

BOŻENA DENISOW¹
MONIKA STRZAŁKOWSKA-ABRAMEK¹
ERNEST STAWIARZ¹
JACEK JACHUŁA¹
MONIKA RAKOCZY-TROJANOWSKA²
STEFAN STOJAŁOWSKI³

¹ Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

² Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

³ Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie

e-mail: bozena.denisowa@lublin.pl

Charakterystyka kwitnienia i pylenia 12 genotypów pszenicy (*Triticum aestivum* L.) w roku 2018*

W hodowli heterozyjnej pszenicy, która jest gatunkiem samopylnym, bardzo istotne jest znalezienie form ojcowskich o odpowiednich parametrach i właściwościach pyłku. W doświadczeniu prowadzonym w roku 2018 w ramach projektu HYBRE — Zintegrowana strategia dla reaktywacji polskiej hodowli pszenicy heterozyjnej testowano 12 odmian/linii pszenicy ozimej, w celu określenia ich wydajności pyłkowej. Nasiona odmian/linii pszenicy wysiano w październiku na polętka doświadczalne zlokalizowane na terenie Ogrodu Botanicznego UMCS w Lublinie.

Potencjał pyłkowy odmian i linii określano wykorzystując metodę eterowo-wagową (Denisow, 2011). Pylniki w fazie przed pękaniem woreczków pyłkowych ekstrahowano z kwiatów i umieszczano w cylindkach. Pyłek z pylników wyplukiwano eterem oraz alkoholem etylowym. Następnie oddzielano tkanki pylników od pyłku i ustalano suchą masę pylników i pyłku.

Odmiany i linie pszenicy charakteryzowały się wczesnorannym rytmem otwierania kwiatów oraz pylenia. Stwierdzono, że najwięcej pylników (ok. 50–80%) uwalnianych jest do godziny 12.00, ze szczytem ok. godziny 5.30. Pomiędzy 12.00-17.00 proces pylenia ustaje całkowicie, a od godziny 17.00 obserwuje się ponownie otwieranie pylników, ale mniej intensywne. Najwięcej kwiatów w kłoskach, uwalniających pręciki znajduje się w środkowej części kłosa. Średnio występuje 9,04 pręcików w kłosku oraz

* Badania zrealizowano ze środków NCBiR w ramach projektu Biostrateg III, HYBRE Zintegrowana strategia dla reaktywacji polskiej hodowli pszenicy heterozyjnej; BIOSTRATEGIII/343665/6/NCBR/2017

196,4 pręcików w jednym kłosie. Genotypy pszenicy różnią się efektywnością wyrzucania pylników, która waha się od 9,02% do 54,7%. Masa pyłku dostępnego do zapylania różni się pomiędzy odmianami i liniami i wynosi u najmniej efektywnych 0,54 mg/kłos, a u najbardziej efektywnych 147 mg/kłos.

AGNIESZKA DOBRZYCKA¹
JOANNA WOLKO¹
JAN BOCIANOWSKI²
IWONA BARTKOWIAK-BRODA¹

¹ Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — Państwowy Instytut Badawczy, Radzików, Oddział w Poznaniu

² Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Katedra Metod Matematycznych i Statystycznych
e-mail: a.m.dobrzycka@gmail.com

Analiza wielowymiarowa linii DH, mieszańców pojedynczych i trójliniowych rzepaku ozimego (*Brassica napus* L.) pod względem wybranych cech

Ze względu na duży popyt i wszechstronne zastosowanie nasion rzepaku, będących źródłem oleju wykorzystywanego na cele spożywcze i przemysłowe oraz białka paszowego, zapotrzebowanie na nasiona tej rośliny ciągle rośnie. Programy hodowlane skupiają się głównie na wytwarzaniu odmian o wysokim plonie nasion. Jednym ze sposobów na zwiększenie plonu jest hodowla odmian mieszańcowych. Dobór genotypów rodzicielskich o korzystnych wartościach wielu cech oraz ocenę ich zróżnicowania ułatwia charakterystyka wielocechowa. Wykorzystuje się w tym celu statystyczne metody wielowymiarowe, np. analiza składowych głównych, czy analiza zmiennych kanonicznych, które pozwalają na uproszczenie wielocechowych porównań obiektowych.

