

Zadanie 77: Hybrydyzacja oddalona gatunków *P. cerasifera* (ałycza), *P. armeniaca* (morela), *P. salicina* (śliwa japońska), *P. domestica* (śliwa domowa) w celu zwiększenia bioróżnorodności genetycznej w obrębie rodzaju *Prunus*

Hybrydyzacja gatunków w obrębie rodzaju *Prunus* jest dość trudna, a jeśli już zachodzi, to charakteryzuje się niską efektywnością. Dlatego w Instytucie Ogrodnictwa prowadzone są badania nad możliwością zwiększenia bioróżnorodności genetycznej w obrębie rodzaju *Prunus* poprzez zastosowanie hybrydyzacji oddalonych gatunków ałycza, śliwa japońska, morela oraz śliwa domowa metodą hodowli klasycznej przy wykorzystaniu techniki *embryo-rescue*. Przyjęta hipoteza badawcza zakłada, że przy pomocy konwencjonalnych metod hodowli (krzyżowanie tradycyjne) możliwy jest transfer genów warunkujących cenne cechy biologiczne między wymienionymi gatunkami i uzyskanie nowych nie występujących w naturze genotypów, posiadających skumulowane pożądane cechy występujące w obrębie różnych gatunków z rodzaju *Prunus*. Genotypy te pozwolą poszerzyć istniejącą bioróżnorodność w obrębie tego rodzaju. W ramach zadania w 2019 r. prowadzono 6 tematów badawczych.

Temat badawczy 1. Analiza żywotności pyłku form ojcowskich moreli, śliwy japońskiej i ałyczy.

Badano żywotność pyłku form ojcowskich wykorzystanych w zrealizowanym w 2019 r. programie krzyżowań oddalonych (metoda 1 – barwienie 2% acetoorceiną) oraz jego zdolność do kiełkowania w warunkach *in vitro* (metoda 2) i *in vivo* (metoda 3 – wzrost łagiewki pyłkowej). Pierwszą i drugą metodę zastosowano dla oceny jakości pyłku 13 genotypów ojcowskich. W metodzie trzeciej, polegającej na obserwacji wzrostu łagiewki pyłkowej, użyto materiału biologicznego z 14 kombinacji krzyżowań (śliwa japońska × morela). Wyniki barwienia acetoorceiną wskazywały na wysoką żywotność pyłku, ale nie przekładały się na jego zdolność do kiełkowania. Niezależnie od zastosowanej pożywki najniższą zdolność kiełkowania miał pyłek śliwy japońskiej (21-33% kiełkujących ziaren), a najwyższą moreli (48-75%). Wyniki te wskazują, że zastosowanie ocenianych genotypów śliwy japońskiej jako form ojcowskich może wpływać limitująco na liczbę uzyskiwanych owoców. Obserwacje w warunkach *in vivo* wykazały, że łagiewka pyłkowa moreli dociera do komórki jajowej śliwy japońskiej w ciągu 72 godzin od zapylenia. Pyłek kiełkował na znamionach słupków w każdej z analizowanych kombinacji krzyżowań, ale tylko dla 6 z 14 kombinacji łagiewka pyłkowa osiągnęła poziom bliski położenia komórki jajowej. Największą liczbę słupków, w których łagiewka dotarła do poziomu zalążni zaobserwowano w kombinacjach krzyżowań 'Czarnuszka' × M II-42 (30% słupków) oraz 'Czarnuszka' × M II-19 (20%).

Temat badawczy 2. Ocena możliwości krzyżowania różnych genotypów z rodzaju *Prunus* (ałycza, morela, śliwa japońska).

Badano możliwość i efektywność krzyżowania oddalonego wybranych genotypów moreli, śliwy japońskiej i ałyczy metodami hodowli klasycznej. Program zapyleń międzygatunkowych wykonany został w wysokim tunelu foliowym w Sadzie Pomologicznym w Skierniewicach (warunki częściowo kontrolowane) oraz w polu w Sadzie Doświadczalnym w Dąbrowicach. Wykonano 20 kombinacji krzyżowań, w których zapylono 8 088 kwiatów. Łącznie uzyskano 1077 owoców/zawiązków owoców, co stanowi 13,3% liczby zapylnych kwiatów. Najlepsze zawiązywanie owoców w stosunku do liczby zapylnych kwiatów uzyskano w krzyżowaniach śliwa japońska × morela (15,6%) oraz śliwa japońska × ałycza (12,1%). W krzyżowaniu wstecznym mieszańca śliwy japońskiej i ałyczy 'Najdiena' ze śliwą japońską 'Blue Gigant' (śliwa japońska × ałycza) × śliwa japońska uzyskano tylko 6% owoców a w krzyżowaniu (śliwa japońska × morela) × morela nie uzyskano owoców. Wyniki badań wskazują, że hybrydyzacja oddalona krzyżowanych gatunków, przeprowadzona metodami hodowli konwencjonalnej, odznacza się małą efektywnością, ale możliwe jest uzyskanie nasion i siewek mieszańcowych.

Temat badawczy 3. Ocena zdolności kiełkowania uzyskanych nasion mieszańcowych.

