

Hodowla i genetyka

SPOSOBY OMIJANIA BARIER KRZYŻOWALNOŚCI ZIEMNIAKA W PRACACH HODOWLANYCH

mgr Paulina Smyda

IHAR – PIB, Oddział w Młochowie, ul. Platanowa 19, 05-831 Młochów
e-mail: p.smyda@ihar.edu.pl

W hodowli ziemniaka (*Solanum tuberosum* L.) ważnym elementem jest poszerzenie zmienności genetycznej. Na jego uprawę wpływa wiele stresów biotycznych, wywołanych przez bakterie, grzyby i wirusy, oraz stresów abiotycznych wskutek niekorzystnych czynników środowiska (Smyda 2011). Dzikie i prymitywnie uprawne gatunki ziemniaka stanowią źródło różnorodnych cech jakościowych i ilościowych, które mogą być wykorzystane w celu ulepszenia ziemniaka uprawnego. Zdarza się często, że bezpośrednio użycie niektórych genotypów jest niemożliwe ze względu na bariery, które uniemożliwiają wykorzystanie ich w krzyżowaniach seksualnych. W hodowli stosuje się różnorodne metody, pozwalające na ominięcie barier krzyżowalności i umożliwiające wykorzystanie bogatej zmienności genetycznej innych gatunków *Solanum*.

Bariery krzyżowalności są wynikiem niedopasowania form rodzicielskich. Można je ogólnie podzielić na pre- i postzygotyczne, czyli zachodzące przed powstaniem zarodka lub po jego powstaniu. Bariery prezygotyczne dzieli się na fizjologiczno-genetyczne

oraz morfologiczne. Fizjologiczno-genetyczne są związane z niewytwarzaniem lub zamieraniem łagiewki pyłkowej lub uniemożliwionym dotarciem łagiewki do załężni. Bariery morfologiczne występują, gdy wielkość komórek znamienia, długość i budowa anatomiczna słupka są przeszkodą dla zbyt krótkiej łagiewki pyłkowej (Zenkter 2007). Bariery postzygotyczne wynikają z niezgodności zarodka i bielma, działania mechanizmów immunologicznych czy występowania genów krzyżowalności.

U podłoża barier krzyżowalności gatunków ziemniaka leżą głównie różna ploidalność, ploidalność bielma (Endosperm Balance Number, EBN), jednokierunkowa niezgodność oraz cytoplazmatyczna męska sterylność obserwowana w mieszańcach międzygatunkowych jako efekt oddziaływania wrażliwej cytoplazmy żeńskiego rodzica i genów jądrowych formy ojcowskiej (Zimnoch-Guzowska 2003).

W hodowli ziemniaka znanych jest wiele metod omijania barier krzyżowalności, zarówno tych pre-, jak i postzygotycznych. Do najczęściej wykorzystywanych zalicza się: •manipulację poziomem ploidalności, •krzy-

zowanie pomostowe, •izolację i kultury zarodków, •stosowanie hormonów roślinnych, •selekcję genotypów zdolnych do krzyżowania i krzyżowanie odwrotne oraz •somatyczną fuzję.

Manipulacja poziomem ploidalności i krzyżowania pomostowe

Pomyślność krzyżowań pomiędzy różnymi formami ziemniaka zależy od poziomu ploidalności oraz wartości EBN. EBN jest wartością teoretyczną, ustaloną doświadczalnie w serii krzyżowań. Gatunki *Solanum* mają EBN równy 1, 2 lub 4 (Hanneman 1994). Warunkiem prawidłowego rozwoju zarodka jest stosunek wartości EBN matcznego do ojcowskiego równy 2:1 w bielmie rozwijającego się zarodka. Formy o tej samej wartości EBN krzyżują się efektywnie, natomiast formy o różnym EBN nie krzyżują się lub krzyżówki takie są mało wydajne.

