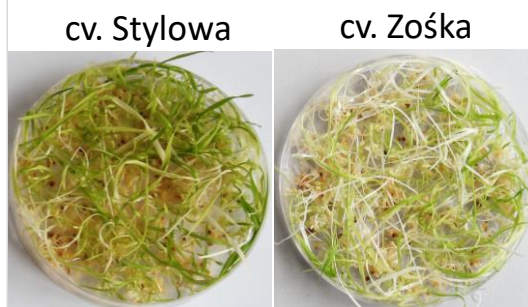
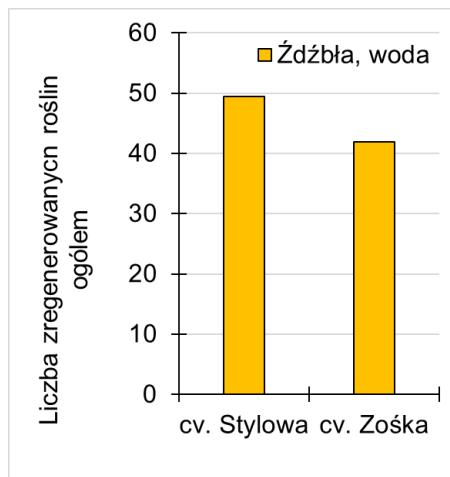
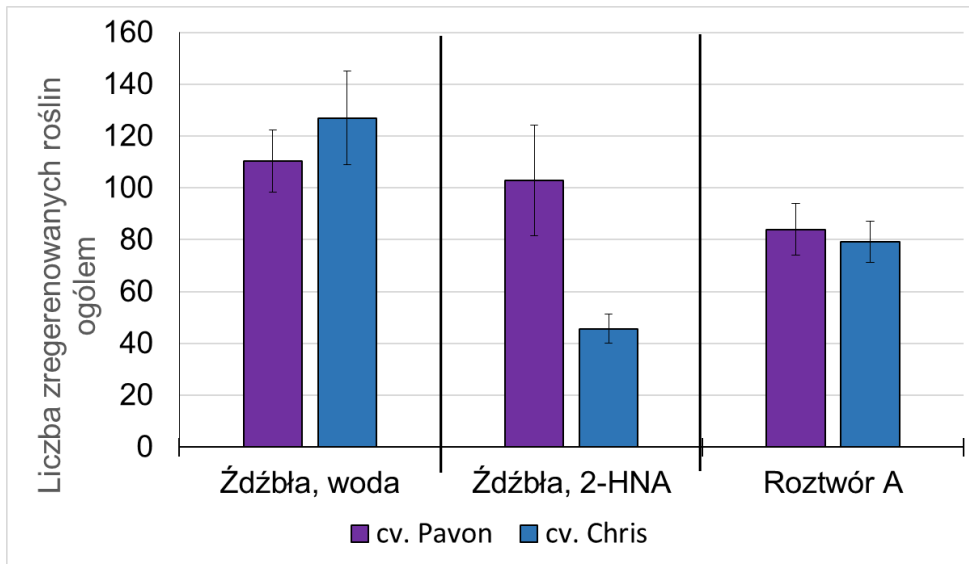
Roztwór A



Indukcja embriogenezy dla form jarych była możliwa z wykorzystaniem wszystkich traktowań wstępnych.

