

Adam Fiderewicz, Adriana Szmidt-Jaworska 

Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Wydział Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych, Katedra Fizjologii Roślin i Biotechnologii, ul. Lwowska 1, 87-100 Toruń

e-mail: asjawors@umk.pl

## ROZMNAŻANIE ROŚLIN W ASPEKCIE PRAKTYCZNEGO WYKORZYSTANIA DOSTĘPNYCH TECHNIK I TECHNOLOGII PLANT PROPAGATION IN TERMS OF THE PRACTICAL USE OF AVAILABLE TECHNIQUES AND TECHNOLOGIES

ABSTRACT

The consequence of civilization's progress is the growing demand for certain groups of products. One of them is healthy plant material, which is used not only as a food source but also for industrial and medicinal purposes. Due to the increasing requirements for the quality of plant biomass, plant breeding focuses on work aimed at improving crops and preparing healthy starting materials. Currently, both conventional methods of plant breeding and biotechnological techniques are used with equal success in the propagation of plant material. Due to the practical dimension of the discussed topic and the growing needs in the field of modernization of propagation methods, this work was created, which is a summary of information on the methods of plant propagation in terms of the practical use.

KEY WORDS: plant propagation, green biotechnology, micropropagation, *in vitro* cultures.

STRESZCZENIE

Konsekwencją postępu cywilizacyjnego jest coraz większe zapotrzebowanie na pewne grupy produktów. Jednym z nich jest zdrowy materiał roślinny, który stanowi nie tylko źródło pożywienia, lecz jest także wykorzystywany w celach przemysłowych i leczniczych. Ze względu na coraz większe wymagania względem jakości biomasy roślinnej hodowla roślin skupia się na pracach zmierzających do doskonalenia roślin uprawnych i przygotowaniu zdrowego materiału wyjściowego. Aktualnie z jednakowym powodzeniem w namnażaniu materiału roślinnego stosowane są zarówno konwencjonalne metody hodowli roślin, jak i techniki biotechnologiczne. Z uwagi na praktyczny wymiar omawianej tematyki oraz narastające potrzeby w zakresie modernizacji metod rozmnażania, powstała niniejsza praca, która stanowi zwięzłe podsumowanie informacji dotyczących sposobów rozmnażania roślin w aspekcie praktycznego wykorzystania.

SŁOWA KLUCZOWE: rozmnażanie roślin, zielona biotechnologia, mikrorozmnażanie, kultury *in vitro*.

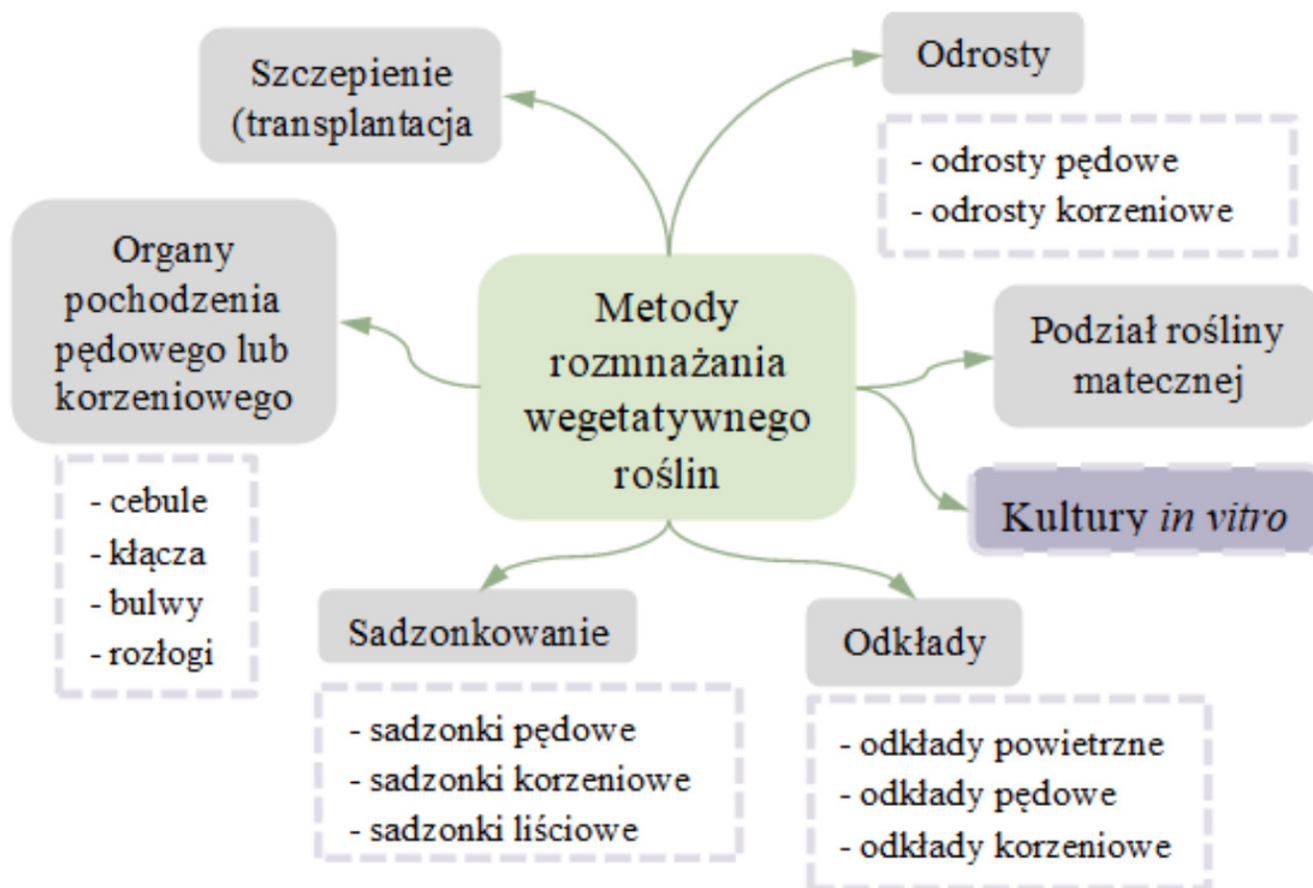
## WSTĘP

Hodowla roślin jako nauka skupiająca się na pracach zmierzających do doskonalenia roślin uprawnych korzysta z osiągnięć nauk podstawowych, takich jak botanika, fizjologia, biologia komórki i genetyka. Za sprawą szeroko stosowanych metod genetycznych, biologii molekularnej i biotechnologii, od kilku lat zachodzą dynamiczne zmiany w podejściu do prac hodowlanych. Obecnie to konsumenci i producenci zgłaszają zapotrzebowanie na nowe odmiany i zdrowy materiał roślinny. Stanowi to wyzwanie, które wyznacza nowe trendy w sposobach pozyskiwania materiału wyjściowego. Aktualnie z jednakowym powodzeniem stosowane są konwencjonalne metody hodowli roślin, jak i techniki biotechnologiczne.

