



Dlaczego warto stosować indukowaną mutagenезę w hodowli chryzantem?

Natalia Miler

Pracownia Biotechnologii, Katedra Roślin Ozdobnych i Warzywnych,
Akademia Techniczno-Rolnicza, Bydgoszcz

Why is mutation breeding still attractive for breeding of chrysanthemum?

Summary

Many cultivars of chrysanthemum as well as other ornamental crops on Polish market are of foreign origin. Such situation is not to the advantage of Polish producers because of high royalties. There is a necessity of providing new Polish cultivars of ornamental crops, including chrysanthemum. Traditional breeding methods such as cross-breeding are not expensive but take much time and cannot be always applied for ornamental crops, which are usually heterozygous, poliploids and are vegetatively propagated. On the other hand, there are modern techniques including genetic transformation, but they are often out of reach for Polish breeders due to very high costs. Mutation breeding is a relatively inexpensive and easy method of obtaining new cultivars. Twelve new cultivars of chrysanthemums have been obtained as a result of mutation breeding research, carried out in the Department of Ornamental Crops and Vegetables at University of Technology and Agriculture in Bydgoszcz. Induced mutations most often led to altered inflorescence colour and shape, growth habit and other traits. Both induced mutations and regeneration *in vitro* using adventitious buds technique appear to be useful tools in breeding of chrysanthemum.

Adres do korespondencji

Natalia Miler,
Pracownia Biotechnologii,
Katedra Roślin Ozdobnych
i Warzywnych,
Akademia
Techniczno-Rolnicza,
ul. Bernardyńska 6,
85-029 Bydgoszcz.

Key words:

mutation breeding, induced mutations, chrysanthemum, tissue culture, adventitious buds technique.

1. Wprowadzenie

Polski rynek roślin ozdobnych jest wypełniony odmianami obcego pochodzenia, które są rozmnażane i sprzedawane w kraju, a należności z tytułu praw autorskich są odprowadzane

za granicę. W innych państwach hodowla roślin jest dotowana z budżetu narodowego. Natomiast w Polsce sytuacja jest mniej korzystna i stąd niewielka liczba sprzedawanych odmian rodzimego pochodzenia [1]. Tradycyjne metody hodowli są stosunkowo tanie i proste, ale niestety długotrwałe i nie zawsze mogą być zastosowane w stosunku do odmian rozmnażanych wegetatywnie. Główną przeszkodą w powszechnym stosowaniu transformacji genetycznej w hodowli są wysokie koszty i brak uniwersalnych metod. Słuszne jest, jak się wydaje, by wzorem krajów Europy Zachodniej zacząć praktycznie wykorzystywać hodowlę mutacyjną w celu pozyskiwania nowych odmian roślin ozdobnych [2].

Jerzy podaje [3], że odmiany 'Władysław' i 'Helena', uzyskane w Akademii Rolniczej w Poznaniu na drodze spontanicznej mutagenезy, są pierwszymi polskimi chryzantemami. Do końca roku 2000 zarejestrowano w Polsce 12 odmian chryzantem uzyskanych na drodze indukowanej mutagenезy. Wszystkie te odmiany powstały w rezultacie badań przeprowadzonych w Katedrze Roślin Ozdobnych i Warzywnych Akademii Techniczno-Rolniczej w Bydgoszczy. Od początku 2001 r. w Polsce przestał obowiązywać Rejestr Odmian dla roślin ozdobnych, stąd brak aktualnych danych na temat udziału na polskim rynku odmian pochodzących z hodowli mutacyjnej. Szacuje się, że około połowa odmian zagranicznych sprzedawanych obecnie w Polsce powstała na drodze indukowanej mutagenезy. Zgodnie z danymi zebranymi przez Schum [2] do roku 2000 zarejestrowano na świecie 236 odmian chryzantem uzyskanych w wyniku działania czynnika mutagennego.

