



## Charakterystyka zmienności somaklonalnej u żyta ozimego (*Secale cereale* L.)

Monika Rakoczy-Trojanowska

Katedra Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Warszawa

### Characteristics of somaclonal variation in rye (*Secale cereale* L.)

#### Summary

As it was shown in numerous works concerning various plant species tissue culture derived plants may serve as potential variability resources for breeding. This subject was also investigated in rye. However, the number of publications is relatively low. A somaclonal variation in rye was investigated on different levels as molecular one, cytological or morphological. Based on these searches, several general conclusions can be drawn: (1) the frequency of somaclonal changes in rye is high, which can be connected with the presence of genome region, especially susceptible for tissue culture conditions, (2) the range and spectrum of somaclonal changes depend on donor plant genotype, (3) the majority of somaclonal changes has an negative character, e.g. reduction of plant viability, fertility or yield quality influence negatively plant quality, (4) some somaclonal changes can be useful for rye breeding.

#### Key words:

rye, *Secale cereale*, somaclonal variation, *in vitro* culture, regeneration, somaclonal line, breeding.

#### Adres do korespondencji

Monika  
Rakoczy-Trojanowska,  
Katedra Genetyki, Hodowli  
i Biotechnologii Roślin,  
Szkoła Główna  
Gospodarstwa Wiejskiego,  
ul. Nowoursynowska 166,  
02-787 Warszawa;  
e-mail:  
Rakoczy@alpha.SGGW.waw.pl

### 1. Wstęp

Zespół warunków oddziałujących na proces regeneracji roślin w kulturze *in vitro* może powodować powstawanie stabilnych zmian w materiale genetycznym; zmienność uzyskana w ten sposób nosi nazwę zmienności somaklonalnej (1). W ciągu ostatnich dwudziestu lat nie tylko wykazano, że zmienność so-

maklonalna może być przydatną metodą poprawy cech użytkowych roślin, ale także zarejestrowano ponad dwadzieścia nowych odmian pochodzących z materiałów otrzymanych w kulturze *in vitro* (2-4). Badania nad zmiennością somaklonalną przyczyniły się ponadto do lepszego poznania różnych aspektów morfogenezy *in vitro*.

Żyto należy do ważnych roślin zbożowych w wielu krajach, szczególnie Europy Środkowej i Wschodniej; w Polsce zajmuje ponad 25% powierzchni uprawy wszystkich zbóż. Jest zbożem szczególnie przydatnym na kwaśnych i lekkich glebach, które w naszym kraju stanowią 50-60% powierzchni uprawnej (5). Pod względem wielu cech, w tym wartości wypiekowej, żyto ustępuje miejsca pszenicy i pszenżytu, jednak wartość odżywcza i walory pieczywa żytniego wzbudzają ostatnio rosnące zainteresowanie hodowców (6). Wzbogaceniem źródeł zmienności dla hodowli mogłyby być materiały otrzymane za pomocą metod biotechnologicznych, np. nowe formy powstałe w wyniku regeneracji w kulturze *in vitro*. W przypadku żyta, gatunku wybitnie obcopolnego, o wysokim stopniu heterozygotyczności, interpretację pochodzenia zmienności wśród potomstw zregenerowanych roślin może utrudniać jego naturalna zmienność. Jednak w większości cytowanych prac materiały wyjściowe do kultury *in vitro* zostały otrzymane w procesie długotrwałego chowu wsobnego.

## 2. Zmienność somaklonalna różnych grup cech

Prace dotyczące zmienności somaklonalnej u żyta są nieliczne w porównaniu z opracowaniami u innych gatunków roślin zbożowych. Można je podzielić na cztery grupy tematyczne: dotyczące zmienności cech molekularnych, biochemicznych, cytologicznych i morfologicznych (w tym cech plonotwórczych). Przyjęty podział ma charakter formalny i został zastosowany w celu lepszego uporządkowania wiedzy na temat zmienności somaklonalnej u żyta.