Szeroko rozumiane rozmnażanie polega na wytworzeniu nowych osobników (osobników potomnych) przez organizm macierzysty. Podczas tego procesu następuje przekazanie materiału genetycznego, zawierającego informacje o cechach organizmu rodzicielskiego i indywidualnych cechach nowego osobnika. Zjawisku temu towarzyszy zazwyczaj odłączenie się organizmu potomnego od organizmu macierzystego. Sposób przekazywania cech potomstwu jest uzależniony od preferowanej metody rozmnażania (Kyte et al., 2013; Awotedu et al., 2021).

W uprawie rozmnażanie roślin odgrywa ważną rolę, ponieważ liczba roślin może być szybko zwielokrotniona, zachowując pożądane cechy roślin matecznych (Roberto and Colombo, 2020). Ze względów praktycznych zostały określone dwa zasadnicze typy rozmnażania: płciowe (generatywne) i bezpłciowe (wegetatywne). W produkcji nasiennej można wyodrębnić dwie główne drogi określające ostateczny cel rozmnażania generatywnego roślin. Jest to nasiennictwo skoncentrowane na tworzeniu nowych odmian lub ulepszaniu istniejących oraz wyprodukowanie nasion, które w jak najwyższym stopniu odwzorowują typowe cechy danej odmiany (Lal et al., 2022). W tym celu przy uprawie roślin nasiennych stosowane są liczne zabiegi pielęgnacyjne, których celem jest otrzymanie zdrowych roślin, zdolnych do wydania dużej liczby nasion. Częścią tych działań jest także selekcja, która prowadzi do usunięcia osobników odmiennych. Jednocześnie, odmienne osobniki, które mogą być mutantami, albo spontanicznymi mieszańcami, analizuje się pod kątem pozyskania nowej odmiany (Bidabadi and Jain, 2020). Rozmnażanie bezpłciowe (wegetatywne) następuje przez tworzenie komórek lub tworów wielokomórkowych, które powstają bez wytworzenia organów rozmnażania generatywnego i bez zapłodnienia (Awotedu et al., 2021). Ten rodzaj rozmnażania bazuje na totipotencji komórek roślinnych i zdolności do regeneracji, czyli odtworzenia brakującej części organizmu na skutek przejęcia funkcji merystematycznych przez niektóre tkanki lub komórki odciętych fragmentów (Szmidt-Jaworska and Kopcewicz, 2021). W rozmnażaniu wegetatywnym wyróżnia się metody konwencjonalne takie jak sadzonkowanie, szczepienie, podział rośliny matecznej, propagację przez wierzchołki i sadzonki oraz agrobiotechnologiczne, takie jak regeneracja w kulturach *in vitro* (schemat 1) (Tonecki and Łukaszewska, 1996; Meher, Panigrahi and Rout, 2021).

Zielona biotechnologia, nazywana też agrobiotechnologią, zajmuje się aspektami związanymi z rolnictwem oraz rozwiązaniami stosowanymi w celach spożywczych i niespożywczych (Hasnain et al., 2022). Jednym z najważniejszych problemów agrobiotechnologii jest ciągła potrzeba modernizacji technologii mikrorozmnażania. Wykorzystywane w tym celu techniki osiągnęły status odrębnej gałęzi przemysłowej, stwarzając możliwość powstania dużego przemysłu roślinnego (Hasnain et al., 2022). Z uwagi na praktyczny wymiar omawianej tematyki oraz narastające potrzeby w zakresie modernizacji metod rozmnażania, powstała niniejsza praca, która stanowi zwarte podsumowanie informacji dotyczących metod biotechnologicznych stosowanych w rozmnażaniu i namnażaniu roślin.



SCHEMAT 1. WYBRANE METODY ROZMNAŻANIA WEGETATYWNEGO ROŚLIN (OPRAOWANIE WŁASNE).

## METODY BIOTECHNOLOGICZNE W ROZMNAŻANIU I NAMNAŻANIU ROŚLIN

Od kilku lat alternatywą dla tradycyjnych metod rozmnażania roślin jest wykorzystanie zdobyczy biotechnologii. Ogromny rozwój mikrotechnik rozmnażania roślin osiągnięty został dzięki intensywnie prowadzonym badaniom naukowym, a warunkowany jest głównie zapotrzebowaniem rynku (Tonecki and Łukaszewska, 1996; Datta et al., 2019). Metody biotechnologiczne to szczególnie sposób namnażania materiału biologicznego w warunkach sterylnych. Kultury tkankowe roślin to termin, którym określa się metody stosowane do rozmnażania roślin z ich fragmentów przez sterylne (aseptyczne) przeniesienie części rośliny na specjalne medium hodowlane, co przy zastosowaniu odpowiednich warunków umożliwia całkowitą regenerację rośliny. Działania te są skoncentrowane na rozmnożeniu tkanek roślinnych, doprowadzeniu do ich różnicowania w pędy lub zarodki somatyczne, masowej propagacji roślin o szczególnie korzystnych cechach, aż do odtworzenia gatunków zagrożonych wyginieciem (Datta et al., 2019; Jerzy and Krzywińska, 2011; Malepszy, 2014).