Hodowla mutacyjna polega na indukowaniu, w materiale genetycznym roślin mutacji, które są trwałymi zmianami podlegającymi dziedziczeniu. Spontaniczne mutacje występujące naturalnie u roślin, prowadzą do powstania tak zwanych sportów, z których wywodzi się wiele odmian roślin ozdobnych. Zwielokrotnienie frekwencji pojawiania się mutantów, a w związku z tym również nowych odmian, można uzyskać dzięki poddaniu materiału roślinnego działaniu mutagenu, czyli czynnika o charakterze chemicznym lub fizycznym, powodującego zmiany w informacji genetycznej [4]. Bardziej skuteczne i łatwiejsze w użyciu są fizyczne czynniki mutagenne, przede wszystkim promieniowanie jonizujące gamma oraz X.

Pewne cechy roślin ozdobnych sprawiają, że zastosowanie technik hodowli mutacyjnej w obrębie tej grupy, do której należą również chryzantemy, są w pełni, jak się wydaje, uzasadnione. Odmiany chryzantem uprawiane w Europie są najczęściej heksaploidami o podstawowej liczbie chromosomów wynoszącej 9. Chromosomy są zebrane w dwóch zespołach: podwójnym, złożonym z 18 chromosomów i poczwórnym, zawierającym 36 chromosomów, dziedziczenie cech przebiega zaś według schematu obserwowanego u form teraploidalnych [5]. Zdaniem Schum [2] wysoki poziom ploidalności, a także wysoki stopień heterozygotyczności utrudnia zastosowanie metod hodowli tradycyjnej opierającej się na krzyżowaniu i selekcji. Komplikuje także wykorzystanie technik transformacji genetycznej. Heterozygotyczność sprzyja zastosowaniu technik mutacyjnych. Mutacje mają zazwyczaj charakter recesywny, prowadzą zatem najczęściej do zmiany układu alleli Aa na aa, co sprawia, że

mogą ujawnić się już w pierwszym pokoleniu mutantów [4]. Krzyżowanie odmian wysoce heterozygotycznych powoduje rozszczepienie cech u potomstwa, stąd też niezwykle trudno uzyskać zmianę pojedynczej cechy przy zachowaniu nienaruszonej pozostałej części genotypu. Indukowanie mutacji pozwala na zmianę pojedynczych cech u odmian o genotypach ogólnie bardzo dobrych. W wyniku tego powstaje szereg odmian różniących się np. tylko barwą kwiatostanów [2]. Krzyżowanie jako podstawowa metoda hodowli u chryzantem jest trudne i czasochłonne. Z tego powodu rozmnażanie wegetatywne wykorzystuje się z dużym powodzeniem w hodowli tego gatunku. Warto dodać, że w produkcji chryzantemy rozmnaża się wyłącznie wegetatywnie przez sadzonki pędowe pobierane z roślin matecznych.

W obrębie omawianego gatunku znajduje się olbrzymia pula różnorodnych cech (alleli), co sprawia, że do tej pory uzyskano liczne odmiany chryzantem, bardzo nieraz różniące się od siebie pod względem cech morfologicznych [3]. Zmiany mutacyjne w materiale genetycznym nigdy nie wykraczają poza zbiór cech dostępnych w ramach danego gatunku. Zbiór ten jest u chryzantem tak duży, że zapewne nigdy nie zostaną wyczerpane możliwe kombinacje cech przy powstawaniu nowych odmian. Dla odbiorców roślin ozdobnych najważniejszym kryterium wyboru są cechy decydujące o ich wartości dekoracyjnej. Wspomniane cechy najłatwiej jest też zmieniać na drodze indukowanej mutagenezy, gdyż łatwo je zaobserwować wśród wariantów – roślin uzyskanych w pierwszym wegetatywnym pokoleniu mutacyjnym (vM_1), co ułatwia selekcję mutantów. Warto też wspomnieć, że o sukcesie hodowcy roślin ozdobnych w dużej mierze decyduje czas potrzebny na uzyskanie nowej odmiany, gdyż rynek roślin ozdobnych rządzi się prawami mody, a gusta konsumentów bardzo szybko się zmieniają. Odbiorcy pragną nowych odmian o niskich cenach. Zastosowanie hodowli mutacyjnej zdaniem Schum [2] spełnia te wymagania.

Celem tej pracy jest ukazanie na podstawie doświadczeń prowadzonych w latach 1979-1997 w Katedrze Roślin Ozdobnych i Warzywnych w Bydgoszczy możliwości płynących z wykorzystania technik indukowanej mutagenezy w hodowli chryzantem.