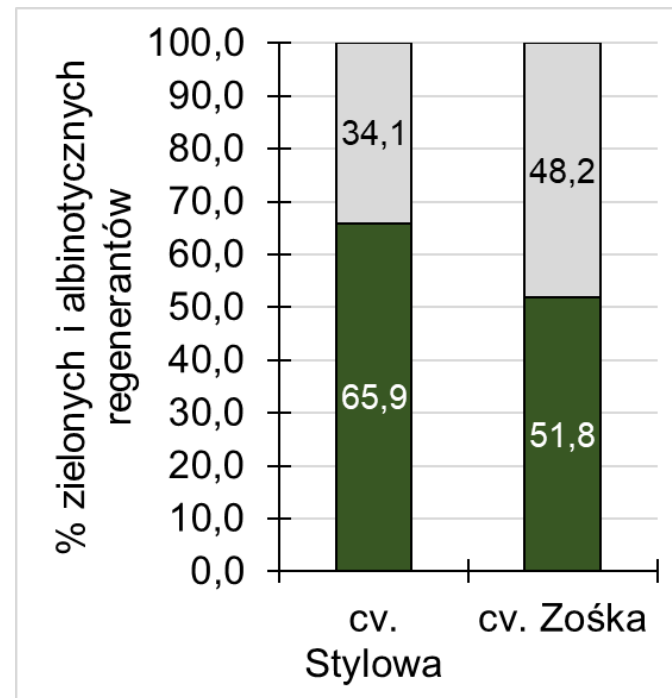
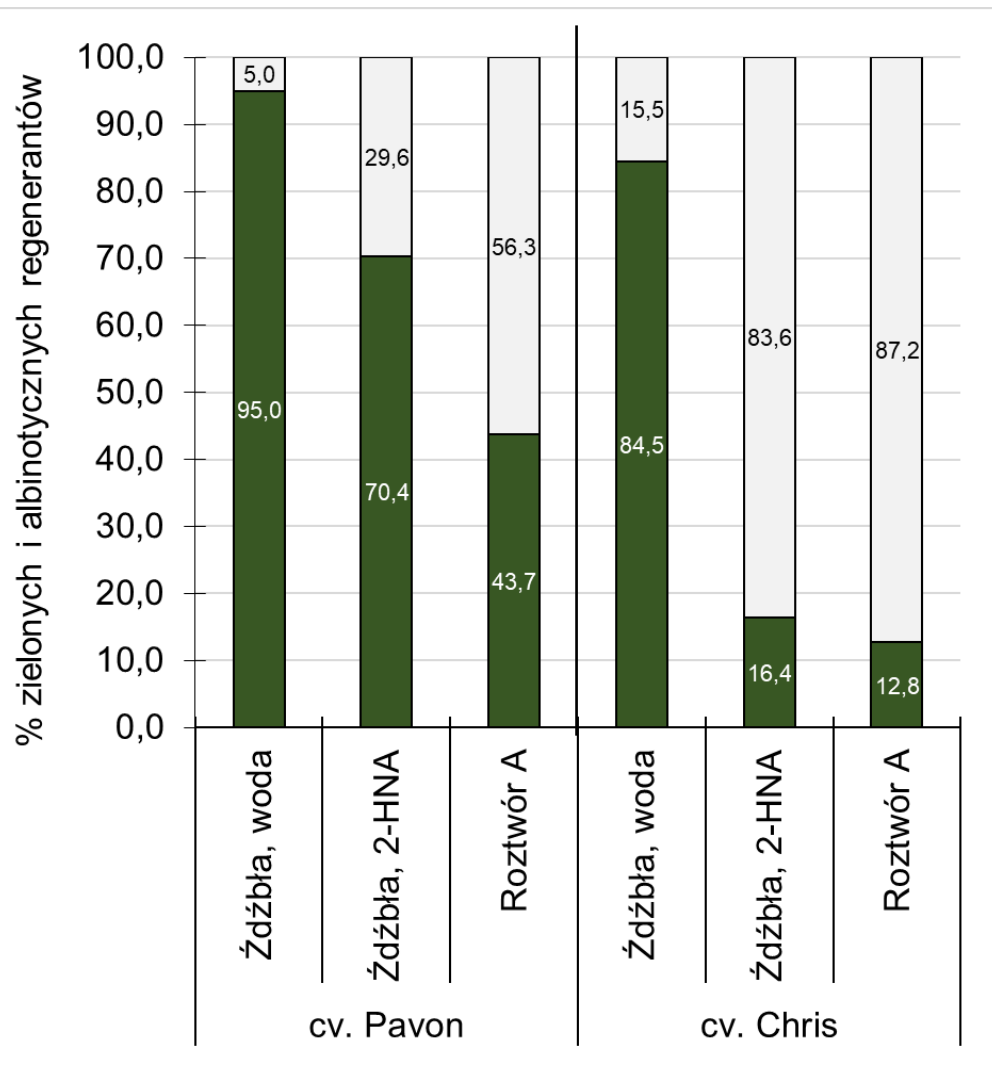
Dla form ozimych skuteczne było tylko traktowanie wstępne przez 28 dni w 4°C