### 2.1. Zmienność somaklonalna na poziomie molekularnym

Dane literaturowe na temat zmian molekularnych powstałych w trakcie kultury *in vitro* u żyta są wyjątkowo skromne. Wyniki badań nad zmiennością somaklonalną na poziomie DNA opublikowano dotychczas tylko w trzech pracach, w tym w dwóch przypadkach są to doniesienia konferencyjne (7-9) oraz w rozprawie habilitacyjnej autorki (10). Zespół badaczy hiszpańskich pod kierunkiem A. Vazquez (8), stosując technikę PCR, stwierdził u większości roślin pokolenia  $R_0$ , zregenerowanych z niedojrzałych zarodków i niedojrzałych kwiatostanów dwóch odmian żyta, pojawienie się nowych lub nieobecność prążków RAPD charakterystycznych dla kontroli. Nowe układy prążków, które wystąpiły u większej liczby niezależnych regenerantów (pochodzących z różnych zarodków lub kwiatostanów pobranych z różnych roślin), sklonowano i zsekwencjonowano, a następnie użyto jako sondy w analizie *Southern*



*blotting* roślin kontrolnych. W analizie tej wykazano, że wiele z tych sekwencji było charakterystycznych tylko dla roślin zregenerowanych w kulturze *in vitro*. Posługując się techniką RT-PCR autorzy znaleźli fragment 280 bp RNA, który miał sekwencję charakterystyczną dla fragmentu odwrotnej transkryptazy retrotranspozonu *Ty 1* oraz pięć innych podobnych sekwencji. Autorzy sądzą, że insercja tych retrotranspozonów w różnych miejscach genomu mogła powodować powstawanie mutacji, segregujących w następnych pokoleniach w sposób mendelowski. Uaktywnienie retrotranspozonów podczas kultury *in vitro* uważane jest za jedną z głównych przyczyn zmienności somaklonalnej.

Analizę polimorfizmu RAPD zastosowano także w celu oszacowania zmienności somaklonalnej u żyta ozimego w Katedrze Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin (KGHiBR) SGGW (10). Badano 476 roślin pokolenia  $R_1$  pochodzących z wysoko-wsobnej (stopień wsobności – S22) linii L318 wyhodowanej w KGHiBR. We wcześniejszych badaniach – z użyciem ponad 200 starterów – wykazano brak polimorfizmu RAPD u tej linii. W przypadku kilku starterów wykryto w populacji somaklonów nowy, w stosunku do kontroli, układ prążków, a udział roślin charakteryzujących się jedną z opisanych zmian był wysoki i wyniósł powyżej 8%. Zaobserwowano trzy kategorie zmian: obecność dodatkowych prążków, nie występujących u linii L318, będących najprawdopodobniej wynikiem mutacji dominujących, brak prążków typowych dla kontroli, związanych z mutacjami recesywnymi, oraz jednocześnie brak pewnych produktów amplifikacji i pojawienie się innych, specyficznych. Najczęstszym był pierwszy typ zmian. Jednak udział roślin tak zmienionych był znacznie niższy od oczekiwanego – w segregującym pokoleniu  $R_1$  powinno być około 25% homozygot recesywnych oraz 75% homozygot dominujących i heterozygot (stosując technikę RAPD nie można odróżnić homozygot dominujących od heterozygot, o ile nie dysponuje się aparaturą do PCR najnowszej generacji pozwalającą na ilościową analizę produktów amplifikacji). Różnice te można tłumaczyć albo chimeralnością roślin  $R_0$  albo rewersją zmian somaklonalnych. Wśród specyficznych produktów amplifikacji, niektóre były obecne u pojedynczych, inne u większej liczby roślin. Pojawienie się takich samych produktów amplifikacji u roślin o niezależnym pochodzeniu – zregenerowanych z różnych zarodków lub kwiatostanów pobranych z różnych roślin, wskazuje na wysoką podatność żyta na warunki kultury *in vitro* (dotyczy to również innych cech, co zostanie omówione w dalszej części). Al-Zahim i in. (11) sugerują, że pojawienie się dodatkowych lub brak prążków o takiej samej mobilności u niezależnych regenerantów może wskazywać na obecność obszaru genomu w wysokim stopniu „wrażliwego” na oddziaływanie kultury *in vitro*.

Wyizolowanie takich prążków, określonych przez Vazquez i in. (8) jako *hypervariable bands*, a następnie ustalenie ich sekwencji mogłoby dostarczyć więcej danych na temat natury zmienności somaklonalnej.