2. Przykłady praktycznego wykorzystania technik mutacyjnych

Pierwszym sukcesem hodowlanym w Katedrze było zarejestrowanie trzech oryginalnych odmian chryzantemy wielkokwiatowej (*Chrysanthemum x grandiflorum* (Ramat.) Kitamura) – mutantów: 'Promyk', 'Paloma', 'Poranek', uzyskanych w 1979 r. [6]. Dojrzałe liście odmiany 'Bravo', pobrane z roślin kwitnących, poddano działaniu promieniowania X w dawce 15 Gy przez 16 min (moc dawki pochłoniętej: $0,93 \text{ Gy} \cdot \text{min}^{-1}$). Liście ułożono tak, aby pole napromienienia objęło przede wszystkim ogonki liściowe, które są miejscem tworzenia się pędów przybyszowych na tego typu sadzonkach. Następnie liście napromienione i nie napromienione ukorzeniono w szklarni. Na otrzymanych w ten sposób sadzonkach liściowych, pędy przy-

byszowe zaczęły pojawiać się po 3 miesiącach. Już na etapie ukorzenia obumarło 55 i 43% liści odpowiednio napromienionych i nie napromienionych. Na jednej sadzonce tworzyło się średnio 5 pędów przybyszowych. 5-6-centymetrowe pędy ścinano i ukorzeniano. Sadzonki na miejscu stałym doprowadzono do kwitnienia i obserwowano zmiany w fenotypie roślin uzyskanych z liści napromienionych w porównaniu z roślinami kontrolnymi. 11,3% roślin różniło się od kontrolnych, zmiany dotyczyły w większości barwy kwiatostanu (8%) oraz jego kształtu (3,3%). Barwa fioletowa, właściwa dla odmiany 'Bravo', została zmieniona na fiołkową, różową, brązową i czerwoną. Z pełnego, półkulistego, typowego kwiatostanu odmiany wyjściowej otrzymano kwiatostany: pojedynczy, pełny półkulisty, pomponowaty, piwoniowaty oraz rurkowaty. Uzyskane rośliny miały kwiatostany jednolicie wybarwione, nie były chimerami meryklinalnymi ani sektorialnymi, co dowodziło słuszności teorii o jednokomórkowej genezie pędów przybyszowych [7]. Rozmnażanie chryzantem za pomocą sadzonek liściowych nie jest w ogrodnictwie powszechną praktyką ze względu na niską efektywność. Wykorzystanie regeneracji pędów przybyszowych w hodowli mutacyjnej jest jednak uzasadnione, ze względu na uzyskanie homohistontowych form już w pierwszym pokoleniu mutantów, co znacznie skraca czas procesu hodowlanego.