Określenie efektywności regeneracji roślin w kulturze izolowanych mikrospor pszenicy



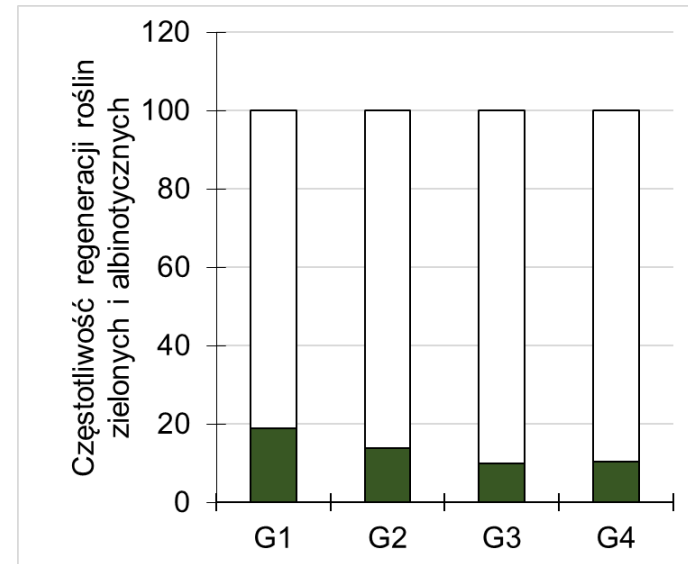
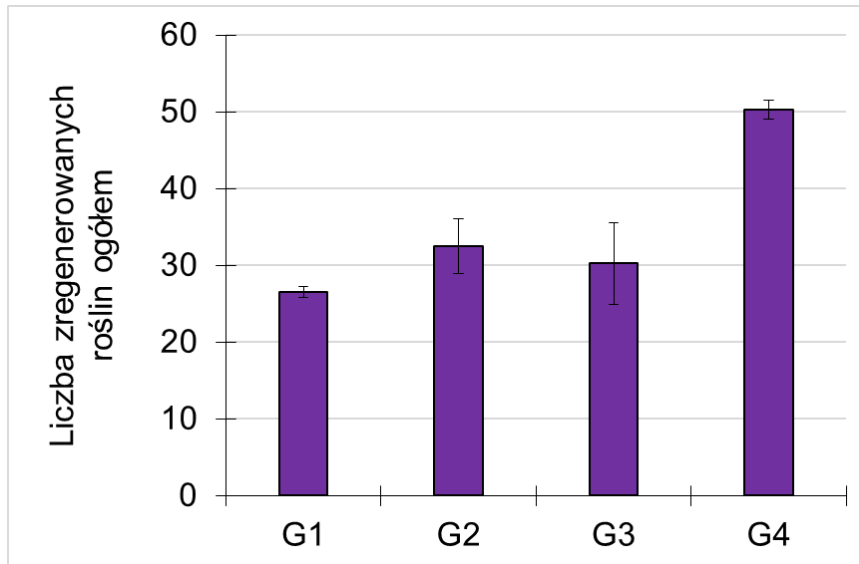
Najefektywniejszym traktowaniem wstępnym jest przechłodzenie źdźbeł w 4 °C przez 21-28 dni

Określenie częstotliwości regeneracji roślin zielonych w kulturze izolowanych mikrospor pszenicy



Najefektywniejszym traktowaniem wstępnym jest przechłodzenie źdźbeł w 4°C przez 21-28 dni

Określenie efektywności regeneracji roślin dla 4 genotypów pszenicy pochodzących z materiałów mieszańcowych uzyskanych od firm hodowli roślin



Przykładowe szalki regeneracyjne

Opracowany protokół może zostać wykorzystany do regeneracji roślin z różnych genotypów pszenicy