W tym typie rozmnażania nadrzędną rolę odgrywa eksplantat, czyli część rośliny, która służy do odtworzenia czy namnożenia osobników potomnych (Lowe et al., 2022). Eksplantatami mogą być organy lub fragmenty organów lub tkanek, pojedyncze komórki, a nawet komórki pozbawione ściany komórkowej, czyli protoplasty, które po wyizolowaniu z rośliny – dawcy, umieszcza się na pożywkach zestawianych sztucznie, w precyzyjnie kontrolowanych warunkach temperatury, wilgotności i oświetlenia (istotne są: długość fali, natężenie, fotoperiod). Istnieje wiele rodzajów eksplantatów, które arbitralnie możemy podzielić na dwa typy: pierwotne oraz wtórne. Eksplantatami pierwotnymi nazywamy fragmenty odizolowane z rośliny matecznej, które inicjują prowadzoną kulturę. Natomiast eksplantatem wtórnym określamy jest materiał, którego izolacja następuje w trakcie prowadzenia hodowli, na przykład pojedynczy merystem lub protokorm (masa komórek niezróżnicowana na tkanki i organy) (Soares et al., 2020). Klonowanie roślin *in vitro* i związany z tym etapowy charakter tego procesu zależy w dużej mierze od organu rośliny matecznej (ang. stock plant). Materiał wyjściowy musi cechować się dużą witalnością, być pozbawiony czynników chorobowych oraz wykazywać

typowe cechy gatunku. Fragmenty powinny być fizjologicznie młode, gdyż tylko takie obdarzone są wysoką zdolnością do restytucji, czyli odtworzenia. Eksplantaty wtórne są bardziej wydajne i zdrowsze, ponieważ pobieranie następuje z roślin uprawianych w warunkach aseptycznych. Niemniej istotną kwestią jest dobór warunków uprawy (Płażek and Dubert, 2022; Phillips and Garda, 2019). Istnieje wiele pożywek i dodatków tj. hormony wzrostu, witaminy, makro- i mikroelementy, które podlegają zestawieniu zależnie od potrzeb. Na rynku dostępne są pożywki do kultur *in vitro* roślin o charakterze uniwersalnym tj. pożywka Murashige i Skoog'a, które są wykorzystywane najczęściej i poprzez modyfikacje dostosowywane do wymagań określonych grup roślin. Dostępne są również pożywki specjalistyczne, spełniające wymogi określonych rodzin, a nawet gatunków np. pożywka MV (ang. Vacin and Went Medium) dla przedstawicieli rodziny *Orchidaceae* (Utami and Hariyanto, 2019).

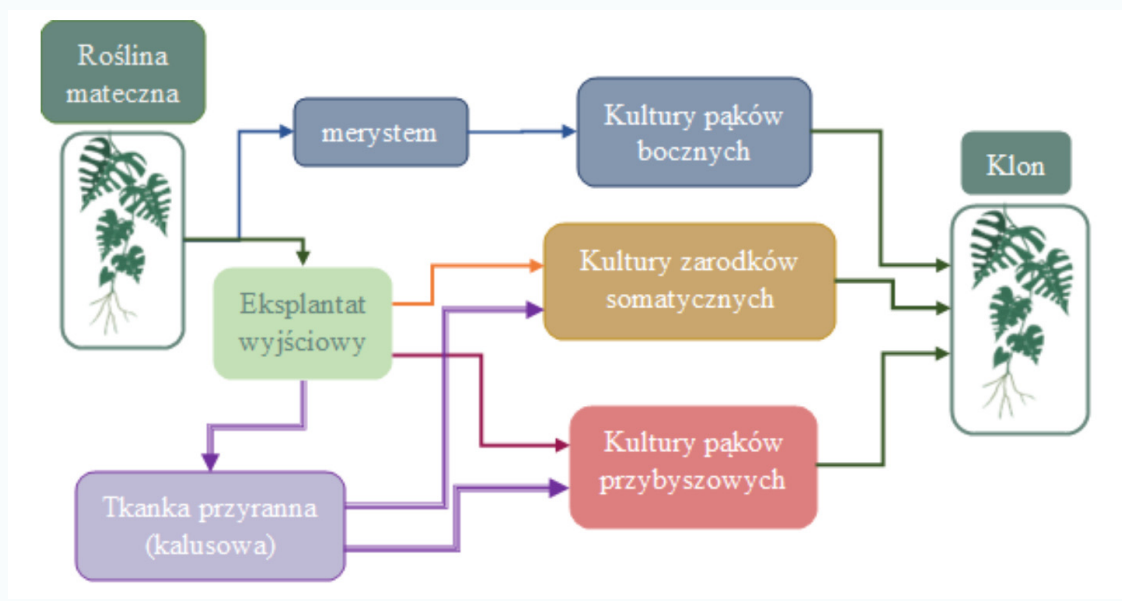
## MIKROROZMNAŻANIE

W technologii mikrorozmnażania wyróżnia się sześć głównych etapów (schemat 2): etap wstępny (wybór rośliny matecznej i przygotowanie do pobrania eksplantatu oraz jego dezynfekcja i odtłuszczenie), inicjacja kultury (izolacja, inokulacja eksplantatu), namnażanie zregenerowanych roślin, ukorzenie mikrosadzonek oraz adaptacja do warunków *in vivo* i aklimatyzacja (Anderson, 1980).



SCHEMAT 2. OGÓLNE ETAPY MIKROROZMNAŻANIA (OPRAOWANIE WŁASNE).

