

Genetičke karakteristike androgeneze pšenice

- Originalan naučni rad -

Branka LJEVNAIĆ¹, Ankica KONDIĆ-ŠPIKA², Borislav KOBILJSKI² i
Nikola HRISTOV²

¹Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad

²Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Zavod za strna žita, Novi Sad

Izvod: U radu je proučavan genetički aspekt androgeneze genotipova ozime pšenice (*Triticum aestivum* L.). Dvadeset F₁ hibrida i njihovih 24 roditelja je korišćeno kao materijal. Ispitan je androgeni kapacitet, regeneraciona sposobnost i proporcija zelenih u odnosu na albino biljke. U pogledu svih ispitivanih svojstava utvrđene su značajne razlike između genotipova. F₁ hibridi su imali znatno bolju androgenu sposobnost i sposobnost za regeneraciju zelenih biljaka od njihovih roditelja. Utvrđeno je da se ispitivana svojstva nasleđuju uglavnom dominantno i superdominantno. Prosečna vrednost androgenog kapaciteta svih genotipova iznosila je 4,7%. Od svih ispitivanih genotipova, 34,1% genotipova imalo je dovoljan procenat androgenih antera (5% i više) za uspešnu primenu u oplemenjivačkim programima. Iako je regeneraciona sposobnost bila je relativno niska (2,3%), dobijeno je 37,4% zelenih biljaka. Zapaženo je da je oko 70% ispitivanih genotipova dalo dve ili više zelenih biljaka na 100 izolovanih antera, što omogućava njihovo korišćenje u daljem oplemenjivanju pšenice.

Ključne reči: Androgeneza, nasleđivanje, *Triticum aestivum* L.

Uvod

Gajenje antera pšenice u *in vitro* uslovima predstavlja pomoćnu metodu klasičnom oplemenjivanju pšenice, pri čemu se dobijaju haploidne biljke, te spontani ili indukovani dvostruki haploidi, *Turesson i sar.*, 2000, *Kondić-Špika i Šesek*, 2002, *Ljevnaić i sar.*, 2007. Na taj način metod kulture antera omogućava proizvodnju homozigotnog potomstva, iz heterozigotnog materijala, čija su agronomska svojstva slična materijalu proizvedenom klasičnim metodama oplemenjivanja, *Kertész i sar.*, 2001, a period selekcije se skraćuje za nekoliko godina, *Henry i De Buysers*, 1990, *Šesek i sar.*, 1994. Dosadašnja istraživanja su

pokazala da androgena sposobnost, kao i sposobnost za regeneraciju zelenih biljaka zavise od brojnih faktora, a prvenstveno od genotipa, **He** i **Ouyang**, 1984, **Kondić** i **Šesek**, 1999, **Kim** i **Baenziger**, 2005, **Ljevnaić**, 2007). Različite faze *in vitro* odgovora su pod kontrolom različitih gena ili interakcije gena, **Tyankova i sar.**, 2006. Utvrđeno je da se geni, koji kontrolišu nasleđivanje sposobnosti za regeneraciju zelenih biljaka, nalaze na 1AL, 2AL, 2BL, 5BL hromozomima, **Martínez i sar.**, 1994, **Torp i sar.**, 2001.

Cilj rada bio je da se ispituju razlike u androgenoj i regeneracionoj sposobnosti, te u proporciji dobijenih zelenih regeneranata u kulturi *in vitro* između heterozigotnih (F₁ hibrida) i homozigotnih genotipova pšenice (roditelja) čije androgene karakteristike do sada nisu analizirane, a radi se o hibridima savremene generacije. Takođe, cilj je bio da se utvrde i načini nasleđivanja pojedinih svojstava androgenoze kod F₁ hibrida.

Materijal i metode

Kao materijal korišćeno je 20 F₁ hibrida ozime pšenice (*Triticum aestivum* L.) i njihovih 24 roditelja, koji predstavljaju deo oplemenjivačkog programa Zavoda za stma žita Instituta za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu. Od svakog genotipa izolovano je ukupno 600 antera koje su prenete na modifikovanu potato-2 indukcijonu hranljivu podlogu, **Chuang i sar.**, 1978. Posle 4-6 nedelja, formirani kalusi presađeni su na 190-2 podlogu za regeneraciju biljaka, **Zhuang i Jia**, 1980. Nakon 2-3 nedelje gajenja na ovoj podlozi, zeleni regeneranti su presađeni na podlogu za formiranje korenovog sistema. Izolacija, sterilizacija antera i gajenje dobijenih regeneranata vršeno je prema proceduri koju su već ranije opisali **Ljevnaić i sar.**, 2006.