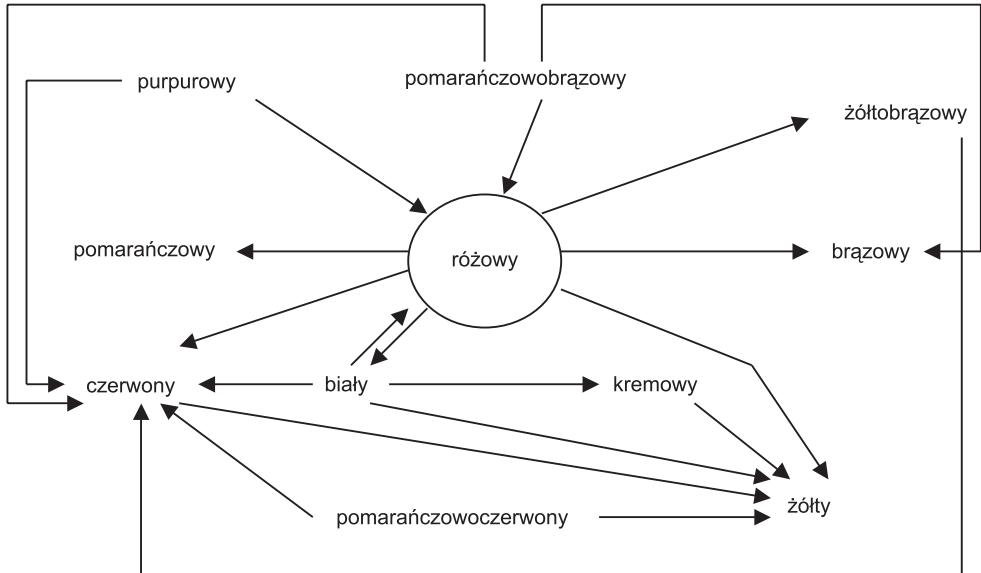
Zwiększenie liczby zregenerowanych mutantów stało się możliwe dzięki zastosowaniu w badaniach technik *in vitro*. Doświadczenie przeprowadzone przez Jerzego i in. w 1991 r. [8] miało na celu indukcję mutacji u odmiany 'Richmond' (kwiatostany fioletoworóżowe, średniej wielkości). Napromienieniu poddano liście *ex vitro*. Użyto dwóch rodzajów promieniowania: X oraz gamma. Napromienianie eksplantatów odbyło się z zastosowaniem aparatów terapeutycznych THX-250 Medicor (promieniowanie X) oraz Theratron 780 (promieniowanie gamma, emitowane przez radioizotop Co^{60}). Zastosowano dawkę promieniowania w wysokości 15 Gy (moc dawki pochłoniętej dla promieniowania X: $0,92 \text{ Gy} \cdot \text{min}^{-1}$, dla promieniowania gamma: $1,92 \text{ Gy} \cdot \text{min}^{-1}$). Napromienione eksplantaty liściowe umieszczano na pożywce MS [9] z dodatkiem $0,6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ BAP oraz $2,0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IAA. Po upływie 6 tygodni zregenerowane pędy przybyszowe przenoszono na pożywkę ukorzeniającą zawierającą NAA w stężeniu $0,02 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. W warunkach *in vivo* doprowadzono do kwitnienia 1600 roślin powstałych z pędów przybyszowych na liściach poddanych działaniu promieniowania X oraz 680 roślin uzyskanych po działaniu promieniowania gamma. W obu grupach zaobserwowano po 4% roślin o fenotypach zmienionych w stosunku do odmiany wyjściowej. Liczba różnych nowych fenotypów powstałych jako skutek działania promieniowania X oraz gamma wynosiła odpowiednio 15 i 10. W sumie otrzymano 21 barw kwiatostanów zmienionych na całej powierzchni, a zatem nie były to chimery sektorialne ani meryklinalne. Spektrum barw przebiegało od białej, przez kremową, cytrynowobiałą, żółtą, różową, fiołkową, fioletowozłotą, buraczkowozłotą, łososiową aż po miodowobrazową. Dwie mutacje barwy występowały w powiązaniu ze zmianą kształtu kwiatostanów, która polegała na zrośnięciu kwiatów jęczyczkowatych w rurki. W czterech przypadkach identyczna barwa kwiatostanu wy-

stępowała jako efekt działania dwóch różnych czynników mutagennych. W trzech badanych wegetatywnych pokoleniach mutantów nie doszło do utraty cech zmienionych w wyniku napromienienia, co oznacza, że zmiany miały trwały charakter. Sześć spośród uzyskanych mutantów przeszło pomyślnie badania dotyczące odrębności, wyrównania oraz trwałości i zostało zarejestrowanych jako odmiany: 'Lady Pink', 'Lady Rosy', 'Lady Bronze', 'Lady Yellow', 'Lady Amber', 'Lady Salmon' – tworząc grupę odmianową Lady. Badania, w których wykorzystano technikę losowo namnożonego polimorficznego DNA (RAPD) potwierdziły występowanie w obrębie grupy Lady zmienności o charakterze genetycznym [10].

Podobną procedurę napromieniania i regeneracji zastosowano wobec wielokwiatowej, fioletoworóżowo kwitnącej odmiany wyjściowej 'Lilac Wonder' [11]. Zakres uzyskanych zmian mutacyjnych był w przypadku tej odmiany znacznie mniejszy. Owocem prac były dwie zarejestrowane odmiany: 'Red Wonder' o czerwonożółtej i 'Bronze Wonder' o brązowożółtej barwie kwiatostanu.