Większość odmian ziemniaka uprawnego to formy tetraploidalne (4x) o wartości 4EBN. Dzikie gatunki to głównie diploidalne (2x) formy 1EBN lub 2EBN. Według teorii liczby zbalansowanego endospermu wraz z podniesieniem poziomu ploidalności zwiększa się odpowiednio wartość EBN (Johnston i in. 1980). Podwyższenie poziomu ploidalności, a co za tym idzie także wartości EBN, można uzyskać, stosując kolchicynę (związek powodujący wzrost poziomu ploidalności) lub używając w krzyżowaniach form rodzicielskich wytwarzających gamety o niezredukowanej liczbie chromosomów, $2n$ gamety (Camadro, Espinillo 1990). Najlepsze efekty w krzyżowaniach form o różnym poziomie ploidalności uzyskuje się między formami ziemniaka uprawnego $4x$ 4EBN a formami $2x$ 2EBN, które wytwarzają gamety $2n$. W wyniku tych krzyżowań powstaje tetraploidalne, żywotne potomstwo.

Innym zabiegiem hodowlanym przełamującym bariery krzyżowalności jest krzyżowanie pomostowe. W jego wyniku powstaje potomstwo pośrednie, które poprzez manipulację jego poziomem ploidalności może ostatecznie zostać skrzyżowane z ziemniakiem uprawnym. Przykładem jest wykorzystanie *S. acaule* (4x, 2EBN) jako formy pomostowej w krzyżówce pomiędzy *S. tuberosum* (4x, 4EBN) a *S. pinnatisectum* (2x, 1EBN), *S. bulbocastanum* (2x, 1EBN) i *S.*

cardiophyllum (2x, 1EBN). Po skrzyżowaniu *S. acaule* z *S. pinnatisectum*, *S. bulbocastanum* i *S. cardiophyllum* uzyskano triploidalne (3x) i sterylne potomstwo. Poddano je działaniu kolchicyny, co w efekcie pozwoliło na uzyskanie płodnych form 6x, krzyżujących się z $4x$ *S. tuberosum* (Jansky 2006).

Izolacja i kultury *in vitro* zarodków, stosowanie hormonów roślinnych

W celu ominięcia barier krzyżowalności stosuje się także kultury *in vitro* zarodków mieszańcowych. Metoda polega na wyizolowaniu zarodka z załąźni, która nie zapewnia prawidłowego rozwoju, i przeniesienie go na odpowiednią pożywkę, która pozwoli na przejście przez dalsze stadia rozwojowe aż do uzyskania rośliny. Jest to technika pracochłonna i długotrwała, wymagająca praktyki i precyzji. Na prawidłowy rozwój zarodka w warunkach *in vitro* ma wpływ wiele czynników. Zarodek musi być wyizolowany w odpowiednim stadium rozwojowym i przełożony na dobrze dobraną pożywkę, wzbogaconą w wiele substancji odżywczych.

Można również zastosować metodę bezpośredniego zapylania *in vitro*. W tym celu wykastrowane pąki sterylizuje się, zapyla w warunkach laboratoryjnych i umieszcza na odpowiednich pożywkach. Zapewnia to zarodkowi optymalne warunki rozwoju.

W sytuacji kiedy łagiewka pyłkowa dociera do załąźni, ale ze względu na niski poziom hormonów stymulujących nie następuje prawidłowy rozwój zarodka, stosuje się hormony podawane *in vivo*. Po 24 godzinach po zapyleniu załąźni są opryskiwane hormonami roślinnymi, jak auksyny, cytokininy i gibereliny (Jansky 2006). Taki zabieg pozwala na właściwy rozwój zarodka i uzyskanie nasion.

Selekcja genotypów zdolnych do krzyżowania oraz krzyżowanie odwrotne

Krzyżowalność jest determinowana czynnikami genetycznymi i środowiskowymi. Genotypy w obrębie tego samego gatunku różnią się zdolnością do krzyżowania z innymi gatunkami, co tłumaczy się występowaniem genów krzyżowalności. Selekcja większej puli genotypów zdolnych do krzyżowania, które wykazują bujne kwitnienie i produkują

funkcjonalny pyłek, pozwoli na otrzymanie oczekiwanego potomstwa.

Często zdarza się, że krzyżówka jest pomyslna w jednym kierunku, podczas gdy w drugim nie daje żywotnego potomstwa. Zjawisko to można tłumaczyć jednokierunkową niezgodnością, związaną z niezgodnością genetyczną słupka i pyłku. U roślin obcopolnych, także u ziemniaka, funkcjonują geny samoniezgodności (S), występujące w wielu wariantach (allelach). Efekt działania alleli samoniezgodności jest taki, że ziarna pyłku nie kiełkują na znamieniu słupka lub nie są w stanie przerosnąć przez szyjkę słupka, który ma te same allele genów niezgodności co pyłek. W przypadku jednokierunkowej niezgodności stwierdzono, że łatwiej krzyżują się gatunki samozgodne (Sc) z gatunkami samoniezgodnymi (Si), gdy forma męska jest samozgodna, co można opisać $Sc_{\text{♀}} \times Si_{\text{♂}} > Si_{\text{♀}} \times Sc_{\text{♂}}$ (Abdalla, Hermsen 1972).