U radu su analizirani sledeći parametri:

- androgeni kapacitet = $\frac{\text{broj androgenih antera}}{\text{broj izolovanih antera}} \times 100 (\%)$
- regeneraciona sposobnost = $\frac{\text{broj regenerisanih biljaka}}{\text{broj izolovanih antera}} \times 100 (\%)$
- proporcija zelenih u odnosu na albino biljke = $\frac{\text{broj zelenih biljaka}}{\text{broj regenerisanih biljaka}} \times 100 (\%)$

Značajnost razlika između srednjih vrednosti roditelja i F₁ hibrida utvrđena je na osnovu LSD-testa, **Hadživuković**, 1991, dok su načini nasleđivanja pojedinih svojstava androgenoze određivani t-testom, **Kraljević-Balalić i sar.**, 1991.

Rezultati i diskusija

Androgeni kapacitet. - Svi ispitivani genotipovi posedovali su sposobnost za androgenezu. Dovoljan procenat androgenih antera ($\geq 5\%$) za uspešnu primenu u oplemenjivačkim programima imalo je oko 34% genotipova. Najniža vrednost androgenog kapaciteta homozigota (0,8%) zabeležena je kod genotipova NS 178-98, Banks i Chris, dok je najveći androgeni kapacitet (13,0%) imao genotip Mexico-3 (Tabela 1).

Procenat androgenih antera kod heterozigota kretao se od 0,7% do 14,7% (Tabela 2). F_1 hibridi pokazali su značajno bolju androgenu sposobnost ($\bar{x} = 5,8$) od

Tabela 1. Androgena i regeneraciona sposobnost homozigotnih genotipova pšenice
Androgenous and Regeneration Ability of Homozygous Wheat Genotypes

Homozigoti Homozygotes	Broj izolovanih antera Number of isolated anthers	Androgeni kapacitet (%) Androgenous capacity	Regeneraciona sposobnost (%) Regeneration ability	Proporcija zelenih biljaka (%) Proportion of green plants
Prima	600	4,3	1,0	0,0
Huequen	600	3,7	2,7	25,0
NS 173-98	600	4,7	0,0	0,0
NS 164-98	600	2,3	2,7	0,0
Mexico-3	600	13,0	3,7	72,7
Radika	600	3,0	2,3	28,6
Garazinko	600	10,3	6,0	38,9
NS 163-98	600	3,3	1,3	50,0
NS 121-98	600	7,0	3,0	22,2
NS 178-98	600	0,8	0,0	0,0
NS 109-96	600	2,7	0,7	100,0
Pesma	600	3,7	0,7	100,0
Anastazija	600	3,3	3,7	0,0
Banks	600	0,8	0,0	0,0
Chris	600	0,8	0,0	0,0
Pinzon Inta	600	3,7	2,7	25,0
Bezostaja-1	600	1,3	0,0	0,0
F 53-70	600	2,3	3,3	20,0
NS 42-00	600	3,0	1,0	100,0
Sofija	600	1,7	0,0	0,0
NS 30-95	600	6,0	9,7	48,3
NSP-11	600	5,0	1,3	0,0
Pobeda	600	1,3	0,0	0,0
Rodna	600	1,0	0,0	0,0
\bar{X}		3,7	1,9	26,3
LSD	0,05	1,94	1,35	8,29
	0,01	2,60	1,81	11,09

svojih roditelja ($\bar{x} = 3,7$). Ovi rezultati su u saglasnosti sa rezultatima objavljenim od strane **Zamanija i sar.**, 2003.

Ispitivanja su pokazala da se androgeni kapacitet, kod većine ispitivanih genotipova, nasleđivao superdominantno i dominantno. Međutim, kod tri F₁ hibrida (Prima x Huequen, Prima x Garazinko i Banks x Chris) došlo je do pojave negativnog heterozisa (Tabela 2). Slične rezultate dobila je i **Kondićeva**, 1999.