W wyniku zastosowania technik hodowli mutacyjnej można zmieniać pojedyncze cechy chryzantem, co potwierdzono w podanych eksperymentach. W pojedynczym doświadczeniu można z jednej odmiany wyjściowej uzyskać wiele mutantów o różnej wartości zmienionej cechy, oznacza to, że jest możliwe pozyskanie w krótkim czasie wielu nowych odmian należących do jednej grupy. Warunkiem uzyskania szerokiego spektrum zmian barwy jest wybór odpowiedniego genotypu wyjściowego poddanego napromienieniu. Największą frekwencję mutacji otrzymuje się po zadziałaniu czynnikiem mutagennym na różowo kwitnące odmiany chryzantem, co potwierdza doświadczenie z odmianą 'Richmond'. Według Schum [2] żółto kwitnące odmiany chryzantem są najmniej efektywnymi genotypami wyjściowymi do indukowanej mutagenyzy. Tezę tę potwierdzono w doświadczeniu, w którym odmianą wyjściową dla indukowanej mutagenyzy była żółto kwitnąca 'Mrs. R.C. Pulling'. Odmiana ta okazała się bardzo stabilna, nie uzyskano zmiany żadnej z cech, pomimo wielokrotnego powtarzania doświadczenia (Jerzy i Zalewska, dane nie publikowane). Żółta barwa kwiatostanów jest uwarunkowana obecnością barwników: flawonów i flawonoli oraz karotenoidów. Teoretycznie, na skutek zablokowania syntezy wspomnianych barwników w wyniku indukowanej mutagenyzy, możliwe byłoby uzyskanie chryzantemy biało kwitnącej. W praktyce jednak okazuje się, że odmiany żółto kwitnące są najmniej podatne na mutacyjną zmianę barwy kwiatostanu. Zależność między barwą kwiatostanu a skłonnością do jej zmiany za pośrednictwem indukowanej mutagenyzy według Schum i Preil (1998, [cyt. 2]) przedstawiono na rysunku.

Celem kolejnych doświadczeń przeprowadzonych przez Zalewską i Jerzego [12] było zbadanie wpływu rodzaju promieniowania jonizującego (X lub gamma) oraz jego dawki (5-25 Gy) na liczbę uzyskanych mutantów oraz regenerację techniką pędów przybyszowych *in vitro* i *in vivo*. Odmianą wyjściową była silnie rosnąca, gałązkowa odmiana 'Red Nero' o ciemnoczerwonych, półpełnych kwiatostanach. Procedura napromieniania oraz regeneracji *in vitro* przebiegała tak samo, jak w do-



Rys. Główne kierunki zmian barwy kwiatostanów wywołane przez mutacje u chryzantemy wielkokwiatowej według Schum i Preil [cyt. 2].

świadczeniu z odmianą wyjściową 'Richmond', do napromieniania użyto takiej samej aparatury, dawki promieniowania X oraz gamma wynosiły 5, 10, 20 i 25 Gy (moc dawki pochłoniętej dla promieniowania X oraz gamma odpowiednio: $0,92 \text{ Gy} \cdot \text{min}^{-1}$ i $1,92 \text{ Gy} \cdot \text{min}^{-1}$). Napromienianiu poddano eksplantaty liściowe *ex vitro* oraz liście *ex vivo*. Pierwsze pędy przybyszowe na sadzonkach liściowych *in vivo* pojawiły się po 3 miesiącach, natomiast pędy przybyszowe *in vitro* już po 6 tygodniach od napromieniania były przenoszone na pożywkę ukorzeniającą i po następnych 3 tygodniach aklimatyzowane w szklarni. Wszystkie rośliny uzyskane z pędów przybyszowych doprowadzono do kwitnienia.