Celem pracy była wielowymiarowa charakterystyka zmienności ośmiu cech mieszańców pojedynczych, trójliniowych oraz form rodzicielskich tych mieszańców za pomocą metody analizy zmiennych kanonicznych opartej na modelu wielowymiarowej analizy wariancji dla obserwowanych cech. Materiał roślinny, na którym prowadzono badania obejmuje 182 obiekty: 60 linii DH, 60 mieszańców pojedynczych F₁ (CMS×DH), 60 mieszańców trójliniowych (CMS/DH×Rfo), oraz 2 linie rodzicielskie użyte do otrzymania tych mieszańców (linia męskosterylna CMS *ogura* i linia z genem restorerem Rfo). Doświadczenia polowe prowadzono przez dwa sezony wegetacyjne w układzie bloków losowanych w trzech powtórzeniach. Badany materiał został scharakteryzowany fenotypowo pod względem cech takich jak: wczesność i długość kwitnienia, wysokość roślin, liczba rozgałęzień na roślinie, liczba łuszczyń na roślinie, długość łuszczyń, liczba nasion w łuszczyńce, masa tysiąca nasion.

Na podstawie ocenionych cech fenotypowych wyliczono zmienne kanoniczne oraz wyznaczono odległości Mahalanobisa dla badanych obiektów. Dwie pierwsze zmienne kanoniczne wyjaśniają w sumie 50,38% ogólnej zmienności ($V1 = 33,92\%$ i $V2 = 16,46\%$). W układzie tych zmiennych najbardziej zróżnicowane były linie DH, chociaż większość z nich znajdowała się na wykresie po lewej stronie osi $V2$. Mieszańce $CMS \times DH$ umiejscowiły się w centrum układu, natomiast mieszańce $CMS/DH \times Rfo$ — po prawej stronie osi $V2$. Na prezentowanym posterze przedstawione zostaną także minimalne i maksymalne wartości dystansu fenotypowego dla wszystkich badanych genotypów ($min = 0,479$; $max = 7,791$), także z uwzględnieniem podziału na wartości obserwowane w obrębie poszczególnych grup obiektów oraz pomiędzy tymi grupami. Stwierdzono większe zróżnicowanie badanych obiektów pomiędzy grupami niż wewnątrz nich.

MARIOLA DREGER
TOMASZ WRÓBEL
MILENA SZALATA
MAŁGORZATA GÓRSKA-PAUKSZTA
GRAŻYNA MAŃKOWSKA
MARCIN OŻAROWSKI
KAROLINA WIELGUS

Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich, Zakład Biotechnologii
ul. Wojska Polskiego 71b, 60-630 Poznań
e-mail: mariola.dreger@iwnirz.pl

Zastosowanie mikropropagacji w celu otrzymania i selekcji genotypów konopi włóknistych o potencjale medycznym*

Konopie (*Cannabis sativa* L.) są coraz szerzej wykorzystywane do celów medycznych, a postępowi badań w tej dziedzinie towarzyszy ciągły wzrost popytu na surowiec o określonym profilu kannabinoidów. Ograniczenia uprawy tych roślin, wynikające z obostrzeń prawnych, pociągają za sobą nacisk na selekcję odmian pozbawionych działania psychotycznego, warunkowanego zawartością THC, a bogatych w inne kannabinoidy o znaczeniu medycznym jak np.: kannabidiol (CBD). Dlatego konieczne jest wdrożenie nowoczesnych technologii w programy hodowlane nowych, ulepszonych odmian konopi o potencjale farmaceutycznym. Zastosowanie mikropropagacji umożliwia wydajne namnażanie genotypów roślin o pożądanych cechach w ściśle kontrolowanych warunkach. Celem badań jest opracowanie wydajnego protokołu mikropropagacji wybranych genotypów konopi siewnych do otrzymywania wysokiej jakości materiału rozmnożeniowego, a w dalszej perspektywie uzyskania nowych odmian o potencjale medycznym.