Regeneraciona sposobnost. - Veoma slabu regeneracionu sposobnost (< 5,0%) pokazalo je čak oko 90% ispitivanih genotipova. Od ukupno 24 ispitivanih

Tabela 2. Androgena i regeneraciona sposobnost heterozigotnih genotipova pšenice
Androgenous and Regeneration Ability of Heterozygous Wheat Genotypes

Heterozigoti Heterozygotes	Androgeni kapacitet Androgenous capacity		Regeneraciona sposobnost Regeneration ability		Proporcija zelenih biljaka Proportion of green plants	
	%	Nasleđ. Heredity	%	Nasleđ. Heredity	%	Nasleđ. Heredity
Prima x Huequen	1,2	- sd	1,2	d	42,86	+ sd
NS 173-98 x NS 164-98	11,0	+ sd	1,7	i	40,00	+ sd
Mexico-3 x Radika	4,3	d	4,2	d	52,00	i
Radika x Huequen	3,0	d	1,7	pd	30,00	d
Prima x Garazinko	2,3	- sd	2,0	pd	75,00	+ sd
NS 163-98 x NS 121-98	8,3	d	3,2	d	21,05	d
NS 163-98 x NS 164-98	7,8	+ sd	2,7	d	31,25	i
NS 163-98 x NS 178-98	7,3	+ sd	1,3	d	50,00	d
NS 109-96 x Radika	6,5	+ sd	1,2	pd	42,86	pd
NS 163-98 x Radika	7,3	+ sd	1,0	pd	50,00	d
Radika x Pema	10,5	+ sd	3,0	pd	16,67	d
Anastazija x Radika	9,8	+ sd	6,0	pd	11,11	i
Banks x Chris	0,7	- sd	0,7	i	100,00	+ sd
Banks x Pinzon Inta	1,2	pd	1,7	i	50,00	+ sd
Prima x Bezostaja-1	1,0	d	1,0	d	100,00	+ sd
Banks x F 53-70	4,3	+ sd	6,0	d	91,67	+ sd
NS 42-00 x Sofija	3,8	d	2,7	d	81,25	pd
NS 30-95 x NSP-11	14,7	+ sd	12,7	d	28,95	i
Banks x Pobeda	3,8	+ sd	0,7	i	0,00	i
Banks x Rodna	6,5	+ sd	0,7	i	100,00	+ sd
\bar{X}	5,8		2,8		50,7	
LSD	0,05	1,86	1,80		12,19	
	0,01	2,49	2,41		16,31	

+ sd - superdominacija - superdominance / pozitivan heterozis - positive heterosis

- sd - negativan heterozis - negative heterosis

pd - parcijalna dominacija - partial dominance

d - puna dominacija - complete dominance

i - inetermedijarno nasleđivanje - intermediary inheritance

homozigota, osam (NS 173-98, NS 178-98, Banks, Chris, Bezostaja-1, Sofija, Pobeda i Rodna) ih nije posedovalo sposobnost za regeneraciju biljaka (Tabela 1). Najbolju regeneracionu sposobnost (9,7%), imao je genotip NS 30-95, koji je bio i jedan od roditelja F₁ hibrida sa najvećim brojem regenerisanih biljaka (Tabela 2). Kod ostalih homozigota, broj regenerisanih biljaka, na 100 izolovanih antera, kretao se od 0,7% do 6,0% (Tabela 1).

Svi heterozigotni genotipovi posedovali su sposobnost za regeneraciju biljaka, ali je ova sposobnost, kod oko 85% njih, bila veoma slaba (< 5%). Genotipovi Banks x Chris, Banks x Pobeda i Banks x Rodna su regenerisali najmanji broj biljaka na 100 izolovanih antera (0,7%). Pored toga, genotip Banks x Chris se pokazao i kao genotip sa najslabijim androgenim kapacitetom. Najveći broj regeneranata (12,7%) dao je genotip NS 30-95 x NSP-11 (Tabela 2).

Prosečna regeneraciona sposobnosti F₁ hibrida ($\bar{x}=2,8$) bila je na nivou njihovih roditelja ($\bar{x}=1,9$). Ovi rezultati slični su rezultatima *Zamanija i sar.*, 2003, ali nisu u saglasnosti sa rezultatima koje je dobila *Kondićeva*, 1999, prema kojima su heterozigoti pokazali heterotičan efekat u odnosu na svoje roditelje za ovo svojstvo.

Kod najvećeg broja ispitivanih F₁ hibrida uočeno je da je za nasleđivanje regeneracione sposobnosti odgovorno dominantno delovanje gena. Kod pojedinih F₁ hibrida, međutim, uočeno je intermedijarno nasleđivanje i parcijalna dominacija u pogledu nasleđivanja sposobnosti za regeneraciju biljaka (Tabela 2). Slične rezultate dobili su i drugi autori, *Agache i sar.*, 1988, *Gonzalez i sar.*, 1997.

Proporcija zelenih u odnosu na albino regenerante. - Visok procenat regenerisanih zelenih biljaka (> 75%) imalo je oko 20% ispitivanih genotipova. Homozigoti NS 109-96, Pema i NS 42-00 i heterozigoti Banks x Chris, Prima x Bezostaja-1 i Banks x Rodna regenerisali su samo zelene biljke (Tabele 1 i 2).