W doświadczeniu uzyskano łącznie 16 różnych fenotypów u roślin, powtarzających zmienione cechy w kolejnych trzech pokoleniach wegetatywnych. Wyjściowa barwa kwiatostanu została zmieniona na jasnoczerwoną, pomarańczowoczerwoną, żółtopomarańczową, pomarańczową, żółtą, jasnożółtą, purpurową, malinową i wiśniową. W warunkach *in vivo* uzyskano mniejsze spektrum zmian barwy niż w warunkach *in vitro*. Szerszy zakres zmian obserwowano u mutantów uzyskanych w wyniku działania promieniowania gamma niż promieniowania X. Oprócz otrzymania w wyniku mutagenезy nowych barw kwiatostanu, zmienione zostały także inne cechy morfologiczne odmiany wyjściowej, takie jak kształt i wielkość kwiatostanu, liczba kwiatów języczkowatych, liczba kwiatostanów na pędzie, kształt i wielkość liści, pokrój i wielkość roślin. Mutacje, których efektem było znaczne ograniczenie wzrostu roślin ujawniły się u roślin zregenerowanych *in vivo*, po zastosowaniu najwyższej

dawki promieniowania X (25 Gy). Wykazano, że wyższą zdolnością do regeneracji cechują się liście *in vitro*, a najbardziej odpowiednią dla celów hodowlanych dawką promieniowania jonizującego jest 10-20 Gy. Efektem tego doświadczenia było uzyskanie niskiej, przydatnej do uprawy doniczkowej, odmiany 'Mini Nero'. Cecha siły wzrostu jest zazwyczaj determinowana przez geny kumulatywne. Preil i in. (2000, [cyt. 2]) uznali, że u charakteryzującej się dużą siłą wzrostu tetraploidalnej rośliny *Tibouchina urvilleana* istnieją w genomie cztery allele dominujące kodujące cechę wysokości rośliny, a w pożądanym genotypie karłowym żaden z alleli w danym locus nie powinien być dominujący. Zastosowano w tym przypadku strategię dawek podzielonych (45 Gy na trzy dawki po 15 Gy – co cztery godziny) oraz napromieniania powtarzanego (taki sam schemat dawkowania promieniowania u kolejnych pokoleń wegetatywnych). W kolejnym napromienianym pokoleniu wegetatywnym obserwowano wzrost liczby karłowatych mutantów. Technika napromieniania zastosowana przez Zalewską i Jerzego u odmiany 'Red Nero', czyli pojedyncze potraktowanie materiału roślinnego promieniowaniem gamma w dawce 25 Gy, okazała się skuteczna i doprowadziła do uzyskania w pierwszym pokoleniu mutantu o znacznie ograniczonym wzroście, pomimo teoretycznie większych przeszkód, gdyż chryzantema jest heksaploidem.

3. Wykorzystanie techniki pędów przybyszowych do regeneracji mutantów

Uzyskanie mutantów o jednolicie zmienionej barwie w wyniku napromienienia eksplantatów liściowych badanych odmian świadczy o tym, że metoda pędów przybyszowych w powiązaniu z techniką *in vitro* pozwala na uniknięcie tworzenia się niepożądanych w hodowli chimer sektorialnych i meryklinalnych. Jerzy [13] podaje, że eksplantatami przydatnymi w regeneracji techniką pędów przybyszowych u chryzantemy mogą być eksplantaty pierwotne *ex vivo*, np. fragmenty szypuł kwiatostanowych i międzywęźli, drobne liście, kwiaty jęczyczkowate i rurkowate, epiderma kwiatów, oraz eksplantaty wtórne *ex vitro*, np. fragmenty korzeni przybyszowych, liście, kalus, zawiesina komórek, protoplasty. Jeżeli napromienieniu poddaje się eksplantaty zawierające merystemy, wówczas z pojedynczej, zmutowanej komórki, o ile nie zostanie ona wyeliminowana na drodze selekcji wewnątrzsomatycznej, tworzy się zmutowany sektor tkanki o większym lub mniejszym zasięgu. Wówczas konieczne jest namnażanie chimery przez pędy boczne, co po kilku cyklach namnożeń może prowadzić do stabilizacji jednolitego mutantu lub chimery peryklinalnej ze zmutowaną jedną warstwą histogenową. Taka procedura wydłuża czas hodowli, stąd też wzrost zainteresowania hodowców techniką pędów przybyszowych, tworzących się na organach roślinnych pierwotnie nie zawierających merystemów [3]. Zgodnie z matematycznym stochastycznym modelem opracowanym przez Broertjesa i Keena [7], w zapoczątkowaniu merystemu przybyszowego bierze udział tylko

jedna komórka, co wyjaśniałoby powstawanie niemal wyłącznie homohistontowych form w wyniku napromienienia tkanki nie zawierającej merystemu. Według Broertjesa i in. [14] u chryzantem merystemy przybyszowe mają swój początek w epidermie, czego nie potwierdzają przeprowadzone przez Zalewską [15] obserwacje anatomiczne centrów merystematycznych tworzących się w tkankach głębiej położonych, subepidermalnych na eksplantatach liściowych *in vitro* u odmiany 'Red Nero'.