Obiektem badawczym były dwie krzyżówki konopi siewnych. Nasiona do incjacji kultur pochodziły z Banku Genów Instytutu Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich. Epikotyle sterylnych siewek wykładano na pożywkę ½ MS z kwasem 3-indoliloctowym IAA (0,5 mg/l) w celu regeneracji pędów. Gdy pędy były dobrze wykształcone (wiek ok.

* Badania sfinansowano ze środków Narodowego Centrum Badań i Rozwoju w ramach projektu nr: INNOMED/I/11/NCBR/2014 oraz programu wieloletniego Ministerstwa Rolnictwa i Rozwoju Wsi (RM 171/2017).

3 tygodni) odcinano wierzchołek pędu by pobudzić pąki kątowe do wzrostu i otrzymać pędy boczne. Odciętą część wierzchołkową dzielono na eksplantaty: wierzchołek pędu (WP) i odcinki węzłowe (OW), po czym wykładano na pożywkę ukorzeniającą. Pozostałą część pędu dalej inkubowano przez następne 2–3 tygodnie do otrzymania nowych pędów bocznych. Zregenerowane pędy boczne cięto ponownie, zliczając indywidualnie z każdego pędu liczbę eksplantatów wtórnych: WP i OW. Eksplantaty umieszczano pojedynczo w pojemnikach zawierających pożywkę ukorzeniającą. Kultury pasażowano w odstępach 3–4 tygodni. Warunki prowadzenia kultur: temperatura: 25°C; fotoperiod 16h/8 h; natężenie światła: 80–120 $\mu\text{mol/s/m}^2$. Zregenerowane rośliny w wieku 3 tygodni oceniano pod względem: przeżywalności (%), ukorzenia (%), wysokości pędu (cm) i liczby korzeni. Ukorzone rośliny o wysokości około 2 cm i prawidłowo rozwiniętym systemie korzeniowym aklimatyzowano do warunków *ex vitro*.

Dotychczas otrzymano 32 genotypy konopi. Średnia wydajność metody namnażania oscylowała w granicach od 5,4 do 7,9 eksplantatów w przeliczeniu na jeden pęd i była zależna od genotypu. Wydajność zastosowanej metody liczona dla wszystkich linii wynosiła $6,6 \pm 2,35$ SD eksplantatów w przeliczeniu na jeden pęd. Przeżywalność eksplantatów była wysoka i wynosiła od 98% do 100%. Odsetek ukorzonych pędów wynosił od 57% do 69%. Zauważono znaczne różnice w regeneracji obu typów eksplantatów (WP i OW), prawidłowość ta dotyczyła wszystkich linii, niezależnie od genotypu. Niemal dwukrotnie więcej eksplantatów WP niż OW ukorzeniało się i formowało większą liczbę korzeni (72% versus 45%; 79% versus 39%; 80% versus 59%). Średnia wysokość pędów zregenerowanych z WP była ok. 2-krotnie wyższa od pędów zregenerowanych z OW. Zaobserwowano różnice osobnicze (między genotypami) odnośnie regeneracji i tempa wzrostu zarówno pędu jak i korzeni (przeciętnie od 2 do 4 tygodni). Przeżywalność roślin po aklimatyzacji do warunków *ex vitro* wynosiła 100%, a do warunków hali wegetacyjnej 85%.

Wprowadzenie modyfikacji metody mikrorozmnażania poprzez odcinanie wierzchołka pędu pozwoliło na regenerację pędów bocznych, a przez to: zwiększenie całkowitej liczby eksplantatów, w tym 3-krotne zwiększenie liczby wierzchołków pędów, które lepiej się ukorzeniały i regenerowały pędy. Umożliwiło to namnażanie linii i otrzymanie zaaklimatyzowanych roślin, z których pobrano próby do oceny zawartości kannabinoidów.

LITERATURA

- Wróbel T, Dreger M, Wielgus K, Słomski R. 2018. The application of plant *in vitro* cultures in cannabinoid production. *Biotechnol Lett.*;40 (3): 445 — 454.
- Murashige T., Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant* 15: 473 — 497.