Sposobnost da regenerišu zelene biljke nisu posedovali genotipovi: Prima, NS 173-98, NS 164-98, NS 178-98, Anastazija, Banks, Chris, Bezostaja-1, Sofija, NSP-11, Pobeda, Rodna i heterozigot Banks x Pobeda. Izuzimajući ove genotipove, i kod homozigota i kod heterozigota, proporcija zelenih biljaka kretala se u intervalu od oko 20% do 100% (Tabele 1 i 2).

Heterozigoti su regenerisali značajno više zelenih biljaka ($\bar{x}=50,7$) u odnosu na svoje roditelje ($\bar{x}=26,3$), odnosno kod njih je došlo do pojave heterozisa za ovo svojstvo. Proporcija zelenih biljaka, kod ispitivanih F₁ hibrida, nasleđivala se pretežno superdominantno, dominantno i intermedijarno (Tabela 2). Ovakvi rezultati su u saglasnosti sa rezultatima drugih autora, *Gonzalez i sar.*, 1997, *Kondić*, 1999, ali nisu u saglasnosti sa rezultatima koje su dobili *Zamani i sar.*, 2003.

Zaključak

Istraživanja su pokazala da su svi ispitivani genotipovi posedovali sposobnost za androgenezu. Utvrđene su značajne razlike u pogledu androgenog

kapaciteta, regeneracione sposobnosti i proporcije zelenih biljaka između genotipova. Ovo još jednom potvrđuje činjenicu da genotip igra odlučujuću ulogu u ispoljavanju androgene sposobnosti. Heterozigoti (F_1 hibridi) su ispoljili heterotičan efekat, u pogledu androgene sposobnosti i proporcije regenerisanih zelenih biljaka, u odnosu na homozigote (njihove roditelje), dok je njihova regeneraciona sposobnost bila na nivou njihovih roditelja. Oko 70% ispitivanih genotipova dalo je dve ili više zelenih biljaka na 100 izolovanih antera, što omogućava njihovo korišćenje u daljem oplemenjivanju pšenice.

Androgeni kapacitet i proporcija zelenih biljaka, u najvećem broju slučajeva, nasleđivani su superdominantno i dominantno, dok je za regeneracionu sposobnost, kod ispitivanih genotipova, odgovorno uglavnom dominantno, parcijalno dominantno ili intermedijarno nasleđivanje.

Literatura

- Agache, S., J. De Buysers, Y. Henry and J.W. Snape** (1988): Studies of the genetic relationship between anther culture and somatic tissue culture abilities in wheat. *Plant Breed.* 100: 26-33.
- Chuang, C.C., T.W. Ouyang, H. Chia, S.M. Chou and C.K. Ching** (1978): A set of potato media for wheat anther culture. Book of Proceedings of the Symposium on Plant Tissue Culture, May 25-30, 1978, Peking, China, Science Press, Peking, China. pp. 51-56.
- Gonzales, M., I. Hernandez and N. Jouve** (1997): Analysis of anther culture response in hexaploid *triticale*. *Plant Breed.* 116: 302-304.
- Hadživuković, S.** (1991): Statistički metodi s primenom u poljoprivrednim i biološkim istraživanjima, izd. Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
- He, D.G. and J.W. Ouyang** (1984): Callus and plantlet formation from cultured wheat anthers and different developmental stages. *Plant Sci. Lett.* 33: 71-79.
- Henry, Y. and J. De Buysers** (1990): Wheat anther culture: agronomic performance of doubled haploid lines and the release of a new variety 'Florin'. In: Y.P.S. Bajaj (Ed.) *Biotechn. Agr. Forest.*, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, **13** (Wheat): 285-352.
- Kertész, Z., S. Hasan, J. Bánhidly, C. Kertész, R. Mihály and J. Pauk** (2001): Evaluation of anther culture-derived wheat lines in wheat breeding and seed production. *Hung. Agr. Res.* 4: 4-7.
- Kim, K.M. and S.P. Baenziger** (2005): A simple wheat haploid and double haploid production system using anther culture. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant* **41** (1): 22-27.
- Kondić, A.** (1999): Genetički aspekti, androgeneze pšenice i primena u oplemenjivanju. Magistarska teza, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad.