Somatyczna fuzja

Metoda ta pozwala na łączenie form, które nie krzyżują się seksualnie. Polega na połączeniu protoplastów (izolowanych z komórek somatycznych) dwóch form rodzicielskich. W wyniku somatycznej fuzji otrzymuje się mieszańce o różnych kombinacjach genetycznych (Szczerbakowa 2008). Metoda somatycznej hybrydyzacji jest szczególnie przydatna do wprowadzania cech warunkowanych wieloma genami. Jest to technika pracochłonna i wymagająca dużego doświadczenia. Często duża liczba otrzymanych somatycznych mieszańców nie daje form z pożądanymi cechami. W dalszym wykorzystaniu somatycznych mieszańców ważne jest, aby wyselekcjonowane formy posiadające oczekiwane cechy były płodne i zdolne do dalszych krzyżowań (Orczyk, Przetakiewicz, Nadolska-Orczyk 2003). Metoda ta mimo wielu problemów może wspomagać konwencjonalną hodowlę.

Międzygatunkowe krzyżowania są metodą efektywnego wprowadzania ważnych

cech jakościowych i odpornościowych do materiału hodowlanego w celu jego ulepszenia. Pełne wykorzystanie potencjału, jaki niosą gatunki *Solanum*, jest możliwe dzięki stosowaniu metod skutecznie przełamujących bariery krzyżowalności. Dobór odpowiedniej techniki zależy od charakteru bariery krzyżowalności. Omówione powyżej metody stanowią dobre narzędzia do omijania barier krzyżowalności, umożliwiając wykorzystanie w hodowli szerokiej puli zmienności genetycznej spoza ziemniaka uprawnego.

Literatura

- 1. Abdalla M. M. F., Hermsen J. G. T. 1972.** Unilateral incompatibility: hypothesis debate and its implications for plant breeding. – *Euphytica* 21: 32-47;
- 2. Camadro E. L., Espinillo J. C. 1990.** Germplasm transfer from the wild tetraploid species *Solanum acaule* Bitt. to the cultivated potato *S. tuberosum* L. using $2n$ eggs. – *Am. Potato J.* 67: 737-749;
- 3. Hanneman Jr. R. E. 1994.** Assignment of Endosperm Balance Numbers to the tuber-bearing *Solanums* and their close non-tuber-bearing relatives. – *Euphytica* 74: 19-25;
- 4. Jansky S. 2006.** Overcoming hybridization barriers in potato. – *Plant Breed.* 125: 1-12;
- 5. Johnston S. A., den Nijs T. P. M., Peloquin S. J., Hanneman R. E. 1980.** The significance of genic balance to endosperm development in interspecific crosses. – *Theor. Appl. Genet.* 57: 5-9;
- 6. Orczyk W., Przetakiewicz J., Nadolska-Orczyk A. 2003.** Somatic hybrids of *Solanum tuberosum* – application to genetics and breeding. – *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 74: 1-13;
- 7. Smyda P. 2011.** Wykorzystanie somatycznej fuzji do przenoszenia agronomicznie ważnych cech z dzikich gatunków *Solanum* do genomu ziemniaka uprawnego *Solanum tuberosum* L. – *Post. Nauk Rol.* 3: 7-18;
- 8. Szczerbakowa A. 2008.** Międzygatunkowe mieszańce somatyczne ziemniaka. – *Ziemn. Pol.* 1: 4-8;
- 9. Zimnoch-Guzowska E. 2003.** Wykorzystanie form diploidalnych ziemniaka w pracach hodowlanych i genetycznych. – *Post. Nauk Rol.* 1: 47-66;
- 10. Zenteler M. 2007.** Kultura załączków, załączni i zarodków. [W:] *Biotechnologia roślin*. Red. S. Malepszy. PWN Warszawa: 70-87