Rozmnażanie mutantu odmiany 'Red Wonder' techniką pędów przybyszowych *in vitro* doprowadziło do uzyskania dwóch różnych fenotypów u zregenerowanych pędów: charakterystycznych dla mutantu i charakterystycznych dla odmiany wyjściowej [16]. Na tej podstawie można stwierdzić, że badana odmiana miała zmienioną tylko zewnętrzną warstwę histogenową L I, która decyduje o widocznej barwie kwiatostanu, natomiast warstwy wewnętrzne L II i L III pozostały niezmienione, ich genotyp jest taki sam jak u odmiany wyjściowej. Uzyskane mutanty mogą być chimerami peryklinalnymi, które nie sposób odróżnić wizualnie od jednolitych form homohistontowych. Wyniki te mogą świadczyć o tym, że w tworzeniu pędów przybyszowych może uczestniczyć więcej niż jedna komórka. Fakt, że mutanty mogą okazać się chimerami peryklinalnymi, nie dyskwalifikuje ich jako dobrych odmian. Producenci rozmnażają chryzantemy wegetatywnie z udziałem tkanek zawierających merystemy, co gwarantuje powtarzanie układu warstw histogenowych, a zatem i powtarzalność fenotypu. Technika pędów przybyszowych, przy której ujawnia się zmienność tego rodzaju, jest stosowana jedynie w celach hodowlanych. Istnieją przypuszczenia, że mutant będący chimerą peryklinalną może być bardziej wartościowy niż mutant homohistontowy, gdyż zmutowana warstwa epidermy, której genotyp decyduje o barwie kwiatostanu, może zawierać także inne mutacje niekorzystne dla fizjologii rośliny, co mogłoby osłabić jej żywotność, gdyby była jednolitym mutantem [17].

Zastosowanie techniki indukowanej mutagenезy w połączeniu z regeneracją metodą pędów przybyszowych *in vitro* jest szczególnie korzystnym rozwiązaniem w hodowli chryzantem, tym bardziej, że nie wszystkie odmiany w warunkach *in vivo* mają zdolność do tworzenia pędów przybyszowych [18]. Wykazano, że promieniowanie jonizujące obniża zdolności regeneracyjne eksplantatów [20]. Chryzantemy wykazują duże międzyodmianowe różnice w zdolności do regeneracji techniką pędów przybyszowych *in vitro*, dlatego przed rozpoczęciem działania czynnikiem mutagennym należy przeprowadzić wstępne badania mające na celu dobór odpowiedniej pożywki regeneracyjnej [19,20].

4. Ograniczenia zastosowania technik mutacyjnych w hodowli chryzantem

Techniką mutacyjną nie można uzyskać u rośliny zmian, które wykraczałyby poza pulę cech dostępnych w ramach danego gatunku, stąd niemożliwe jest na przykład powstanie odmian chryzantem o niebieskich kwiatostanach. Bariera ta może być przekroczona, jeśli się wykorzysta transformację genetyczną pozwalającą

na wprowadzenie teoretycznie dowolnego genu do genomu. W ten sposób uzyskano zarejestrowane w Europie transgeniczne odmiany goździka o niebieskich kwiatach i o przedłużonej trwałości po ścięciu. Jednakże, wydaje się, że upłynie jeszcze jakiś czas zanim techniki molekularne będą wykorzystywane w hodowli roślin ozdobnych powszechnie i rutynowo [2]. Wynika to z faktu, że procedury transformacji są bardzo skomplikowane i kosztowne, wymagają specjalistycznej aparatury i wysoko wykwalifikowanego personelu. Poza tym społeczna akceptacja dla organizmów genetycznie zmodyfikowanych jest w Europie niska, co mogłoby wpłynąć na odbiór odmian, choć w przypadku specyficznego charakteru użytkowego roślin ozdobnych powinno to mieć mniejsze znaczenie. Prawdopodobnie wraz z uproszczeniem procedur transformacji, rola tej metody hodowlanej będzie coraz większa i stanie się ona bardziej popularna także wśród hodowców roślin ozdobnych. Obecnie jednak wymienione utrudnienia związane z transformacją genetyczną sprawiają, że łatwiejsze jest wykorzystanie technik indukowanej mutagenyzy w celu uzyskania w krótkim czasie wielu nowych odmian chryzantem.