## 2.2. Zmienność cech biochemicznych

Niewiele również wiadomo na temat zmienności somaklonalnej cech biochemicznych u żyta. Wyniki badań przedstawiono dotychczas tylko w dwóch publikacjach. W pierwszej, która jednocześnie po raz pierwszy traktowała o zmienności somaklonalnej u tego gatunku (12), badano jakość ziarna w liniach dihaploidalnych uzyskanych z mieszańców między żytem uprawnym a dzikim gatunkiem *Secale vavilovii*. Stosując selekcję pojedynczych ziaren uzyskano materiały o znacznie obniżonej zawartości alkilorezorcynolu i jednocześnie samopłodne.

Przedmiotem drugiej pracy był polimorfizm czterech typów sekalin: HMW (high molecular weight), dwóch klas  $\gamma$ -sekalin – o masie 40 kilodaltonów (K) i 75K oraz  $\omega$ -sekalin u roślin zregenerowanych z niedojrzałych zarodków kilku linii wsobnych (13). Tylko w przypadku jednego regeneranta nowy układ prążków  $\gamma$ -sekalin 40K okazał się zmianą dziedziczną.

## 2.3. Zmienność somaklonalna na poziomie cytologicznym

Ten aspekt zmienności somaklonalnej został najdokładniej zanalizowany u roślin pokoleń  $R_0$  i  $R_1$  pochodzących z niedojrzałych zarodków kilku linii różniących się brakiem (-) lub obecnością (++) heterochromatyny w telomerach chromosomów 5R, 6R i 7R (13,14). Zmiany cytologiczne: podwojenie liczby chromosomów, trisomia, translokacje i zaburzona mitozą (duża liczba uniwalentów, triwalentów, multiwalentów, mostki anafazowe) stwierdzono u blisko 16% z ponad 400 regenerantów. Na frekwencję i spektrum zmian wpływał genotyp roślin-dawców. Najwięcej roślin z zaburzeniami cytologicznymi pochodziło z linii 7RS++ i 5R- (odpowiednio 25,5 i 20,3%), a najmniej z linii 6RS++ (4%). Poliploidy znaleziono wśród regenerantów linii 7RL-, 7RS++ i 5R-, a trisomiki pojawiły się tylko wśród roślin zregenerowanych z zarodków linii 7RS++. Część roślin z aberracjami strukturalnymi miała obniżoną płodność. Uzyskane wyniki nie dały jednoznacznej odpowiedzi na pytanie o wpływ obecności lub braku heterochromatyny na częstość i spektrum zmian somaklonalnych u żyta. Nie wykazano także zależności między zdolnością do regeneracji i sposobem regeneracji (embriogeneza somatyczna vs organogeneza) a frekwencją zmian cytologicznych.

Podobne wyniki uzyskano dla roślin zregenerowanych z czterech odmian populacyjnych żyta (15). Zaobserwowano tu następujące zmiany: podwojenie (do  $4n$ ) i redukcję (do  $1n$ ) liczby chromosomów, aneuploidalność i pęknięcia chromosomów. U części roślin stwierdzono mozaikowatość cytologiczną, tzn. obok normalnych komórek z 14 chromosomami występowały komórki haploidalne lub aneuploidalne, przy czym dotyczyło to tylko stożków wzrostu korzeni. Udział roślin z tymi zmianami wyniósł od 11,76 do 43,75% w zależności od genotypu – dawcy. Rośliny zmienione były nieplodne co wynikało z nieprawidłowego przebiegu mejozy, polega-



jącego głównie na powstawaniu uniwalentów i tworzeniu mostków anafazowych. Dziedzicznego charakteru żadnego z zaobserwowanych zaburzeń nie udało się wykazać, ponieważ rośliny zmienione pod względem cytologicznym nie wydały potomstwa. Zmiany stwierdzono również w potomstwach  $R_1$  i  $R_2$  około jednej trzeciej regenerantów normalnych pod względem cytologicznym, a ich częstość i spektrum były podobne jak w pierwszym pokoleniu. Rośliny te musiały nieść mutację genu(ów) kontrolujących zachowanie chromosomów podczas podziałów komórkowych. Jednak obserwowane rozszczepienia fenotypowe nie były zgodne z segregacją mendlowską, a udział form z nieprawidłowościami cytologicznymi niższy od oczekiwanego. Przyczynami odstępstw od mendlowskich stosunków rozszczepień mogły być, wg autorów, transpozycja lub metylacja, jakkolwiek nie przedstawiono żadnego dowodu na taką interpretację wyników.