KINGA DZIURKA
MICHAŁ DZIURKA
ILONA CZYCYŁO-MYSZA
KAMILA KAPŁONIAK
IZABELA MARCIŃSKA
ANGELIKA NOGA
MARZENA WARCHOŁ
EDYTA SKRZYPEK

Instytut Fizjologii Roślin im. Franciszka Górskiego Polskiej Akademii Nauk, Kraków
e-mail: k.dziurka@ifr-pan.edu.pl

Czy kwas 4-chloro-indolilo-3-octowy może być hormonem śmierci w organach generatywnych owsa?*

Termin „hormon śmierci” zaistniał w naukach przyrodniczych pod koniec lat osiemdziesiątych ubiegłego stulecia (Engvild, 1989) i dotyczy głównie chlorowcopochodnych auksyn. Sugeruje się, że chlorowcopochodne auksyny syntetyzowane w organach generatywnych oraz nasionach mogą inicjować proces starzenia organów wegetatywnych roślin monokarpicznych. Przedstawiciel tej grupy hormonów, kwas 4-chloroindolilo-3-octowy (4Cl-IAA), był wykrywany głównie w nasionach roślin strączkowych (Reinecke, 1999). Natomiast Dziurka i in. (2016) wykazali obecność 4Cl-IAA w zalążni owsa trzy tygodnie po przeprowadzeniu krzyżowania oddalonego z kukurydzą, w przypadku, gdy nie doszło do powstania haploidalnego zarodka. Można przypuszczać, że w zalążniach, w których nie rozwinął się haploidalny zarodek zapoczątkowany został proces ich starzenia i obumierania. Celem badań było potwierdzenie występowania 4Cl-IAA w organach generatywnych owsa, tj. pylnikach i słupkach oraz zweryfikowanie hipotezy, że 4Cl-IAA może indukować proces starzenia wyżej wymienionych organów.

Przeprowadzono analizę zawartości 4Cl-IAA w niedojrzałych i dojrzałych pylnikach owsa, a także w słupkach niezapylnych oraz zapylnych pyłkiem kukurydzy (3, 7, 14 i 21 dni po zapyleniu). Materiał roślinny stanowił owies odmiany Krezus oraz kukurydza odmiany Waza. 4Cl-IAA oznaczono metodą HPLCMS/MS (Dziurka i in., 2016).

* Badania finansowano z projektu Miniatura DEC-2017/01/X/NZ9/01309.

Wykazano, iż niedojrzałe pylniki owsa zawierają kilkanaście razy więcej 4Cl-IAA w porównaniu z dojrzałymi (odpowiednio 99,05 i 7,63 ng/g s.m.). Nie zaobserwowano różnic w stężeniu 4Cl-IAA pomiędzy słupkami owsa w 3, 7, 14 i 21 dniu po zapyleniu pyłkiem kukurydzy. Dojrzałe, niezapylone słupki owsa zawierały około trzykrotnie więcej 4Cl-IAA aniżeli słupki zapylone pyłkiem kukurydzy w 3, 7, 14 i 21 dniu po zapyleniu (odpowiednio 14,79 i średnio 4,15 ng/g s.m.). W wyniku przeprowadzonych analiz potwierdzono obecność 4Cl-IAA w organach wegetatywnych owsa. Odrzucono hipotezę zakładającą możliwość indukowania przez tę chlorowcopochodną procesu starzenia pylników i słupków owsa ze względu na fakt, iż niedojrzałe pylniki oraz niezapylone słupki zawierały więcej 4Cl-IAA w porównaniu z dojrzałymi pylnikami oraz zapylonymi słupkami.

LITERATURA

- Dziurka K., Skrzypek E., Warchoń M., Noga A., Kapłoniak K., Juzoń K., Czyczyło-Mysza I., Marcińska I., Dziurka M. 2016. Death hormone in the development of oat haploid embryos. *Acta Biologica Cracoviensia series Botanica* 58 (2): 14.
- Dziurka M., Janeczko A., Juhasz C., Gullner G., Oklestkova J., Novak O., Saja D., Skoczowski A., Tobias I., Barna B. 2016. Local and systemic hormonal responses in pepper leaves during compatible and incompatible pepper-tobamovirus interactions. *Plant Physiology and Biochemistry* 109: 355 — 364.
- Engvild K. 1989. The death hormone hypothesis. *Physiologia Plantarum* 77: 282 — 285.
- Reinecke D. M. 1999. 4-Chloroindole-3-acetic acid and plant growth. *Plant Growth Regulation* 27: 3 — 13.