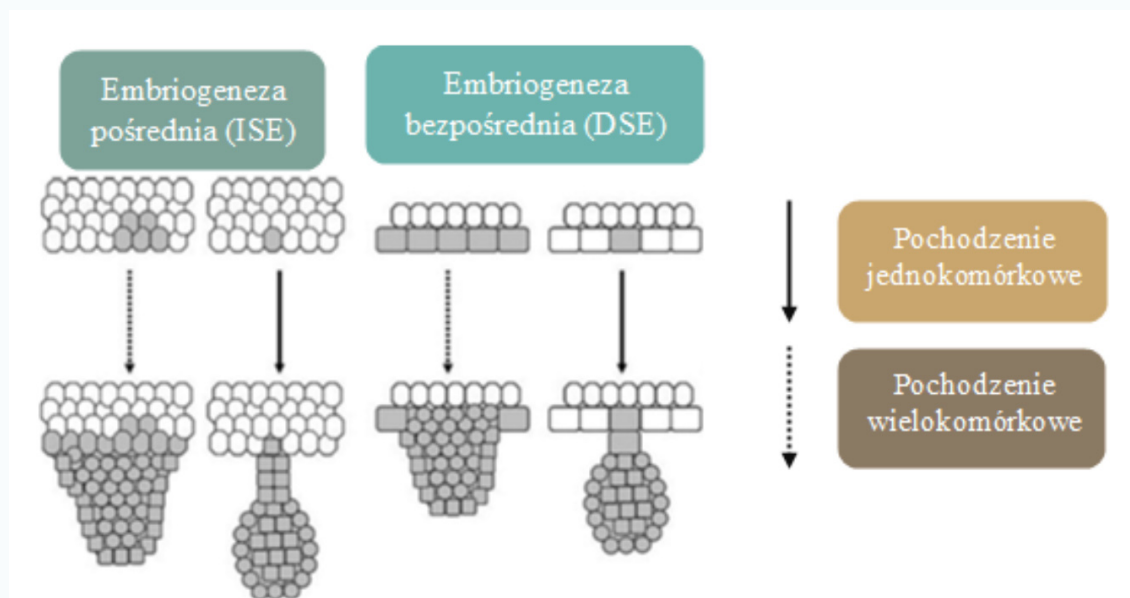
Z kolei procesy rozwojowe w kulturach *in vitro* można podzielić według rodzaju eksplantatu oraz drogi regeneracji, którą zamierzamy wykorzystać w celu wytworzenia nowych osobników (schemat 3). Rozwój może być ukierunkowany na tworzenie zróżnicowanej lub słabo zróżnicowanej tkanki kalusowej, pędów i korzeni przybyszowych, zarodków somatycznych (somatyczna embriogeneza) lub na rozwój i proliferację merystemów wierzchołkowych i bocznych (Płażek and Dubert, 2022; Malepszy, 2014; Kyte et al., 2013).



SCHEMAT 3. OGÓLNY SCHEMAT PROCESÓW ROZWOJOWYCH W ROŚLINNYCH KULTURACH *IN VITRO* (OPRAOWANIE WŁASNE, NA PODSTAWIE MALEPSZY, 2014).

## SOMATYCZNA EMBRIOGENEZA

Jednym ze sposobów regeneracji roślin jest somatyczna embriogeneza (SE). Technika ta ze względu na wysoką wydajność jest wykorzystywana częściej niż organogeneza zygotyczna (Gaj, 2001; Joshi et al., 2022). SE to proces, w którym komórki somatyczne, pochodzące z różnych organów roślin, w warunkach indukcyjnych wytwarzają komórki embriogeniczne, które przechodzą szereg zmian, co ostatecznie doprowadza do powstania zarodka somatycznego (Gaj, 2001; Quiroz-Figueroa et al., 2006). W celu opracowania efektywnego protokołu regeneracji SE wykorzystuje się różne rodzaje eksplantatów, co prowadzi ostatecznie do identyfikacji najlepszego pod względem wydajności namnażania. Przykładowo, stwierdzono, że regeneracja kalusów paulowni puszystej (*Paulownia tomentosa*) zależy od rodzaju eksplantatu, przy czym najbardziej wydajna była regeneracja z wykorzystaniem eksplantatów pochodzących z liści i wierzchołków pędu (Amirova et al., 2022). Ogólnie wyróżnia się dwie drogi regeneracji zarodków somatycznych: bezpośrednia somatyczna embriogeneza (DSE) i pośrednia somatyczna embriogeneza (ISE). Jednocześnie można mówić o embriogenezie pierwotnej i wtórnej, przy czym pierwotna zachodzi na drodze bezpośredniej lub pośredniej regeneracji, a wtórna uzyskiwana jest z pierwotnych zarodków somatycznych (Gaj, 2001). Ciąg procesów składających się na somatyczną embriogenezę można podzielić na dwie fazy: fazę inicjacji/indukcji oraz fazę rozwoju (Joshi et al., 2022). Dla większości roślin indukcja tego procesu związana jest z obecnością hormonów, głównie auksyn, takich jak 2,4-D, rzadziej NAA (Malepszy, 2014). Obserwuje się również indukcję SE pod wpływem innych związków, takich jak pikloram (selektywny herbicyd roślin dwuliściennych) (Campos-Boza et al., 2022).



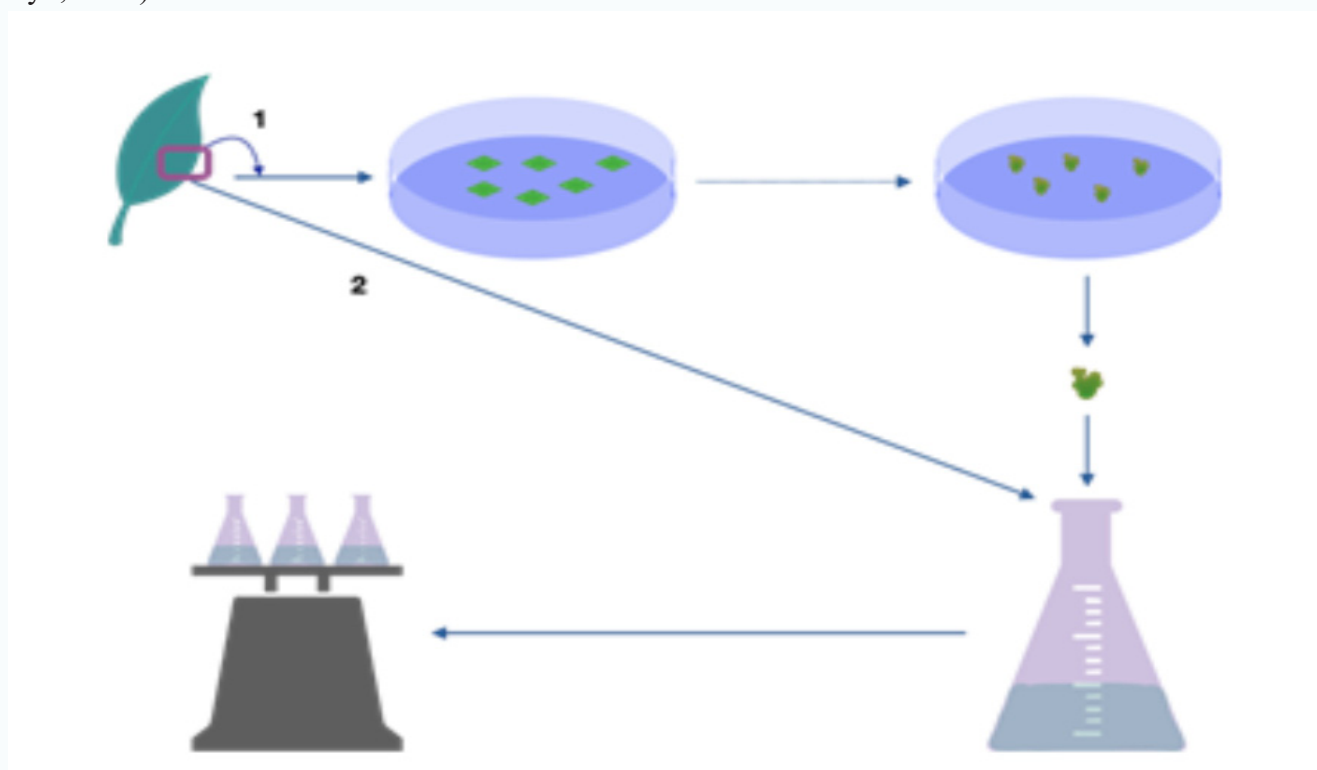
SCHEMAT 4. SCHEMAT POWSTAWANIA SOMATYCZNYCH ZARODKÓW (WG QUIROZ-FIGUEROA, 2006, ZMODYFIKOWANE).