Pouliomatka i Karp (16) badali wpływ chromosomów B u roślin donorowych. Regeneranty pochodzące z linii charakteryzujących się obecnością chromosomów B porównywano z roślinami zregenerowanymi z roślin linii nie posiadających chromosomów tej klasy. Obie grupy roślin charakteryzowały się większą częstością chiasm niż u roślin kontrolnych, a także zaburzonym przebiegiem mejozy, ale nie różniły się istotnie między sobą. Nie wykazano zatem wpływu chromosomów B na częstość i zakres zmian cytologicznych ani nie potwierdzono ich niestabilności w kulturze *in vitro*.

#### 2.4. Zmienność somaklonalna cech morfologicznych oraz plonotwórczych

Na temat zmienności somaklonalnej tej grupy cech u żyta zgromadzono najwięcej informacji. W kilku pracach opisano zmienność somaklonalną wielu cech ilościowych (głównie plonotwórczych), a także warianty chlorofilowe i o zmienionej morfologii różnych organów. Bebeli i in. (13) badali zmienność cech morfologicznych u roślin  $R_0$  zregenerowanych z niedojrzałych zarodków linii różniących się obecnością lub brakiem heterochromatyny w regionach telomerowych chromosomów 5R, 6R i 7R. Oprócz zmian cytologicznych i biochemicznych, które zostały omówione w poprzedniej części tego rozdziału, autorki stwierdziły obecność roślin zmienionych pod względem: zabarwienia liści (albinotyczne obrzeża), kształtu liści (liście w typie traw – *grass-type*), kształtu kłosa (krótsze, bardziej zbite), kształtu nasion (nienormalnie długie), nalotu woskowego (silniejszy nalot) i terminu kłoszenia (rośliny późniejsze i wcześniejsze od kontrolnych) oraz rośliny nie kłoszące się. Rośliny zmienione stanowiły blisko 10% całej populacji, z czego prawie połowa przypadała na mutanty chlorofilowe. Typ zmian był związany z określonym genotypem roślin-dawców. Największą częstość zmian obserwowano wśród roślin zregenerowanych z zarodków linii 7RL- (brak heterochromatyny w dłuższym ramieniu). Nie można jednak wykluczyć, że niektóre z tych opisanych zmian mogły mieć charakter epigenetyczny, ponieważ dotyczyły one pierwszego pokolenia regenerantów. Przej-



ściowość zmian u roślin pochodzących z kultury *in vitro* jest zjawiskiem powszechnie znanym. Niestety, mimo zapowiedzi, nie ukazało się opracowanie, w którym wykazano by ich dziedziczny charakter. Podobnie Linacero i Vazquez (17) znaleźli wśród regenerantów żyta rośliny albinotycznych lub z sektorami albinotycznymi; stanowiły one od 8,78 do 23,46% w zależności od genotypu dawcy. W wyniku regeneracji z niedojrzałych zarodków odmiany Elbon w ogóle nie otrzymano roślin albinotycznych, a z odmiany Ailes – aż 23,46%. W przypadku roślin albinotycznych, zamierających w szybkim czasie nie można było oczywiście wykazać charakteru zmian. W potomstwie ok. 12% zielonych roślin  $R_0$  wysegregowały rośliny albinotyczne zgodnie z oczekiwanym rozszczepieniem 3:1 roślin zielonych do albinotycznych, a w jednym z potomstw  $R_1$  z odmiany Ailes pojawiły się oprócz chlorotycznych również rośliny jasnozielone, a obie mutacje segregowały niezależnie. Wartości 12% nie można jednak uznać za frekwencję dziedzicznych zmian somaklonalnych, ponieważ w następnym pokoleniu obserwowano wiele przypadków niemendrowskiej segregacji, co wskazywało raczej na przejściowy charakter zmian wywołany np. metylacją lub uaktywnieniem transpozonów. Potwierdzeniem tej sugestii mogą być prace Vazquez i in. (8) oraz Linacero i in. (7). Interpretację uzyskanych wyników utrudnia fakt heterogeniczności materiałów użytych w badaniach – wszystkie formy były odmianami populacyjnymi, jakkolwiek autorzy wielokrotnie podkreślali brak zmienności charakterystycznej dla form pochodzących z kultury *in vitro* u roślin kontrolnych.

