

## Zadanie nr 102

### Otrzymywanie populacji homozygotycznych roślin buraka ćwikłowego z zastosowaniem embriogenezy gametycznej

**Kierownik zadania: prof. dr hab. Krystyna Górecka**

Celem badań było wykorzystanie androgenezy i gynogenezy do wytwarzania roślin buraka ćwikłowego przydatnych do hodowali nowoczesnych mieszańców tego gatunku.

W 2012 roku prowadzono doświadczenia na odmianach i liniach hodowlanych buraka. Badano wpływ pożywki indukcyjnej na efektywność embriogenezy w kulturach pylnikowych i kulturach załączków. W innym doświadczeniu badano proces adaptacji roślin gynogenetycznych. Zaadaptowane rośliny oceniano pod względem ploidalności i homozygotyczności. Na roślinach o pojedynczym garniturze chromosomowym prowadzono badania nad różnymi sposobami podwajania liczby chromosomów.

Kultury pylnikowe buraka zakładano na dwóch wariantach pożywki do indukcji N6 (Chu, 1975). Pierwszy wariant zawierał sacharozę 100 g/l 0,2 mg/l BA i 0,5 mg/l IAA (N6-100-BA,IAA), drugi 100 g/l sacharozy 0,1 mg/l 2,4-D (N6100-2,4D). Do kultur załączków zastosowano pożywki na bazie B5 (Gamborg i in., 1968) z 100 g/l sacharozy. Pierwsza zawierała, 0,2 mg/l BA, 0,5mg/l IAA oraz putrescynę (B5-100-BA,IAA+P), druga zawierała 0,1 mg/l 2,4-D (B5-100-2,4-D).

Rośliny gynogenetyczne uzyskane w 2011 r. wysadzano w podłoże torfowo-piaskowe i umieszczono tuneliku foliowym zlokalizowanym w komorze wzrostowej o regulowanych parametrach oświetlenia. Po około 4 tygodniach od wysadzenia tuneliki wietrzono w celu wyrównania wilgotności z otoczeniem. Zaadaptowane rośliny poddawano badaniom ploidalności przy użyciu cytometru przepływowego Partec PAII. Rośliny o diploidalnej liczbie chromosomów analizowano przy użyciu dwu systemów izoenzymatycznych PGI (izomeraza fosfoglukozoizomeraza E.C. 5.3.1.9) i AAT (aminotransferaza asparaginianowa E.C. 2.6.1.1). Elektroforezę prowadzono na 10% żelu skrobiowym wg Gottlieba (1973). Rozdział enzymów wykonano wg metody Selander i in. (1971). Dla wizualizacji polimorfizmu izoenzymów zastosowano metodę Weeden i Gottlieb (1980).

Zastosowano 4 sposoby podwajania chromosomów: 1) U roślin ukorzenionych *in vitro* zalewano korzenie w probówce na 6 godzin 0,1 % kolchicyną z dodatkiem 4% DMSO i 25 ppm GA3 i wysadzono do mikropalet, 2) tak samo jak w punkcie 1- czas moczenia 20 godzin, 3) dwukrotnie w odstępach 2-dniowych na wierzchołek wzrostu zaadaptowanych roślin nanoszono najpierw 0,65% roztwór kolchicyny a następnie zastosowano w stężeniu 1,3%, 4) rośliny po przesadzeniu z mikropalet do doniczek były tak samo traktowane jak opisano w punkcie 2.

W kulturach pylnikowych, dla obu badanych linii większą liczbę zarodków otrzymano na pożywce N6-100-BA,IAA. Natomiast w kulturach załączków lepsza okazała się pożywka (B5-100-BA,IAA+P). Ocena ploidalności roślin u odmiany Czerowna Kula w pierwszej partii wykazała obecność 68,1% haploidów a w drugiej 100%. U linii 3/2010, haploidów było odpowiednio 42,1%, i 17,4% oraz tetraploidów 15% i 82,1%.

Izoenzymatyczna analiza homozygotyczności roślin o podwojonym garniturze wykazała, że rośliny były w 97% homozygotami po względem PGI i w 100% AAT. W obecnym roku w stosunku do lat poprzednich zaobserwowano, że przeżywał wyższy procent roślin po wyjęciu ze szkła i wysadzeniu do podłoża.

Porównując 4 zastosowane sposoby diploidyzacji stwierdzono różnice genotypowe w reakcji na traktowanie kolchicyną. Nie stwierdzono strat roślin gdy traktowano wierzchołki wzrostu dwukrotnie 0,65% kolchicyną i jeden raz 1,3% kolchicyną u starszych roślin. U młodszych roślin straty były na poziomie 50%.