Zestawienie procesów zachodzących podczas embriogenezy zygotycznej i somatycznej, pomimo różnic morfologicznych i histologicznych, pozwala na stwierdzenie ich znacznego podobieństwa i ostatecznego otrzymania zorganizowanych struktur. Kolejne stadia rozwojowe, takie jak: globularne, torpedy i sercowate, zachodzą kolejno w przypadku usunięcia auksyny z pożywki (Wang et al., 2020; Malepszy, 2014). Następnie dochodzi do procesu kiełkowania i konwersji zarodków somatycznych, przy których kiełkowanie określane jest jako formowanie korzenia zarodkowego, a konwersja jako równoczesny rozwój korzenia i pędu. Konwersja zarodków i dalszy rozwój mogą już zachodzić na pożywkach pozbawionych regulatorów wzrostu lub wzbogaconych o cytokininy, przy dostępie światła (Wang et al., 2020; Kulus, 2013, 2014; Malepszy, 2014). Otrzymane w ten sposób sadzonki mogą podlegać aklimatyzacji do warunków środowiskowych, a po określonym czasie powinny zostać przesadzone do gruntu. Metody hodowli in vitro oparte na SE są rutynowo stosowane do transformacji genetycznej, edycji genomu lub propagacji klonalnej wielu gatunków. Taka ścieżka rozwojowa oferuje również interesujący model do badań molekularnych, regulacyjnych i morfogenetycznych związanych z inicjacją embriogenezy (Wehbi et al., 2022).

Kultury zawieszinowe są szeroko stosowane na rynku biotechnologicznym. Hodowane są różne komór-

ki, pochodzące z tkanek organów nadziemnych (np. łodygi, liście, komórki merystematyczne) lub podziemnych (np. korzenie i kłącza) z wykorzystaniem tkanki przyrannej, jakim jest tkanka kalusowa, lub z eksplantatu pierwotnego umieszczonego w pożywce płynnej (Sychta et al., 2018). Schemat 5 przedstawia ogólny zarys metody uzyskiwania zawieszinowych komórek z fragmentów tkanki roślinnej. Jedną z ciekawszych hodowli, ze względu na ich możliwości, jest kultura protoplastów. Protoplasty są to komórki, które za pomocą technik mechanicznych lub enzymatycznych zostały pozbawione ściany komórkowej.

Źródłem protoplastów mogą być komórki miękiszowe liścia lub kultury kalusa. Wolne protoplasty na odpowiednich pożywkach odtwarzają ściany komórkowe i rozpoczynają podziały, tworząc kalus lub agregaty podejmujące rozwój embrionalny. Są to jednak układy bardzo wrażliwe na warunki zewnętrzne takie jak: temperatura, oświetlenie, gęstość kultury i skład pożywki. Na schemacie 6 przedstawiono etapy otrzymywania roślin w kulturach protoplastów wraz z uproszczonym schematem hybrydizacji somatycznej *in vitro*. Protoplasty ze względu na możliwość fuzji znalazły zastosowanie przy tworzeniu mieszańców somatycznych pomiędzy różnymi, niekiedy nawet znacznie odległymi filogenetycznie gatunkami. Taką zdolność komórek roślinnych do zainicjowania podziałów z organów roślinnych, jak i komórek embrjonalnych, wykorzystano do rozmnażania roślin na dużą skalę oraz polepszenia automatyzacji procesu (Dambier et al., 2022; Szopa and Kostyń, 2006).