Zmienność somaklonalną cech plonotwórczych była przedmiotem badań dwóch zespołów. Pierwszy z nich analizował potomstwa regenerantów otrzymanych z niedojrzałych zarodków linii 7RL- -, 7RL++ , 7RS++ i 5R- - (18,19). Z pokolenia  $R_0$  wybrano 152 nie zmienione morfologicznie, płodne, posiadające co najmniej trzy kłosa rośliny, samozapyłono je, a uzyskane potomstwo utworzyło rodziny  $R_2$  (symbolem  $R_2$  oznaczono tu pierwsze pokolenie płciowe, jedną rodzinę stanowiło potomstwo jednego regeneranta). Linie 7RL- - i 7RL++ były reprezentowane przez największą liczbę rodzin – odpowiednio 45 i 36 oraz największą liczbę roślin – odpowiednio 338 i 200. Badano następujące cechy: liczbę pędów/roślinę, liczbę kłosów/roślinę, termin kłoszenia, wysokość roślin, masę roślin, masę kłosa, długość kłosa, liczbę kłosków/kłos, liczbę ziarniaków/kłos, zbitość kłosa, plon ziarna z rośliny i współczynnik plonu, które testowano w warunkach polowych. Istotnie niższe średnie cech stwierdzono tylko w przypadku rodzin pochodzących od linii 7RL- - i 5R- -, przy czym w pierwszej grupie roślin dotyczyło to prawie wszystkich cech (oprócz liczby kłosów/roślinę, terminu kłoszenia i gęstości kłosa), a w drugiej tylko pięciu cech (terminu kłoszenia, wysokości roślin, masy roślin, długości kłosa i liczby kłosków/kłos). Mimo istotnie niższych średnich w dwóch i braku różnic średnich cech w pozostałych dwóch rodzinach, zakres zmienności większości cech był często większy niż u linii kontrolnych. W prawie wszystkich rodzinach u części rośliny nastąpiło przekroczenie wartości jednej lub kilku cech w stosunku do kontroli. Wprawdzie znacznie wyższy udział stanowiły rośliny o obniżonej wartości, szczególnie w rodzinach pochodzących z linii 6RS++ i 5R- -, ale znaleziono pojedyncze rośliny (0,02-14,86%



w zależności od cechy), które były „lepsze” od najlepszych roślin kontrolnych. Wynik ten stanowił ocenę zmienności somaklonalnej przydatnej dla hodowli. Najlepsze rośliny samozapyłono i otrzymano następane pokolenie, oznaczone jako R<sub>3</sub> (19). Każda roślina dała początek nowej rodzinie. Rodziny R<sub>3</sub> były badane w dwóch kolejnych sezonach. W rodzinach pochodzących z linii 7RS++ średnie prawie wszystkich cech były istotnie wyższe niż u kontroli, co świadczy o dziedzicznym charakterze zmian somaklonalnych. Jedynie długość kłosa nie różniła się istotnie od kontroli. Stwierdzono zależność typu i zakresu zmian od genotypu roślin wyjściowych. Potomstwo regenerantów otrzymanych z linii 7RL- - miało najwyższą w porównaniu z kontrolą masę kłosów, 5R- - największą liczbę kłosów i masę 100 ziarniaków, 7RL++ - największą liczbę kłosków w kłosie, a 7RL- - największą liczbę ziarniaków w kłosie i masę 100 ziarniaków. Obecność heterochromatyny w telomerach roślin-dawców wpływała pozytywnie na plon ziarna z rośliny. Najbardziej wartościowym materiałem wyjściowym okazała się linia 7RS++. Rośliny w rodzinach pochodzących z tej linii przewyższały rośliny kontrolne pod względem wielu cech w znacznym stopniu. W ocenie autorów, zmiany powstałe w kulturze *in vitro* oraz prowadzenie selekcji już od pierwszego pokolenia regenerantów pozwoliły uzyskać cenne formy wyjściowe dla hodowli. Do oceny tej należy jednak podejść sceptycznie, ponieważ materiałem wyjściowym w tych badaniach były formy nieprzydatne dla hodowli. Opinię taką wyraził twórca materiałów wykorzystanych w omawianych pracach, A. Łukaszewski z Columbia University (A. Łukaszewski, inf. ustna). Użycie takich materiałów nie spełnia kryterium Evansa, którego głównym założeniem jest dobra jakość materiałów wyjściowych.