Badano zdolność kiełkowania nasion, uzyskanych z krzyżowań oddalonych wybranych gatunków z rodzaju *Prunus*. Wydobyte z owoców nasiona mieszańcowe śliwy japońskiej, moreli i ałyczy dzielono na dwie grupy; prawidłowo wykształcone - żywotne oraz zdeformowane – niezdolne do kiełkowania. Z uzyskanych 432 nasion 337 szt. (78,0%) było dobrze wykształcone, natomiast 95 nasion (22,0%) miało zdeformowane liście. Nasiona prawidłowo wykształcone zostały odkażone, wymieszane z wilgotnym podłożem do stratyfikacji (perlit) i poddane procesowi stratyfikacji. Pomimo długotrwałej stratyfikacji i pozbawienia nasion endokarpów nie wszystkie nasiona były zdolne do kiełkowania. Pierwsze nasiona skiełkowały po 100 dniach stratyfikacji. Łącznie spośród 337 nasion dobrze wykształconych skiełkowało 323 szt., co stanowi 95,8%. Najlepiej kiełkowały nasiona śliwy japońskiej D 17-73 i 'Czarnuszka' (97,6% i 97,1% skiełkowanych nasion), natomiast najslabiej nasiona mieszańca śliwy japońskiej i ałyczy 'Najdiena' (70,0% skiełkowanych nasion). Wstępne wyniki

potwierdzają, że zdolność kiełkowania nasion uzależniona jest od genotypu krzyżowanych form rodzicielskich.

Temat badawczy 4. Optymalizacja i prowadzenie hodowli zarodków *in vitro*. Optymalizowano warunki do prawidłowego rozwoju 10-tygodniowych zarodków, uzyskanych w wyniku hybrydyzacji oddalanej w obrębie rodzaju *Prunus*. Do badań wykorzystano 112 zawiązków owoców, uzyskanych z 10 kombinacji krzyżowań oddalonych. Z uzyskanych zawiązków wyizolowano 92 nasiona mieszańcowe. Kontrolę stanowiły nasiona wyizolowane ze 180 zawiązków uzyskanych w wyniku zapłodnienia wewnątrzgatunkowego (z wolnego zapylenia). Wydobyte z pestek nasiona poddawano sterylizacji i wykładano je na pożywki MS (Murashige i Skoog) i WPM (Lloyd i McCown) i C2d (Chee i Pool). W celu przełamania spoczynku nasiona poddano 10-tygodniowej stratyfikacji w temperaturze 2°C, prowadząc równocześnie obserwacje zmian morfologicznych. Po okresie stratyfikacji z nasion usuwano okrywe nasienną i wyizolowane zarodki przekładano na świeże pożywki o takim samym składzie. Po 10 tygodniach w chłodni żywotnych pozostało 70 zarodków z krzyżowań międzygatunkowych i 146 zarodków z wolnego zapylenia. Z zarodków uzyskanych z krzyżowań międzygatunkowych uzyskano mniej roślin niż z zarodków uzyskanych w wyniku zapłodnienia wewnątrzgatunkowego (z wolnego zapylenia). W fitotronie uzyskano odpowiednio 28 mieszańców międzygatunkowych oraz 104 rośliny kontrolne (wewnątrzgatunkowe). Z zarodków wyłożonych na pożywkę MS (Murashige i Skoog) uzyskano więcej roślin niż z zarodków wyłożonych na pożywkę WPM (Lloyd i McCown) i C2d (Chee i Pool). Najwięcej roślin uzyskano z zarodków śliwy japońskiej D 17-73.

Temat badawczy 5. Analizy molekularne form rodzicielskich i uzyskanych siewek mieszańcowych. Opracowano profile genetyczne oraz potwierdzono status mieszańca wybranych genotypów uzyskanych w wyniku hybrydyzacji oddalanej. Materiał do analiz stanowiły rośliny z rodzaju *Prunus*: 40 genotypów potomnych uzyskanych w wyniku planowanego krzyżowania oddalonego prowadzonego w poprzednich latach oraz jeden genotyp nowej formy matecznej (klon nr MMG K4 13 2013 77/13). Materiał genetyczny izolowano z młodych liści metodą opartą na CTAB, opisaną przez Doyle i Doyle. Łącznie przeprowadzono 1.928 reakcje amplifikacji, w których wygenerowano 133 amplikony, w tym 115 polimorficznych o długości od 110 do 220 pz. Do opracowania profilu genetycznego klonu nr MMG K4 13 2013 77/13 zastosowano zestaw 20 par oligonukleotydów, w reakcji z którymi uzyskano 33 amplikony o długość od 90 do 230 pz. Do identyfikacji mieszańców międzygatunkowych z rodzaju *Prunus* zastosowano zestaw 7 par starterów, wytypowanych w pierwszym roku badań. Status mieszańca z planowanego zapylenia potwierdzono dla wszystkich testowanych genotypów.