BARBARA GOLIŃSKA**PIOTR GOLIŃSKI**

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Katedra Łąkarstwa i Krajobrazu Przyrodniczego

e-mail: barbara.golinska@up.poznan.pl

Ocena wytrzymałości na zerwanie blaszek liściowych materiałów hodowlanych i odmian traw za pomocą nowoczesnego stanowiska pomiarowego

W hodowli traw przeznaczonych na pastwiska ważną cechą biologiczną jest wytrzymałość na zerwanie liści, w szczególności blaszek liściowych. Łatwo zrywalne pędy vegetatywne i liście gatunków występujących w runi pastwiskowej zmniejszają nakład pracy pasących się zwierząt potrzebny na pobranie dzienniej dawki pokarmowej i zwiększają efektywność wykorzystania paszy. Zróżnicowanie genotypów traw w zakresie wytrzymałości na zerwanie blaszek liściowych pozwala na odpowiednią selekcję materiałów hodowlanych w kierunku doskonalenia odmian pastwiskowych. Dotychczasowe badania wytrzymałości na zerwanie liści traw były prowadzone z wykorzystaniem prostych urządzeń działających na zasadzie dynamometrów. Aktualnie istnieje możliwość zastosowania nowoczesnych urządzeń pomiarowych, znacznie zwiększających wiarygodność badań i trafność wnioskowania. Celem badań była ocena wytrzymałości na zerwanie blaszek liściowych materiałów hodowlanych i odmian wybranych gatunków traw za pomocą nowoczesnego stanowiska pomiarowego.

Badania przeprowadzono w latach 2012–2016 na materiale roślinnym pozyskiwanym z kilku doświadczeń polowych założonych w Stacji Doświadczalnej Katedry Łąkarstwa i Krajobrazu Przyrodniczego Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu zlokalizowanej w Brodach. W doświadczeniach założonych w układzie bloków losowanych w 3 powtórzeniach testowano wartość użytkową odmian i rodów hodowlanych *Lolium perenne*, *Festuca pratensis*, *Festuca arundinacea*, *Phleum pratense* oraz *Dactylis glomerata*. W latach użytkowania pozyskiwano trzy odrosty oraz stosowano nawożenie NPK w dawkach, odpowiednio, 120 kg·ha⁻¹ N, 40 kg·ha⁻¹ P₂O₅ i 80·kg·ha⁻¹ K₂O. Blaszkę liściową pobierano losowo z każdego poletka w stadium dojrzałości pastwiskowej runi w 30 replikacjach. Badania prowadzono w każdym odroście na blaszkach liściowych

pierwszego, w pełni wykształconego liścia, licząc od szczytu pędu. Analizę wytrzymałości na zerwanie blaszek liściowych wykonano na materiale świeżym, w dniu zbioru liści. Jednocześnie prowadzono badania biometryczne, polegające na określeniu masy liści oraz szerokości blaszek liściowych.

W badaniach wytrzymałości na zerwanie blaszek liściowych traw zastosowano prototypowe stanowisko pomiarowe. Zasadniczym elementem tego stanowiska jest maszyna wytrzymałościowa do zrywania materiału biologicznego w zakresach 30 N i 300 mN z wykorzystaniem podzespołów firmy HBM (Höttinger Baldwin Messtechnik). Jej elementami składowymi są czujniki tensometryczne siły o odpowiednich zakresach znamionowych, a także specjalne wzmacniacze pomiarowe z przetwarzaniem analog/cyfra o rozdzielczości 24 bity, z których dane są gromadzone za pomocą rejestratora cyfrowego pracującego w systemie operacyjnym MS Windows.

Przeprowadzenie precyzyjnych pomiarów wytrzymałości na zerwanie blaszek liściowych stwarza możliwość oceny różnych genotypów traw w obrębie gatunku oraz dokonania porównań pomiędzy gatunkami, z punktu widzenia struktury fizycznej runi pastwiskowej. Spośród badanych traw, najmniejszą wytrzymałość na zerwanie blaszek liściowych stwierdzono u diploidalnych genotypów *Lolium perenne*, a największą u *Dactylis glomerata*.