W pracach nad zmiennością somaklonalną cech ilościowych prowadzonych w KGHIBR SGGW jako materiał wyjściowy użyto dwie wysokowsobne linie żyta L318 i Dw28 o wysokiej oraz linię L4 o przeciętnej wartości cech plonotwórczych (10, 20-22). W pierwszym etapie badań somakloni pokolenia R<sub>1</sub> poddano szczegółowej analizie wybranych cech ilościowych: wysokości roślin, krzewistości ogólnej, krzewistości produktywnej, długości kłosa, liczby kłosków/kłos, zbitości kłosa, liczby ziarniaków w kłosie, masy ziarna z kłosa, masy 1000 ziarniaków i samopłodności. Każdy z somaklonów tego pokolenia różnił się od linii matecznych pod względem średniej lub zmienności co najmniej jednej cechy (z reguły różnice dotyczyły 2-4 cech). Średnie większości cech (wyjątek stanowiła zbitość kłosa) u większości somaklonów były niższe niż w populacjach kontrolnych. Największe obniżenie wartości odnotowano w przypadku somaklonów pochodzących z linii L4. Wśród somaklonów pokolenia R<sub>1</sub> znaleziono liczne rośliny wykraczające poza zakres zmienności linii matecznych. Najczęściej obserwowano przekroczenie zakresu zmienności kontroli *in minus*, szczególnie w odniesieniu do cech związanych z plonem ziarna (liczba i masa ziarniaków z kłosa, masa 1000 ziarniaków). Najwyższy udział takich roślin stwierdzono w somaklonach pochodzących z linii L4. Najwięcej roślin „lepszych” od kontroli znaleziono w somaklonach pochodzących z linii Dw28. Dały one początek liniom somaklonalnym R<sub>2</sub>. W większości somaklonów korelacje między cechami



uległy zmianie przyjmując wartości nietypowe dla żyta, np. dodatnie korelacje między krzewistością ogólną i produktywną a wysokością roślin, liczbą i masą ziarniaków, masą 1000 ziarniaków w somaklonach L318 oraz krzewistością ogólną i produktywną a masą ziarniaków i masą 1000 ziarniaków w somaklonach Dw28.

Wśród 31 linii somaklonalnych otrzymanych w wyniku samozapylenia wybranych roślin pokolenia  $R_1$  dziedziczny charakter pozytywnych zmian wykazano u siedmiu linii (22,6%). Najwięcej takich linii pochodziło z somaklonów L318. W trzech liniach przekazane zostały wszystkie, w pozostałych część zmian. Pozostałe cechy, nie będące kryterium wyboru roślin pokolenia  $R_1$ , były najczęściej na poziomie kontroli lub ją przewyższały. Uzyskane wyniki w pełni uzasadniają wykorzystanie materiałów zregenerowanych w kulturze *in vitro* jako alternatywnego źródła zmienności dla hodowli żyta.

### 3. Podsumowanie

Z prac nad zmiennością somaklonalną żyta wykonanych w różnych laboratoriach można wyciągnąć następujące wnioski:

1) żyto jest gatunkiem charakteryzującym się dużą częstością zmian somaklonalnych; może to wynikać z istnienia w genomie żyta obszaru o szczególnej podatności na warunki kultury *in vitro*;

2) zakres i spektrum zmian somaklonalnych są zależne od genotypu rośliny donorowej;

3) większość zmian somaklonalnych ma charakter negatywny i przejawia się jako osłabienie, zaburzenia płodności i pogorszenie parametrów plonu ziarna zregenerowanych roślin oraz ich potomstw;

4) niewielka część zmian somaklonalnych cech ilościowych jest korzystna i dziedziczna, przez co może znaleźć zastosowanie w hodowli żyta.