Temat badawczy 6. Ocena wybranych cech biologicznych mieszańców i ich form rodzicielskich. Oceniono wybrane cechy biologiczne siewek mieszańcowych, uzyskanych w wyniku krzyżowania oddalonego różnych genotypów ałyczy, moreli, śliwy japońskiej, śliwy domowej. W 2019 roku prowadzono ocenę 180 genotypów (siewek mieszańcowych) uzyskanych w latach 2014-2017. Zakwitło 125 siewek mieszańcowych (69,4% ocenionych genotypów). Dużo siewek, tak jak w roku poprzednim, wykazywało zaburzenia w rozwoju kwiatów. W kwiatach znajdowało się od kilku do kilkunastu słupków, przy jednoczesnym braku płatków kwiatowych lub zredukowanej ich wielkości. Łącznie zaowocowały 42 siewki czyli 23,3% ocenianej populacji. Z 19 siewek posadzonych w 2015 roku zaowocowało 7 (15,6%), z 12 siewek posadzonych w 2016 r. (krzyżowania 2014 r.) zaowocowało 11 (91,7%), a z 78 siewek posadzonych w 2016 r. (krzyżowania 2015 r.) zaowocowało 21 (61,5%). W 2019 r. zaowocowały 3 siewki (6,7%), uzyskane i posadzone w roku 2017. Podobnie jak w roku poprzednim wyróżniającą się populacją były siewki z kombinacji krzyżowań mieszańca śliwy japońskiej i ałyczy 'Najdiena' ze śliwą japońską 'Blue Gigant'. W czwartym roku wzrostu (krzyżowanie 2014 rok) 10 z 11 ocenionych siewek zawiązało owoce. Z 12 ocenionych siewek posadzonych w 2016 r. (trzeci rok wzrostu) zaowocowało 9 szt. Natomiast z 9 siewek posadzonych w 2017 r. już w drugim roku wzrostu zaowocowały 3 szt. Siewki mieszańcowe uzyskane z krzyżowania tych form rodzicielskich na ogół odznaczały się średnim lub intensywnym owocowaniem i wytwarzaniem atrakcyjnych owoców. Wytwarzane przez niektóre z tych siewek owoce odznaczały się dobrym odchodzeniem miąższu od pestki, co w przypadku owoców śliwy japońskiej jest rzadką cechą. W roku 2019 rozmnożono kolejnych 40 genotypów siewek mieszańcowych, które jesienią w liczbie 105 drzew posadzono w kwaterze selekcyjnej w Dąbrowicach. Każdy genotyp siewki został posadzony w liczbie od 1 do 3 drzewek.

Poster prezentowany podczas XV Eucarpia Symposium Fruit Breeding and Genetics, Prague (Czech Republic), 3-7 June, 2019: Szymajda M., Idczak B., Żurawicz E. **Influence of selected parental forms on fruit and seed set in distant hybridization of *Prunus salicina* Lindl. (Japanese plum) and *Prunus armeniaca* L. (apricot).**



Influence of selected parental forms on fruit and seed set in distant hybridization of *Prunus salicina* Lindl. (Japanese plum) and *Prunus armeniaca* L. (apricot)

Marek Szymajda, Bogusława Idczak, Edward Żurawicz

Research Institute of Horticulture, ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice, Poland
e-mail: Marek.Szymajda@inhort.pl



INTRODUCTION

Distant hybridization is one of the important plant breeding techniques. This technique is used when there is no source of genes within a given species that determine characteristics of cultivars important for breeders and users. However, usually crossing of different species of plants is difficult or even impossible to perform because of pre-zygotic and post-zygotic crossability barriers (morphological, anatomical, physiological, biochemical or genetic). The pre-zygotic barriers prevent fertilization and embryo formation, while post-zygotic barriers disturb embryo development.



Flowers of Japanese plum at the closed white bud stage, just before emasculation

AIM OF THE STUDY

The aim of the research was to assess the effectiveness of distant hybridization of selected *Prunus* genotypes belonging to species *P. salicina* and *P. armeniaca*.



Emasculated flowers of Japanese plum ready for depositing of apricot pollen on the stigma of pistil

MATERIAL AND METHODS

The research was carried out in 2015-2018 on trees growing in the collection of varieties in the Experimental Orchard in Dąbrowice and in a high tunnel in the Pomological Orchard in Skierniewice (Central Poland). Eight maternal genotypes of *P. salicina* and eight paternal genotypes of *P. armeniaca* were crossed.



Fruit set and fruit of Japanese plum obtained from interspecific crossing



Well-developed seed

Malformed seed

Germinating seeds

RESULTS

Relatively to the number of pollinated flowers, the best maternal forms at setting fruit, on average for the four years of the study, were 'D 17-73' (25.1%) and 'Trumlar' (22.0%) genotypes (on average for the apricot paternal forms used), while the poorest were 'Angeleno' (3.3%) and 'OSL 57' (3.7%). The highest number of fruits was obtained by crossing 'D 17-73' × M I-7 (36.8%), 'D 17-73' × 'Early Orange' (31.9%) and 'Trumlar' × 'Early Orange' (30.0%). Apart from good fruit-setting, 'D 17-73' and 'Trumlar' also produced well-developed seeds with good germination capacity.

CONCLUSION

The study showed that the effectiveness of distant hybridization of *P. salicina* with *P. armeniaca* depends largely on the genotype of *P. salicina* used as a maternal parent.

The 'D 17-73' and 'Trumlar' genotypes are good maternal forms in distant hybridization of *P. salicina* with *P. armeniaca*.

The results obtained in the framework of the project No. 77 funded by the Polish Ministry of Agriculture and Rural Development.