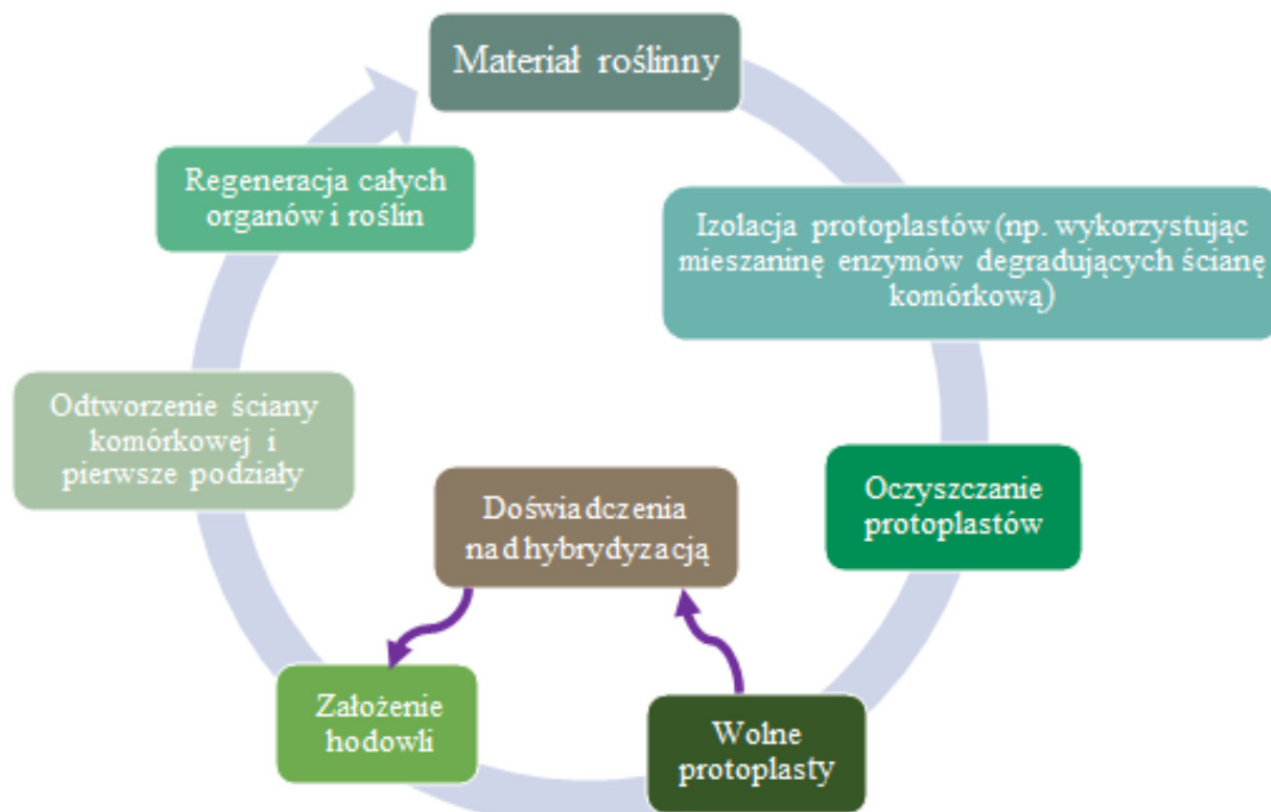


SCHEMAT 5. OGÓLNY SCHEMAT UZYSKIWANIA KULTUR ZAWIESINOWCYH KOMÓREK Z FRAGMENTÓW BLASZKI LIŚCIOWEJ (EKSPLANTAT) POŚREDNIO POPRZECZ KALUS (1) LUB BEZPOŚREDNIO Z EKSPLANTATU (2) (OPRACOWANIE WŁASNE, NA PODSTAWIE SYCHTA ET AL., 2018).

## NOWE TECHNIKI HODOWLANE – INNOWACJE DLA ZIELONEJ BIOTECHNOLOGII

Ostatnie lata stawiają przed rolnictwem, sadownictwem oraz ogrodnictwem wiele wyzwań, ale także wyzwalają impuls do rozwoju innowacji. Jedną z dyscyplin o największym potencjale innowacyjnym jest biotechnologia (Ray et al., 2013). Z biotechnologicznego punktu widzenia dostępna jest cała gama technik o szerokich możliwościach wykorzystania m. in. cisgeneza, intrageneza, hodowla wsteczna, mutageneza z zastosowaniem miejscowo-specyficznych nukleaz (m. in. CRISPR, ZFN czy TALEN), mutageneza sterowana oligonukleotydami, metylacja zależna od RNA, szczepienie na genetycznie zmodyfikowanej podkładce (Kumar et al., 2019). Jednakże do chwili obecnej tylko niektóre są z powodzeniem stosowane poza laboratorium.

Tzw. zielona biotechnologia związana jest z rolnictwem i skupia się na wytwarzaniu skutecznych,



SCHEMAT 6. UPROSZCZONY SCHEMAT OTRZYMYWANIA ROŚLIN W KULTURACH PROTOPLASTÓW WRAZ Z EWENTUALNĄ HYBRYDYZACJĄ SOMATYCZNĄ IN VITRO (OPRACOWANIE WŁASNE).

wydajnych, nowatorskich i pożądaných produktów. Innowacje w hodowli roślin dotyczą zarówno procesów, jak i produktów. Wśród innowacji procesowych największe znaczenia ma masowa produkcja roślin in vitro (Hasnain et al., 2022). Z kolei wśród innowacji produktowych na pierwsze miejsce wysuwa się poszukiwanie nowych odmian ze względu na unikalne walory. Z punktu widzenia hodowcy roślin, nowoczesna biotechnologia stwarza dodatkowe możliwości, które są związane z generowaniem zmienności genetycznej, z której korzysta on w procesie selekcji i hodowli nowych odmian roślin uprawnych, szybszego i bardziej wydajnego namnażania materiału (mikrorozmnażanie), produkcji roślin wolnych od wirusów, produkcji roślin haploidalnych, hodowli protoplastów, somatycznej embriogenezy, produkcji sztucznych nasion, nadprodukcji metabolitów wtórnych, transgenezy.

## PRODUKCJA ROŚLIN WOLNYCH OD WIRUSÓW

Rośliny ulegają zakażeniom patogenami, co wpływa na wigor roślin i plonowanie. Procesy prowadzące do uzyskania czystego materiału wyjściowego dotyczą hodowli merystemów, które są pozbawione czynnika patogenicznego. Ich produkcja ma pozytywny wpływ na poprawę parametrów wzrostu i rozwoju, co przekłada się na plonowanie (Krishna et al., 2022).

## PRODUKCJA ROŚLIN HAPLOIDALNYCH

Rośliny haploidalne są poszukiwanym materiałem do realizacji programów hybrydyzacyjnych. W ich przypadku dochodzi do ekspresji genów recesywnych i wyeksponowania pożądaných cech oraz wytworzenie linii wsobnych (Seguí-Simarro et al., 2021).

## PRODUKCJA SZTUCZNYCH NASION

Embriogeneza somatyczna i powstawanie zarodków somatycznych są cennym narzędziem w rozmnażaniu roślin na dużą skalę. W bioreaktorze można wyprodukować dużą liczbę zarodków, które po zastosowaniu otoczkowania stają się pełnowartościowym materiałem wyjściowych, chronionym przed wysuszeniem

i urazami (Bekele, 2021). Obecnie trwają badania nad udoskonaleniem metod tworzenia sztucznych nasion tak, aby ich odporność na przechowywanie i zdolność do rozwoju w prawidłowe rośliny była zbliżona do nasion naturalnych. Ponadto odpowiednio przygotowane sztuczne nasiona roślin zagrożonych wyginięciem mogą być poddane krioprezerwacji i przechowywane przez długi czas w głębokim zamrożeniu w bankach germoplazmy (Makowski et al., 2016).