- Kondić, A.** and **S. Šesek** (1999): Androgenous and regeneration abilities of homozygous and heterozygous wheat genotypes. *Genetika* **31** (1): 59-64.
- Kondić-Špika, A.** i **S. Šesek** (2002): *In vitro* metode u oplemenjivanju strnih žita u Novom Sadu - dostignuća i perspektive. Zb. rad. Savetovanja o biotehnologiji u Vojvodini, 12-13. septembar 2002, Novi Sad, Jugoslavija, str. 113-121.
- Kraljević-Balalić, M., S. Petrović** i **Lj. Vapa** (1991): *Genetika - teorijske osnove sa zadacima*, izd. Poljoprivredni i Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad.
- Ljevnaić, B.** (2007): Androgeneza različitih genotipova pšenice (*Triticum aestivum* L.) i citološke karakteristike regeneranata. Magistarska teza, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad.
- Ljevnaić, B., A. Kondić-Špika, B. Kobiljski** and **S. Denčić** (2006): Androgenous ability of heterozygous wheat genotypes and cytological characteristics of green regenerants. *Genetika* **38** (2): 153-158.
- Ljevnaić, B., A. Kondić-Špika, B. Kobiljski** and **N. Hristov** (2007): Cytological characteristics of regenerants obtained from anther culture of wheat (*Triticum aestivum* L.). Book of Abstracts of the 9th International Symposium Interdisciplinary Regional Research", June 21-23, 2007, Novi Sad, Serbia, pp. 37.
- Martinez, I., M. Bernard, P. Nicolas** and **S. Bernard** (1994): Study of androgenetic performance and molecular characterization of a set of wheat-rye addition lines. *Theor. Appl. Genet.* **89** (7-8): 982-990.
- Šesek, S., K. Borojević, Lj. Radojević** and **G.W. Schaeffer** (1994): Efficiency of anther culture technique in wheat breeding. *Arch. Biol. Sci.* **46** (3-4): 57-63.
- Torp, A.M., A.L. Hansen** and **S.B. Andersen** (2001): Chromosomal regions associated with green plant regeneration in wheat (*Triticum aestivum* L.) anther culture. *Euphytica* **119** (3): 377-387.
- Turesson, S., A. Ljungberg, N. Johansson, K.-E. Kalsson, L.W. Suijs** and **J.-P. Josset** (2000): Large-scale production of wheat and triticale double haploids through the use of a single-anther culture method. *Plant Breed.* **119**: 455-459.
- Tyankova, N., N. Zagorska** and **D. Dimitrov** (2004): Study of drought response in wheat cultivars, stabilized wheat-wheatgrass lines and intergeneric wheat cultivated *in vitro*. *Cereal Res. Commun.* **32** (1): 99-105.
- Zamani, I., E. Gouli-Vavdinoudi, G. Kovács, I. Xynias, D. Roupakias** and **B. Barnabás** (2003): Effect of parental genotypes and colchicine treatment on the androgenic response of wheat F₁ hybrids. *Plant Breed.* **122** (4): 314-317.
- Zhuang, J.J.** and **X. Jia** (1980): Studies on the differentiation of pollen calli of wheat. *Ann. Rep. Inst. Genet. Acad. Sin., Beijing*, pp. 70-71.

Priljeno: 10.09.2007.

Odobreno: 30.11.2007.

Genetic Properties of Wheat Androgenesis

- Original scientific paper -

Branka LJEVNAIĆ¹, Ankica KONDIĆ-ŠPIKA², Borislav KOBILJSKI² and
Nikola HRISTOV²

¹Faculty of Agriculture, University of Novi Sad, Novi Sad

²Institute of Field and Vegetable Crops, Department of Small Grains,
Novi Sad

Summary

Genetic aspects of androgenic responses of wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes were studied. Anthers were isolated from 20 F₁ wheat hybrids and their 24 parental genotypes. The number of responding anthers, regeneration ability and proportion of green to albino regenerants were recorded.

Significant differences were found among genotypes with respect to studied properties. Average values for all properties were significantly higher in the F₁ hybrids than in the parents except for regeneration ability. Dominant and heterosis genetic effects were detected for all properties.

On average for all genotypes, 4.7% of the anthers were responsive. Of the genotypes studied, 34.1% had a sufficient number of responding anthers ($\geq 5\%$) for the successful application in breeding programmes. Although regeneration ability was relatively low (2.3%), 37.4% green plants were obtained. It was observed that about 70% of the genotypes produced two or more green plants per 100 anthers, which can be considered a sufficient number for the use in breeding.

Received: 10/09/2007

Accepted: 30/11/2007

Adresa autora:

Branka LJEVNAIĆ

Poljoprivredni fakultet (predmet Botanika)

Trg Dositeja Obradovića 8

21 000 Novi Sad

Srbija

E-mail: brankaljevnaic@yahoo.com