Table 1. Fruit and seed set in distant hybridization of Japanese plum and apricot (Experimental Orchard, Dąbrowice, 2015-2018)

No.	Cross-combinations in distant hybridization of <i>P. salicina</i> × <i>P. armeniaca</i>	No. of pollinated flowers	No. of fruits obtained	Fruits from the No. of flower pollinated (%)	No. of well-developed seeds obtained	Well-developed seeds from the No. of flower pollinated (%)
1	OSL 58 × Early Orange	452.7	15.3	2.7	8.0	41.0
2	OSL 58 × Sirena	350.3	24.7	7.0	20.3	82.0
	Total/average	803.0	40.0	4.9	28.3	61.5
3	OSL 57 × Early Orange	241.7	9.0	2.7	4.3	48.1
4	OSL 57 × Sirena	227.7	13.0	4.7	8.7	82.9
	Total/average	469.3	22.0	3.7	13.0	65.5
5	OSL 65 × Early Orange	323.7	26.0	7.9	17.0	66.4
6	OSL 65 × Sirena	236.7	15.3	6.9	13.3	92.6
	Total/average	560.3	41.3	7.4	30.3	79.5
7	Angeleno × Early Orange	346.7	20.7	3.9	11.3	30.9
8	Angeleno × Sirena	367.7	13.0	2.7	7.7	42.6
	Total/average	714.3	33.7	3.3	19.0	36.8
9	Blue Gigant × Early Orange	309.3	22.3	6.8	2.3	10.3
10	Blue Gigant × Sirena	281.7	9.3	2.8	1.3	21.3
	Total/average	591.0	31.7	4.8	3.7	15.8
11	Czernuszka × Early Orange	228.8	11.0	4.1	7.3	61.2
12	Czernuszka × Harkot	207.0	4.0	2.5	3.3	82.8
13	Czernuszka × Somo	179.5	17.5	10.7	14.8	85.6
14	Czernuszka × Sirena	178.5	17.5	10.4	15.0	88.8
15	Czernuszka × M I-7	180.3	11.0	7.4	9.7	87.6
16	Czernuszka × M I-33	163.3	13.3	10.5	11.0	87.8
17	Czernuszka × M II-19	182.3	5.7	3.5	4.3	72.6
18	Czernuszka × M II-42	180.3	8.3	5.7	7.3	60.6
	Total/average	1499.8	88.3	6.8	72.6	78.4
19	D 17-73 × Early Orange	442.0	94.3	31.9	87.5	92.8
20	D 17-73 × Harkot	280.5	46.0	23.3	38.0	77.6
21	D 17-73 × Somo	429.0	61.0	16.0	50.8	80.6
22	D 17-73 × Sirena	208.8	55.3	26.7	52.3	91.7
23	D 17-73 × M I-7	191.7	63.0	36.8	43.5	69.9
24	D 17-73 × M I-33	334.0	77.0	20.8	59.5	74.0
25	D 17-73 × M II-19	180.0	40.0	25.1	34.5	80.8
26	D 17-73 × M II-42	245.0	52.5	20.6	36.5	66.8
	Total/average	2310.9	489.0	25.1	402.5	79.3
27	Trumlar × Early Orange	190.8	52.5	30.0	35.8	68.0
28	Trumlar × Harkot	164.8	25.5	14.8	21.8	78.2
29	Trumlar × Somo	130.5	36.5	26.7	32.5	84.9
30	Trumlar × Sirena	126.0	22.3	16.4	18.0	76.9
	Total/average	612.0	136.8	22.0	108.0	77.0

Abstrakt zamieszczony w materiałach konferencyjnych:

Szymajda M., Idczak B., Żurawicz E. **Influence of selected parental forms on fruit and seed set in distant hybridization of *Prunus salicina* Lindl. (Japanese plum) and *Prunus armeniaca* L. (apricot)**. XV Eucarpia Symposium Fruit Breeding and Genetics, Prague (Czech Republic), 3-7 June, 2019, Book of abstracts, Poster presentations, s. 2.

Influence of selected parental forms on fruit and seed set in distant hybridization of *Prunus salicina* Lindl. (Japanese plum) and *Prunus armeniaca* L. (apricot)

Marek Szymajda, Bogusława Idczak, Edward Żurawicz
Research Institute of Horticulture, ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice, Poland
Marek.Szymajda@inhort.pl

Distant hybridization is one of the important plant breeding techniques. This technique is used when there is no source of genus within a given species that determine the characteristics of cultivars, important for breeders and users. However, crossing different species of plants sometimes is difficult or even not possible to perform because of different crossability barriers – prezygotic and postzygotic (morphological, anatomical, physiological, biochemical or genetic). Pre-zygotic barriers prevent fertilization and embryo formation, while post-zygotic barriers disturb embryo development. The Research Institute of Horticulture in Skierniewice has been conducting research aimed at assessing the effectiveness of distant hybridization of selected *Prunus* genotypes belonging to the species *P. salicina* and *P. armeniaca*.

The research was carried out in 2015-2018 on trees growing in the collection of varieties in the Experimental Orchard in Dąbrowice and in a high tunnel in the Pomological Orchard in Skierniewice (Central Poland). Eight maternal genotypes of *P. salicina* and eight paternal genotypes of *P. armeniaca* were crossed. Relative to the number of pollinated flowers, the best at setting fruit, on average for the four years of the study, were the ‘D 17-73’ (25.1%) and ‘Trumlar’ (22.0%) genotypes (on average for the apricot paternal forms used), while the poorest were ‘Angeleno’ (3.3%) and ‘OSL 57’ (3.7%). The highest number of fruits was obtained by crossing ‘D 17-73’ × M I-7 (36.8%), ‘D 17-73’ × ‘Early Orange’ (31.9%) and ‘Trumlar’ × ‘Early Orange’ (30.0%). Apart from good fruit-setting, ‘D 17-73’ and ‘Trumlar’ also produced well-developed seeds with good germination capacity. The study showed that the ‘D 17-73’ and ‘Trumlar’ genotypes are good maternal forms in distant hybridization of *P. salicina* with *P. armeniaca*.