## PRODUKCJA ROŚLIN TRANSGENICZNYCH

Transgeneza polega na wprowadzeniu nowego genu do organizmów celem stworzenia nowej odmiany o pożądanych cechach (Penna and Jain, 2023). Techniki inżynierii genetycznej pozwalają na rozwijanie upraw modyfikowanych genetycznie. Działania mają na celu poprawę produktywności i wydajności roślin uprawnych, przy ograniczeniu stosowania herbicydów i pestycydów.

## MUTAGENEZA

Mutageneza to proces, w wyniku którego w DNA zachodzi mutacja. W biotechnologii rolniczej proces mutagenezy pomaga wywołać przypadkową mutację w celu stworzenia różnorodności w uprawach o wymaganych cechach. W odróżnieniu od transgenezy zmiana jest przypadkowa, a skutki są obserwowane jedynie fenotypowo (Penna and Jain, 2023).

## HODOWLA PROTOPLASTÓW I HYBRYDYZACJA SOMATYCZNA

Manipulacje z wykorzystaniem protoplastów roślinnych okazują się być wygodnymi technikami alternatywnymi względem metod klasycznych, pozwalającymi na uzyskanie nowych, pożytecznych cech. Jednym z najpowszechniejszych praktycznych zastosowań protoplastów jest tzw. hybrydyzacja somatyczna, polegająca na łączeniu (fuzji) komórek różnych gatunków/odmian roślin, prowadząca do otrzymania mieszańców (hybryd somatycznych), które łączą w sobie cechy organizmów wyjściowych. Jest to pozapłciowa droga krzyżowania, czasami odległych taksonomicznie gatunków (Dambier et al., 2022).

## PRODUKCJA METABOLITÓW WTÓRNYCH

Ograniczenia w pozyskiwaniu roślin bogatych w związki o znaczeniu prozdrowotnym i terapeutycznym były impulsem do zastosowania metod biotechnologicznych (Wawrosch and Zotchew, 2021). Produkcja różnych metabolitów wtórnych, takich jak antocyjany, alkaloidy, karotenoidy, garbniki, flawony, sterydy z hodowli komórek roślinnych i tkanek nie została jeszcze na szeroką skalę zastosowana na poziomie przemysłowym. Problemy w przypadku tego typu kultur związane są z niestabilnością genetyczną i niską wydajnością produkcji (Fazili et al., 2022).

## PODSUMOWANIE

Dynamiczny rozwój nowych technologii w obszarze nauk biologicznych jest faktem o zasadniczym znaczeniu nie tylko poznawczym, ale także społecznym i ekonomicznym. Nauka daje coraz więcej nowych narzędzi, które mogą zostać przeniesione do gospodarki. Obecnie biogospodarka i agrobiotechnologia są wzajemnie powiązane. Przejawia się to głównie w masowym rozmnażaniu *in vitro* wielu gatunków roślin wykorzystywanych przez człowieka. Warsztat metod i technik są z każdym rokiem udoskonalane, a biotechnologiczna produkcja roślin coraz częściej staje się głównym sposobem wegetatywnego rozmnażania wielu roślin ze względu na wydajniejsze mnożenie, uniezależnienie się od warunków pogodowych, szybkie wprowadzenie do uprawy nowych odmian, możliwość długoterminowego przechowywania materiału roślinnego w obniżonej temperaturze oraz ułatwienie obrotu handlowego. Prace współczesnych biotechnologów zmierzają nie tylko do genetycznego ulepszania znanych gatunków roślin, lecz również do poszukiwania nowych i wartościowych odmian, które mogłyby wzbogacić grupę roślin uprawnych. Niezaprzeczalnie agrobiotechnologia to rolnictwo przyszłości. Należy jednocześnie zwrócić uwagę na prognozy rozwoju tego sektora, gdyż innowacje przejawiają się zastępowaniem tradycyjnych, niebiologicznych procesów przemysłowych bioprocasa-



mi i produkcji celowanej biofarmaceutyków, specyficznych związków chemicznych, dodatków do żywności oraz biomateriałów i biopaliw z odnawialnych surowców tj. biomasa roślinna.

## LITERATURA

Amirova, A. et al. (2022) 'Multiple plant regeneration from embryogenic calli of *Paulownia tomentosa* (Thunb.) Steud', *Plants*, 11(8), pp. 1020. doi: 10.3390/plants11081020.

Anderson, W.C. (1980) 'Mass propagation by tissue-culture-principles and techniques', *Sci. Educ. Adm. Publ.* 1–10.

Awotedu, B.F., et al. (2021) 'Vegetative propagation: a unique technique of improving plants growth', *World News of Natural Sciences* 35, pp. 83-101.

Lal, M. et al. (2022) 'Micropropagation of fruit crops: a review'. *Plant Science Today*, 10(1), pp. 108-117. doi: <https://doi.org/10.14719/pst.1891>.

Bekele, B.G. (2021) 'Review on production and application of synthetic seeds', *GSJ*, 9 (3), pp. 189-211.

Bidabadi, S.S., Jain, S.M. (2020) 'Cellular, molecular, and physiological aspects of *in vitro* plant regeneration', *Plants*, 9(6), pp. 702. doi: 10.3390/plants9060702.

Campos-Boza, S. et al. (2022) 'Somatic embryogenesis and plant regeneration from transverse thin cell layers of adult peach palm (*Bactris gasipaes*) lateral offshoots', *Frontiers in Plant Science*, 13, pp. 995307. doi: 10.3389/fpls.2022.995307.

Dambier, D. et al. (2022) 'Genomic instability in somatic hybridization between poncirus and citrus species aiming to create new rootstocks', *Agriculture*, 12, pp. 134. doi: 10.3390/agriculture12020134.

Datta, S.K. (2019) 'Need based tissue culture in floriculture: a success story', *J. Plant Sci. Res.* 35, pp. 245–254. doi: 10.32381/JPSR.2019.35.02.14.

Fazili, M.A. et al. (2022) 'In vitro strategies for the enhancement of secondary metabolite production in plants: a review', *Bulletin of the National Research Centre*, 46, pp. 35.

Gaj, M. D. (2001) *Somatyczna embriogeneza w kulturach in vitro Arabidopsis thaliana [L.] HEYNH.* Katowice: Prace Naukowe Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach (1970), pp. 8–26.