Inną przeszkodą w zastosowaniu technik mutacyjnych są wysokie, nieraz przewyższające możliwości prywatnego hodowcy, koszty napromienienia materiału roślinnego, a zwłaszcza użycie najbardziej wydajnych promieni gamma. Alternatywą może być użycie w celach hodowlanych promieniowania X, a także jeszcze tańszego, choć niewątpliwie mniej „wydajnego”, pola elektromagnetycznego [21]. W Niemczech problem ten jest rozwiązany przez współpracę szkół wyższych z prywatnymi firmami hodowlanymi. Odpowiednie jednostki uczelni przeprowadzają napromienianie materiału roślinnego na zlecenie komercyjnego hodowcy, u którego przebiega regeneracja i selekcja mutantów [2].

5. Podsumowanie

Rozważania te prowadzą do wniosku, że mutagenyza indukowana *in vitro* może być metodą hodowlaną wciąż atrakcyjną dla producentów chryzantem i innych roślin ozdobnych. Jej stosowanie prowadzi do uzyskania w krótkim czasie wielu nowych odmian o wyjątkowych fenotypach, dających często nowe grupy odmianowe. Polscy hodowcy, wykorzystując techniki mutacyjne, mogliby uzyskać i wprowadzić na rynek polskie odmiany chryzantem, co byłoby bardzo korzystne z gospodarczego punktu widzenia.

Literatura

1. Mynett K., Orlikowska T., (1997), I Konferencja Krajowa „Hodowla roślin”, Poznań.
2. Schum A., (2003), *Acta Hort.*, 612, 47-53.
3. Jerzy M., (2000), *Chryzantemy*, PWRiL, Warszawa
4. Broertjes C., van Harten A. M., (1988), *Developments in crop science 12*, Elsevier.

5. Jordan Ch., Reimann-Philipp R., (1979), *Gartenerborse und Gartenwelt*, 26, 612.
6. Stepczyńska K., Jerzy M., Widacka M., (1980), *Pr. Inst. Sad. i Kwiac.*, Ser. B, 5, 17-29.
7. Broertjes C., Keen A., (1979), *Euphytica*, 29, 73-87.
8. Jerzy M., Zalewska M., Piszczek P., (1991), *Hod. Rośl. i Nas.*, 3, 24-29.
9. Murashige T., Skoog F., (1962), *Physiol. Plant.*, 15, 473-497.
10. Lema-Rumińska J., Zalewska M., Sadoch Z., (2004), *Plant Breeding*, 123, 290-293.
11. Jerzy M., Zalewska M., (1996), *Mutation Breeding Newsletter*, 42, 19.
12. Zalewska M., Jerzy M., (1997), *Acta Hortic.*, 447, 615-618.
13. Jerzy M., (1997), *Hod. Rośl. i Nas.*, 2, 27-32.
14. Broertjes C., Roest S., Bokelmann G. S., (1976), *Euphytica*, 25, 11-19.
15. Zalewska M., (2001), *Acta Hortic.*, 560, 225-227.
16. Jerzy M., Zalewska M., (1997), *Acta Hortic.*, 447, 611-614.
17. Broertjes C., Koene P., van Harten J. W. H., (1980), *Euphytica*, 29, 525-530.
18. Zalewska M., (1985), *Symposium „Rozmnażanie zlocieni”*, Poznań.
19. Rademaker W., de Jong J., (1990), *Proceedings of Eucarpia Symposium*, Wageningen.
20. Zalewska M., Lema-Rumińska J., (2004), *Biotechnologia*, 2, 86-92.
21. Widacka M., Jerzy M., (1981), *Acta Hortic.*, 125, 87-91.