Keywords: Interspecific crossing, *Prunus*, breeding, Japanese plum, apricot

Poster prezentowany podczas V Zjazdu Polskiego Towarzystwa Nauk Ogrodniczych pt. „Miejsce ogrodnictwa we współczesnym życiu człowieka i ochronie środowiska”, Warszawa, 16-18 września 2019 r.: Szymajda M., Idczak B., Żurawicz E. **Kielkowanie nasion uzyskanych z hybrydyzacji oddalonej trzech gatunków z rodzaju *Prunus* (śliwa japońska, morela, ałycza).**

Kielkowanie nasion uzyskanych z hybrydyzacji oddalonej trzech gatunków z rodzaju *Prunus* (śliwa japońska, morela, ałycza)

Marek Szymajda, Bogusława Idczak, Edward Żurawicz

Pracownia Genetyki i Hodowli Roślin Sadowniczych, Zakład Hodowli Roślin Ogrodniczych
Instytut Ogrodnictwa, ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice
e-mail: Marek.Szymajda@inhort.pl



WSTĘP

Hybrydyzacja odległych genetycznie gatunków roślin, nawet w warunkach kontrolowanych, charakteryzuje się niską efektywnością (Jun i Chung, 2007). Powodem tego jest istnienie barier uniemożliwiających zarówno utworzenie zarodka (bariery prezygotyczne), jak i zaburzających jego rozwój (bariery postzygotyczne) (Liu i inni, 2007). W wyniku wystąpienia tych barier z hybrydyzacji oddalonej gatunków z rodzaju *Prunus*, na ogół uzyskuje się mało nasion w stosunku do liczby zapylnych kwiatów. Ponadto, nasiona drzew gatunków z rodzaju *Prunus* w chwili wydobycia z owoców znajdują się w fazie głębokiego spoczynku i nie są zdolne do kiełkowania (Szymajda i inni, 2019).

CEL BADAŃ

Celem badań przeprowadzonych w latach 2017-2019 była ocena zdolności kiełkowania nasion uzyskanych z hybrydyzacji 3 gatunków z rodzaju *Prunus*: *P. salicina* (śliwa japońska) – 6 genotypów, *P. armeniaca* (morela) – 4 genotypy, *P. cerasifera* (ałycza) – 1 genotyp oraz mieszańców międzygatunkowych *P. salicina* × *P. cerasifera* – 1 genotyp.

MATERIAŁ I METODY

Wyzolowane z pestek (endokarpów) nasiona dzielono na dwie grupy – prawidłowo wyształcone (uznane za żywotne) oraz niewyształcone (uznane za nieżywotne). Do stratyfikacji przeznaczono tylko nasiona dobrze wyształcone. Przed stratyfikacją wszystkie nasiona/pestki odkażono w 0,1% roztworze fungicydu Kaptan. Następnie mieszano je z wilgotnym podłożem do stratyfikacji (perlit), pakowano do foliowych torebek i poddawano stratyfikacji. Stratyfikacja prowadzona była w inkubatorze do stratyfikacji nasion w temperaturze 5°C.



Tabela 1. Uzyskane nasiona mieszańcowe oraz zdolność ich kiełkowania (średnio z lat 2017-2019)

Lp.	Krzyżowane formy rodzicielskie	Zapylone kwiaty (szt.)	Uzyskane owoce/nasiona		Nasiona dobrze wyształcone		Nasion skielkowane	
			(szt.)	(%)	(szt.)	(%)	(szt.)	(%)
<i>P. armeniaca</i> × <i>P. salicina</i>								
1	OSL 58 × Early Orange*	469	22	4,6	12	2,5	12	100,0
2	OSL 58 × Sirena*	276	34	12,3	28	10,2	28	99,0
	suma	745	56	7,5	40	5,3	39	99,3
3	OSL 65 × Early Orange*	296	17	5,8	10	3,4	8	83,3
4	OSL 65 × Sirena*	200	18	9,0	15	7,5	15	100,0
	suma	496	35	7,1	25	5,0	23	94,3
5	D 17-73 × Early Orange	503	67	13,3	64	12,7	62	97,4
6	D 17-73 × Harcot	296	25	8,3	23	7,7	23	100,0
7	D 17-73 × Somo	515	44	8,5	38	7,4	37	93,3
8	D 17-73 × Sirena	218	42	19,4	40	18,3	37	85,1
	suma	1532	86	5,6	78	5,1	73	89,2
9	Trumlar × Early Orange	211	29	13,7	19	8,8	17	88,7
10	Trumlar × Somo	170	14	8,4	12	7,3	12	95,8
	suma	381	43	11,4	31	8,1	29	91,6
<i>P. cerasifera</i> × <i>P. armeniaca</i>								
11	Amelia × Early Orange	427	102	23,9	93	21,9	81	73,8
12	Amelia × Sirena	395	106	26,9	103	26,1	96	77,2
	suma	822	208	25,3	196	23,9	177	74,9
<i>(P. salicina</i> × <i>P. cerasifera</i>) × <i>P. salicina</i>								
13	Najdjena × Blue Gigant	458	21	4,5	19	4,2	18	90,0
	suma	4020	419	10,4	368	9,2	339	92,1

* Ocena wykonana w 2017 i 2018 r.