Hasnain, A. et al. (2022) 'Plants in vitro propagation with its applications in food, pharmaceuticals and cosmetic industries; current scenario and future approaches', *Frontiers Plant Sci.* 13. doi: 10.3389/fpls.2022.1009395.

Jerzy, M. and Krzysińska, A. (2011) 'Rozmnażanie wegetatywne roślin ozdobnych', 2. wyd. Poznań: PWRiL Sp.z o.o., pp. 8-88.

Joshi, S. et al. (2022) 'AGL15 promotion of somatic embryogenesis: role and molecular mechanism', *Frontiers in Plant Science*, 13, pp. 861556. doi: 10.3389/fpls.2022.861556.

Krishna, R. et al. (2022) 'Meristem culture: A potential technique for *in vitro* virus-free plants production in vegetatively propagated crops', *Advance in Plant Tissue Culture* 14, pp. 325-343. doi: 10.1016/B978-0-323-90795-8.00017-5.

Kulus, D. (2013) 'Embriogeneza somatyczna *in vitro*', *CreativeTime: Nowe trendy w naukach przyrodniczych*, 4.wyd., pp. 45–54.

- Kulus, D. (2014) 'Biotechnologiczne metody reprodukcji roślin ozdobnych', "Biotechnological methods of ornamental plants reproduction", Jakość życia w badaniach młodych naukowców, Poznań: Maiuscula, pp. 87–104.
- Kumar, R. et al. (2019) 'CRISPR-based genome editing in wheat: A comprehensive review and future prospects', Mol. Biol. Rep. 46, pp. 3557–3569. doi: 10.1007/s11033-019-04761-3.
- Kyte, L. et al. (2013) 'Plants from test tubes: an introduction to micropropagation', 4th ed. Timber Press, Portland, OR, USA, pp. 270.
- Lowe, G.E. et al. (2022) 'Effect of stock plant growing medium and density upon a cutting propagation system for tea tree, *Melaleuca alternifolia*', Plants, 11(18), pp. 2421. doi:10.3390/plants11182421.
- Makowski, D. et al. (2016) 'Integration of tissue culture and cryopreservation methods for propagation and conservation of the fern *Osmunda regalis* L.', Acta Physiologiae Plantarum, 38(1), pp. 19. doi:10.1007/s11738-015-2037-y.
- Malepszy, S. and Bach, A. (2014) 'Biotechnologia roślin / red. nauk. Stefan Malepszy', Wyd. 2, zm., 2 dodr. Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN, pp. 21-38.
- Meher, D., Panigrahi, S. and Rout, S. (2021) 'Propagation in Flowering and Ornamental Plants', Recent Trends In Propagation of Forest and Horticultural Crops, India: TARAN PUBLICATION, pp. 368–373.
- Penna, S. and Jain, S.M. (2023) 'Fruit crop improvement with genome editing, *in vitro* and transgenic approaches', Horticulturae, 9, pp. 58. doi: 10.3390/horticulturae9010058.
- Phillips, G.C. and Garda, M. (2019) 'Plant tissue culture media and practices: an overview', In Vitro Cell Dev Biol - Plant 55, pp. 242–257. <https://doi.org/10.1007/s11627-019-09983-5>.
- Płażek, A. and Dubert, F. (2022) '*In vitro* culture as a tool for studying plant developmental processes at the physiological level in Poland', Acta Societatis Botanicorum Poloniae, 91, pp. 9113. doi: 10.5586/asbp.9113.
- Quiroz-Figueroa, F. R. et al. (2006) 'Embryo production through somatic embryogenesis can be used to study cell differentiation in plants', Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 86(3), pp. 285–301. doi: 10.1007/s11240-006-9139-6.
- Ray, D.K. et al. (2013) 'Yield trends are insufficient to double global crop production by 2050', PLoS ONE, 8, pp. e66428. doi: 10.1371/journal.pone.0066428.
- Roberto, S. R. and Colombo, R. C. (2020) 'Innovation in Propagation of Fruit, Vegetable and Ornamental Plants', Horticulturae, 6(2). doi: 10.3390/horticulturae6020023.
- Seguí-Simarro, J.M., Jacquier, N.M.A. and Widiez, T. (2021) 'Overview of *in vitro* and *in vivo* doubled haploid technologies', Doubled Haploid Technology, 2287, pp. 3-22. doi: 10.1007/978-1-0716-1315-3\_1.
- Soares, J.S., Sorgato, J.C. and Ribeiro, L.M. (2020) 'Protocol for asymbiotic germination and initial protocorm development of Brazilian Cerrado native orchids', Rodriguésia 71, pp.1–10.
- Sychta, K., Słomka, A. and Kuta, E. (2018) 'Kultury zawieszinowe komórek jako model do badania tolerancji roślin na metale ciężkie', Kosmos, 67(2), pp. 335–346. doi: 10.36921/kos.2018\_2393.
- Szmidt-Jaworska, A. and Kopcewicz, J. (2021) 'Fizjologia Roślin', 4th-dodruk 1st edn., Warszawa, PWN, pp. 491-496.

Tonecki, J. and Łukaszewska, A. J. (1996) 'Rozmnażanie roślin ozdobnych', 2nd edn. SGGW, pp. 4-27.

Utami, E. S. W. and Hariyanto, S. (2019) '*In vitro* seed germination and seedling development of a rare Indonesian native orchid *Phalaenopsis amboinensis* J.J.Sm', *Scientifica*, 2019, pp. 8105138. doi: 10.1155/2019/8105138.

Wang, K. et al. (2020) 'Square one: zygote polarity and early embryogenesis in flowering plants', *Current Opinion in Plant Biology*, 53, pp. 128-133. doi: 10.1016/j.pbi.2019.10.002.

Wawrosch, C. and Zotchew, S. B. (2021) 'Production of bioactive plant secondary metabolites through in vitro technologies - status and outlook', *Applied Microbiology and Biotechnology*, 105, pp. 6649-6668. doi: 10.1007/s00253-021-11539-w.

Wehbi, H. et al. (2022) 'One-week scutellar somatic embryogenesis in the monocot *Brachypodium distachyon*', *Plants*, 11(8), pp. 1068. doi: 10.3390/plants11081068.

§ Praca wpłynęła do redakcji: 01.03.2023r.  
Zrecenzowano: 14.04.2023r.  
Przyjęto do druku: 06.05.2023r.