Wyniki badań przytoczone w opracowaniu niewątpliwie przyczyniły się do lepszego poznania mechanizmów zmienności somaklonalnej żyta. Przyszłość pokaże, czy będą one miały także wymiar praktyczny, np. w postaci nowych odmian. Na podstawie dotychczasowych rezultatów można już przypuszczać, że materiały otrzymane w kulturze *in vitro* mogą istotnie wzbogacić istniejące źródła zmienności dla hodowli żyta.

### Literatura

1. Larkin P. J., Scowcroft W. R., (1981), *Theor. Appl. Genet.*, 60, 197-214.
2. Karp A., (1995), *Euphytica*, 85, 295-302.
3. Skirvin R. M., McPheeters K. D., Norton M., (1994), *Hort. Sci.*, 29(11), 1232-1237.
4. Rakoczy-Trojanowska M., (2001), *Folia Hort.*, 13/1A, 49-59.
5. Arseniuk E., Oleksiak T., (2001), Abstracts of EUCARPIA Rye Meeting, IHAR Radzików, (4-7 July), 15.



6. Boros D., (2001), Abstracts of EUCARPIA Rye Meeting, IHAR Radzików, (4-7 July), 34.
7. Linacero R., Freitas Alvese E., Vazquez A. M., (2000), *Theor. Appl. Genet.*, 100, 506-511.
8. Vazquez A. M., Alves E., Munoz J. J., Linacero R., (1996), *Proceedings of EUCARPIA Int. Symp. on Rye Breeding and Genetics, Hohenheim Stuttgart, Germany (27-29 June), Vorträge für Pflanzenzüchtung*, 35, 243-254.
9. Vazquez A. M., Ballesteros I., Freitas E., Linacero R., (2001), Abstracts of EUCARPIA Rye Meeting, IHAR Radzików, (4-7 July), 41.
10. Rakoczy-Trojanowska M., (1999), *Charakterystyka zmienności somaklonalnej trzech linii wsobnych żyta ozimego (Secale cereale L.)*, rozprawa habilitacyjna, Wyd. Fundacja „Rozwój SGGW”, Warszawa.
11. Al-Zahim M. A., Ford-Lloyd B. V., Newbury H. J., (1999), *Plant Cell Rep.*, 18, 473-477.
12. Hoffmann F., (1981), *Theor. Appl. Genet.*, 60, 129-133.
13. Bebeli P. J., Karp A., Kaltsikes P. J., (1990), *Genome*, 33, 177-183.
14. Karp A., Owen P. G., Steele S. H., Bebeli P. J., Kaltsikes P. J., (1992), *Genome*, 35, 590-593.
15. Linacero R., Vazquez A. M., (1992a), *Genome*, 35, 428-430.
16. Poulimatka M., Karp A., (1993), *Heredity*, 71, 138-144.
17. Linacero R., Vazquez A. M., (1992b), *Genome*, 35, 981-984.
18. Bebeli P. J., Kaltsikes P. J., Karp A., (1993), *J. Genet. & Breed.*, 47, 15-22.
19. Bebeli P. J., Kaltsikes P. J., (1994), *J. Genet. & Breed.*, 48, 371-376.
20. Pietrzykowski R., Rakoczy-Trojanowska M., Zieliński W., (1997), *Materiały I krajowej konferencji „Hodowla Roślin”, Poznań (19-20 listopad)*, 20-24.
21. Rakoczy-Trojanowska M., Malepszy S., (1996), *Proceedings of EUCARPIA Int. Symp. on Rye Breeding and Genetics, Hohenheim Stuttgart (27-29 June), Vorträge für Pflanzenzüchtung*, 35, 258-259.
22. Śmiech M., Rygliszyn G., Środa D., Kubicka H., Kryś Z., Malepszy S., (1991), *Hodowla odmian syntetycznych żyta ozimego. Raport z lat 1983-1990*, Wyd. SGGW, Warszawa, 12-23.