LITERATURA

Jun, J.H. and K.H. Chung. 2007. Interspecific cross compatibility among plum, apricot and plumcot. Kor. J. Hort. Sci. Technol. 25(3): 217-222.
Liu, W., X. Chen, G. Liu, Q. Liang, T. He, J. Feng. 2007. Interspecific hybridization of *Prunus persica* with *P. armeniaca* and *P. salicina* using embryo rescue. Plant Cell Tiss Organ Cult. 88: 289-299.
Szymajda, M., E. Żurawicz, R. Maciorowski, K. Pruski. 2007. Stratification period combined with mechanical treatments increase *Prunus persica* and *Prunus armeniaca* seed germination. Dendrobiology 81: 47-57.

WYNIKI I DYSKUSJA

Z zapylnych 12059 kwiatów uzyskano 1257 owoców, z których otrzymano 1104 dobrze wyształcone nasiona (87,8%). Łącznie skielkowało 1017 nasion (92,1% nasion dobrze wyształconych). Średnio dla trzech lat badań uzyskano od 73,8% do 100% skielkowanych nasion w zależności od krzyżowanych form rodzicielskich, czyli ogólnie kiełkowanie nasion było bardzo dobre. Jednak w wielu kombinacjach krzyżowań w ogóle nie uzyskano nasion lub otrzymano tylko pojedyncze nasiona. Najlepiej kiełkowały nasiona pochodzące z krzyżowania genotypów śliwy japońskiej, użytych jako formy mateczne i moreli, jako formy ojcowskie - 'OSL 58' × 'Early Orange', 'OSL 65' × 'Sirena' i 'D 17-73' × 'Harcot'. W rodzinach tych uzyskano 100% skielkowanych nasion. W zależności od roku nasiona kiełkowały po co najmniej 80-90 dniach stratyfikacji.

Wyniki pokazały, że pomimo długotrwałej stratyfikacji nie wszystkie uzyskane nasiona mieszańcowe są zdolne do kiełkowania, a zdolność ta uzależniona jest od genotypu krzyżowanych form rodzicielskich. Możliwe jest jednak uzyskanie siewek mieszańcowych krzyżowanych gatunków przy pomocy metod konwencjonalnych, chociaż wymaga to dużego nakładu pracy w długim okresie czasu.

Badania wykonane w ramach Badań Podstawowych na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej – Zadanie 77

Abstrakt zamieszczony w materiałach konferencyjnych:

Szymajda M., Idczak B., Żurawicz E. **Kielkowanie nasion uzyskanych z hybrydyzacji oddalonej trzech gatunków z rodzaju *Prunus* (śliwa japońska, morela, ałycza)**. V Zjazd Polskiego Towarzystwa Nauk Ogrodniczych, Warszawa, 16-18 września 2019 r., Streszczenia, s. 123.

Kielkowanie nasion uzyskanych z hybrydyzacji oddalonej trzech gatunków z rodzaju *Prunus* (śliwa japońska, morela, ałycza)

Marek Szymajda, Bogusława Idczak, Edward Żurawicz
Zakład Hodowli Roślin Ogrodniczych, Instytut Ogrodnictwa, 96-100 Skierniewice
ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, e-mail: Marek.Szymajda@inhort.pl

Hybrydyzacja odległych genetycznie gatunków roślin, nawet w warunkach kontrolowanych, charakteryzuje się niską efektywnością. Powodem tego jest istnienie barier uniemożliwiających zarówno utworzenie zarodka (bariery prezygotyczne), jak i zaburzących jego rozwój (bariery postzygotyczne). W wyniku wystąpienia tych barier z hybrydyzacji oddalonej gatunków z rodzaju *Prunus*, na ogół uzyskuje się mało nasion w stosunku do liczby zapylnych kwiatów. Ponadto, nasiona drzew gatunków z rodzaju *Prunus* w chwili wydobycia z owoców znajdują się w fazie głębokiego spoczynku i nie są zdolne do kielkowania.

Celem badań przeprowadzonych w latach 2017-2019 była ocena zdolności kielkowania nasion uzyskanych z hybrydyzacji trzech gatunków z rodzaju *Prunus*: *P. salicina* (śliwa japońska) – 6 genotypów, *P. armeniaca* (morela) – cztery genotypy, *P. cerasifera* (ałycza) - 1 genotyp oraz mieszańca międzygatunkowego *P. salicina* × *P. cerasifera* – 1 genotyp.

Z zapylnych 12.059 kwiatów uzyskano 1.257 owoców/nasion (10,4% w stosunku do zapylnych kwiatów). Nasiona dzielono na dwie grupy – prawidłowo wykształcone (uznane za żywotne) oraz niewykształcone (uznane za nieżywotne). Do stratyfikacji przeznaczono tylko nasiona dobrze wykształcone. Łącznie otrzymano 1.104 dobrze wykształcone nasiona, z których skielkowało 1.017 nasion (94,8% nasion dobrze wykształconych). Średnio dla trzech lat badań, uzyskano od 74,9% do 99% skielkowanych nasion w zależności od formy matecznej krzyżowanych form rodzicielskich. Wyniki pokazały, że pomimo długotrwałej stratyfikacji nie wszystkie uzyskane nasiona mieszańcowe są zdolne do kielkowania, a zdolność ta uzależniona jest od genotypu krzyżowanych form rodzicielskich. Możliwe jest jednak uzyskanie siewek mieszańcowych krzyżowanych gatunków przy pomocy metod konwencjonalnych, chociaż wymaga to dużego nakładu pracy w długim okresie czasu.