JOANNA GRYNIA

MICHAŁ ROKICKI

URSZULA WOŹNA-PAWLAK

Poznańska Hodowla Roślin Sp. z o.o. ul. Kasztanowa 5, 63-004 Tulce

e-mail: joanna.grynja@phr.pl

Identyfikacja genów warunkujących odporność pszenicy ozimej na porażenie przez grzyb *Blumeria graminis* s.sp. *tritici* przy użyciu markerów molekularnych

Mączniak prawdziwy zbóż i traw powodowany przez grzyb *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* jest najpowszechniej występującą chorobą pszenicy ozimej (*Triticum aestivum* L.). Zwalczanie chorób poprzez wykorzystanie hodowli odpornościowej uważa się za najbardziej właściwe, zarówno ze względów ekonomicznych, jak i środowiskowych. Pojawianie się nowych wirulentnych patotypów dla dotychczas odpornych odmian jest podstawowym problemem hodowli odpornościowej. Uzyskanie trwałej odporności możliwe jest poprzez wprowadzenie do genomu rośliny kombinacji kilku genów warunkujących odporność na choroby. Identyfikacja genów sprzężonych z cechami użytkowymi, w tym odporności na choroby, przy użyciu markerów molekularnych jest nieocenionym czynnikiem przyspieszającym hodowlę roślin. Markery molekularne stały się niezbędnym narzędziem diagnostycznym nowoczesnej hodowli roślin uprawnych, znalazły zastosowanie w selekcji materiału roślinnego — MAS (ang. Marker Assisted Selection), która odbywa się na podstawie polimorfizmu markera molekularnego.

Celem przeprowadzonych badań była identyfikacja genów *Pm2*, *Pm3a* i *Pm6* w odmianach pszenicy ozimej za pomocą specyficznych markerów molekularnych oraz polowa ocena stopnia porażenia tych odmian przez grzyb *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*.

Materiał roślinny do badań stanowiły odmiany pszenicy ozimej Poznańskiej Hodowli Roślin Sp. z o.o. (PHR) oraz odmiany pochodzące z kolekcji odmian zgromadzonej przez PHR. Ocenę stopnia porażenia roślin pszenicy ozimej przez grzyb *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* przeprowadzono w warunkach naturalnego porażenia zgodnie z przyjętą przez COBORU metodyką w skali 9-stopniowej (1 — pełna podatność, 9 — pełna odporność). Z ocenionych odmian pszenicy ozimej wyizolowano DNA do analiz molekularnych. Do identyfikacji genu *Pm2* wykorzystano specyficzny marker *Xcfd81*. Marker *Pm3a* posłużył

do stwierdzenia w analizowanych odmianach obecności genu *Pm3a*. Identyfikacje genu *Pm6* wykonano przy użyciu specyficznego markera *NAU/STS_{BCD135-2}*.

Oceniane odmiany pszenicy ozimej wykazały zróżnicowanie pod względem stopnia porażenia przez grzyb *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* powodującego mączniaka prawdziwego zbóż i traw. Na podstawie przeprowadzonych analiz molekularnych stwierdzono zróżnicowanie badanych odmian pszenicy ozimej pod względem obecności genu *Pm2* identyfikowanego przy użyciu markera *Xcfd81*. Przeprowadzona reakcja PCR z wykorzystaniem markera specyficznego dla genu *Pm3a* również wykazała zróżnicowanie analizowanych odmian pod względem obecności tego genu. W wyniku reakcji PCR z użyciem starterów markera *NAU/STS_{BCD135-2}* stwierdzono zróżnicowanie ocenianych odmian pod względem obecności produktu amplifikacji o wielkości 230 pb świadczącego o obecności genu *Pm6*.

Identyfikacja genów warunkujących odporność na choroby ułatwia wprowadzanie komponentów odpornych do nowotworzonych odmian oraz ułatwia proces selekcji a tym samym przyspiesza hodowlę twórczą nowych odmian pszenicy ozimej.