Badania wykonano w ramach Badań Podstawowych na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej – Zadanie 77

Poster prezentowany podczas V Zjazdu Polskiego Towarzystwa Nauk Ogrodniczych pt. „Miejsce ogrodnictwa we współczesnym życiu człowieka i ochronie środowiska”, Warszawa, 16-18 września 2019 r.: Idczak B., Strączyńska K., Szymajda M., Żurawicz E., Keller-Przybyłkiewicz S. **Zdolność kielkowania pyłku różnych gatunków z rodzaju *Prunus* (*P. armeniaca*, *P. salicina*, *P. cerasifera*) w warunkach *in vitro*.**

ZDOLNOŚĆ KIELKOWANIA ZIAREN PYŁKU RÓŻNYCH GATUNKÓW Z RODZAJU *PRUNUS* (*P. ARMENIACA*, *P. SALICINA*, *P. CERASIFERA*) W WARUNKACH *IN VITRO*

Bogusława Idczak, Krystyna Strączyńska, Marek Szymajda,
Edward Żurawicz, Sylwia Keller Przybyłkiewicz
Instytut Ogrodnictwa, ul. Konstytucji 3 maja 1/3, 96-100 Skierniewice



WSTĘP

Pierwszym etapem prac w procesie tworzenia nowych odmian jest analiza ogólnej zdolności kielkowania pyłku form ojcowskich, użytych w programach hodowlanych. Bezpośrednią metodą określania żywotności pyłku jest zapylenie roślin testowych i obserwowanie powstawania nasion. Jest ona długotrwała i obciążona błędami wynikającymi z genetycznej i środowiskowej zmienności roślin, dlatego obecnie stosowane są metody *in vitro* z wykorzystaniem pożywek o ubogim składzie (np. zawierających sacharozę i kwas borowy).

W ramach prac hodowlanych prowadzonych w Instytucie Ogrodnictwa oceniono zdolność kielkowania pyłku trzech gatunków rodzaju *Prunus* - morela (*P. armeniaca*), śliwa japońska (*P. salicina*), ałycza (*P. cerasifera*).

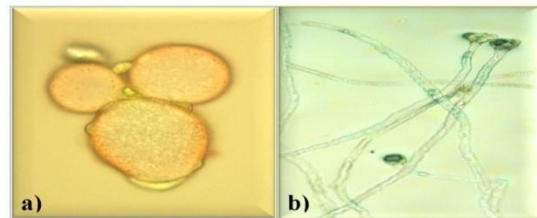
MATERIAL I METODY

1. Pylek genotypów

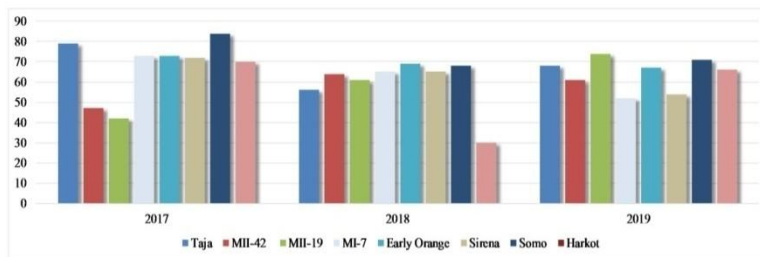
- moreli ('Taja', 'Sirena', 'Early Orange', 'Somo', 'Harkot', MII-42, MII-19, MI-7.)
- ałyczy ('Agata', 'Anna', 'Amelia')
- śliwy japońskiej ('Angelino', 'Blue Gigant')

2. Obserwacja wzrostu łagiewek pyłkowych w warunkach *in vitro*

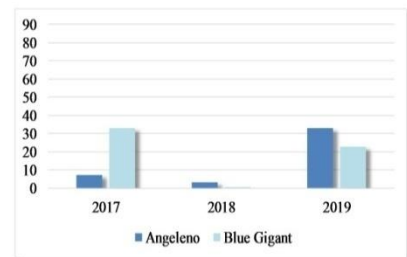
- wysianie ziaren pyłku na szalki z pożywką Brewbacker i Kwack (1963)
- 24-godzinna inkubacja szalek z pyłkiem, ciemność, temp. 24°C
- zliczanie skielkowanych łagiewek pod mikroskopem świetlnym Nikon 50i



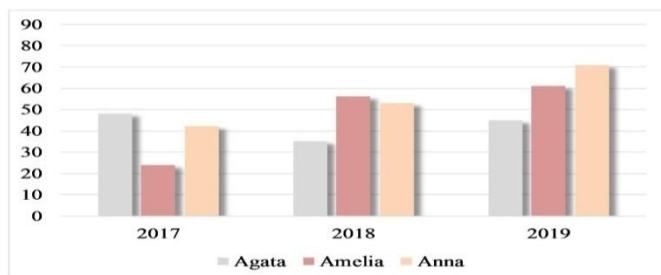
Ziarna pyłku moreli odmiany 'Early Orange': a) nie kielkujące, b) kielkujące



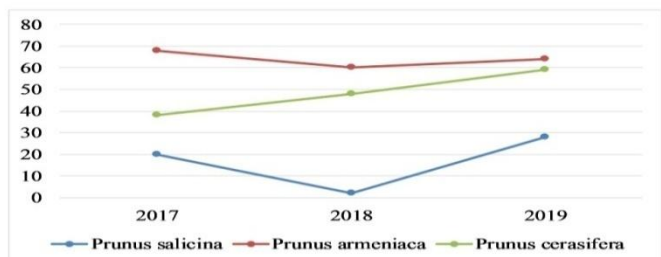
Wyk. 1. Zdolność kielkowania ziaren pyłku (%) moreli w latach 2017 - 2019



Wyk. 2. Zdolność kielkowania ziaren pyłku (%) śliwy japońskiej w latach 2017 - 2019



Wyk. 3. Zdolność kielkowania ziaren pyłku (%) ałyczy w latach 2017 - 2019



Wyk. 4. Zdolność kielkowania ziaren pyłku (%) w latach 2017 - 2019 (wartości średnie dla badanych genotypów w obrębie każdego gatunku)

WYNIKI I DYSKUSJA

Zaobserwowano zróżnicowaną w obrębie gatunku oraz pomiędzy sezonami badawczymi zdolność kielkowania ziaren pyłku: śliwa japońska (0,5% - 33%), morela (42% - 84%), ałycza (35% - 71%) (Wykres 1-3). Średnio dla badanych genotypów największą zdolność kielkowania w sezonach prowadzonej oceny miał pyłek moreli (ponad 60%) (Wykres 4)

Dobra zdolność kielkowania ziaren pyłku, a tym samym zdolność do tworzenia gamet, jest bardzo ważną cechą genotypu, która decyduje o możliwości użycia go jako formy ojcowskiej w programach krzyżowań. Na podstawie przeprowadzonych badań zaobserwowano, że zdolność kielkowania pyłku moreli, śliwy japońskiej i ałyczy jest różna w poszczególnych genotypów w obrębie gatunku *Prunus* i jest zależna od warunków środowiskowych, w okresie formowania się ziaren pyłku, zmieniających się w sezonach badawczych.

WNIOSKI

- Średnio dla badanych genotypów największą zdolność kielkowania ma pyłek moreli.
- Zdolność kielkowania pyłku jest różna w poszczególnych latach.

Prace wykonano w ramach Badań Podstawowych na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej – Zadanie 77

Abstrakt zamieszczony w materiałach konferencyjnych:

Idczak B., Strączyńska K., Szymajda M., Żurawicz E., Keller-Przybyłkiewicz S. **Zdolność kielkowania pyłku różnych gatunków z rodzaju *Prunus* (*P. armeniaca*, *P. salicina*, *P. cerasifera*) w warunkach *in vitro***. V Zjazd Polskiego Towarzystwa Nauk Ogrodniczych, Warszawa, 16-18 września 2019 r., Streszczenia, s. 116.

Zdolność kielkowania ziaren pyłku różnych gatunków z rodzaju *Prunus* (*P. armeniaca*, *P. salicina*, *P. cerasifera*) w warunkach *in vitro*

Bogusława Idczak, Krystyna Strączyńska, Marek Szymajda, Edward Żurawicz,
Sylwia Keller-Przybyłkiewicz
Zakład Hodowli Roślin Ogrodniczych, Instytut Ogrodnictwa, 96-100 Skierniewice
ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, e-mail: Bogusława.Napiórkowska@inhort.pl

Pierwszym etapem prac w procesie tworzenia nowych odmian jest analiza ogólnej zdolności kielkowania pyłku roślin zapylających, użytych w programach hodowlanych. Z dotychczas prowadzonych obserwacji wynika, że niektóre ziarna nie kielkują w ogóle, inne wolniej, skutkiem czego może nastąpić eliminacja gamet niezdolnych do zapłodnienia.

Bezpośrednie metody określania żywotności pyłku polegają na zapyleniu roślin testowych i obserwowaniu powstawania nasion. Jest to jednak metoda długotrwała, obciążona błędami wynikającymi ze zróżnicowania roślin na poziomie molekularnym i wpływu warunków zewnętrznych. Obecnie do tego typu badań stosowane są metody *in vitro* z wykorzystaniem sztucznych pożywek o ubogim składzie, zawierających jedynie dodatek cukru (np. sacharoza) oraz substancji stymulujących (kwas borowy).

W ramach prac molekularno-hodowlanych prowadzonych w Instytucie Ogrodnictwa oceniono zdolność kielkowania pyłku trzech gatunków (*P. armeniaca*, *P. salicina*, *P. cerasifera*) należących do rodzaju *Prunus*. Z 13 genotypów zbierano kwiaty w fazie białego pąka i wydobywano z nich pylniki, które następnie pozostawiano do wyschnięcia. Pyłek wysiewano na pożywkę Brewbaker i Kwack (1964). Obserwacje wzrostu łagiewki pyłkowej prowadzono pod mikroskopem Nikon 50 i po 24 godzinnej inkubacji pyłku w temperaturze 24°C. Obserwacje wykazały wyższą zdolność pyłku do kielkowania dla genotypów należących do *P. armeniaca* niż *P. salicina* i *P. cerasifera*. Jednak w obrębie gatunku poszczególne odmiany również charakteryzowały się zmienną zdolnością pyłku do kielkowania (42% - 84%).

Badania wykonano w ramach Badań Podstawowych na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej – Zadanie 77