

Tytuł zadania: **Otrzymywanie populacji homozygotycznych roślin buraka ćwikłowego z zastosowaniem embriogenezy gametycznej.**

Nr zadania: 65

W roku 2015 badania prowadzono w ramach 6 tematów badawczych.

Temat badawczy 1

Wyprowadzanie roślin donorowych

Celem tematu było uzyskanie roślin donorowych z prawidłowo wykształconymi kwiatostanami, a w nich mikrosporami i zalążkami do zakładania kultur pylników i izolowanych mikrospor i zalążków. Dla przeprowadzenia doświadczeń w okresie sprawozdawanym otrzymane korzenie wysadzano do podłoża i umieszczano w komorach wzrostowych i szklarni, łącznie 70 sztuk korzeni z linii hodowlanych oraz 30 sztuk korzeni dwóch odmian. W szklarni wysadzono 150 korzeni linii hodowlanych, oraz dwóch odmian komercyjnych. Rośliny donorowe były zdrowe i w dobrej kondycji. W wyniku prowadzonych obserwacji nie stwierdzono nieprawidłowości w rozwoju kwiatostanów, budowie kwiatów, czy też budowie pylników.

Temat badawczy 2

Indukcja gyno- i androgenozy.

Celem tematu była ocena wpływu genotypu na efektywność embriogenezy w kulturach zalążków i pylników, etiolacji roślin donorowych w kulturach pylnikowych oraz ocena możliwości uzyskania roślin w kulturach izolowanych mikrospor. Potwierdzono, że genotyp jest najważniejszym czynnikiem na efektywność embriogenezy andro – i gynogenetycznej. Badane linie i odmiany różniły się bardzo wyraźnie zdolnością do androgenozy i gynogenezy. Pożywka B₅ okazała się lepsza, niż N₆ do indukcji androgenozy. Zastosowanie etiolacji wpłynęło na zwiększenie liczby zarodków otrzymanych w kulturach pylnikowych. Po pięciu dniach etiolacji uzyskano wynik 8-krotnie lepszy, niż w kontroli, a po czternastu dniach nawet 13-krotnie lepszy. W kulturach izolowanych mikrospor otrzymano zarodki na obu użytych pożywkach. Nie zaobserwowano wyraźnej różnicy pomiędzy miejscami uprawy roślin donorowych (szklarnia, komora wzrostowa), a liczbą zakażeń oraz liczbą szalek z zarodkami.

Temat badawczy 3

Regeneracja roślin gyno- i androgenetycznych i ich adaptacja.

Celem zadania badawczego jest ocena wpływu 3 stężeń sacharozy na efektywność regeneracji roślin z zarodków i 5 podłoży do ich adaptacji. Spośród zastosowanych pożywek najlepsza okazała się MS, gorsza była N₆, a najgorsza B₅. Najlepsze stężenie było 30g/l sacharozy. Na pożywce MS z 30g/l sacharozy otrzymano najwięcej rozet i zaczątków rozet z zarodków gynogenetycznych. Natomiast struktury embrioidalne uzyskane w kulturach pylnikowych na tej pożywce zostały pobudzone do wzrostu, ale nie zaobserwowano organogenezy. Z zarodków uzyskanych z kultur izolowanych mikrospor nie udało się zregenerować roślin. Spośród zastosowanych do adaptacji roślin podłoży, te które zawierały ziemię ogrodniczą okazały się najmniej korzystne. Dodatek związków krzemowych do podłoży złożonych z torfu i piasku nie wpłynął korzystnie na proces adaptacji.

Temat badawczy 4

Badanie ploidalności i homozygotyczności roślin gyno- i androgenetycznych.

Celem zadania będzie określenie ilości DNA jądrowego w uzyskanych roślinach i liczby homozygot w analizowanej populacji. Spośród roślin zaadaptowanych tylko 13,1% miało 2x chromosomów, a haploidów było 65,2%. Podczas badania ploidalności pędów otrzymanych *in vitro* stwierdzono, że ponad 50% stanowiły haploidy, a rośliny diploidalne 14,4%. Wodrębiono również inne kategorie pod względem ploidalności. Były to miksoploidy oznaczone jako: 2x+4x, 4x+2x, 1x+2x, 2x+1x oraz aneuploidy oznaczone 2x-, 1x-, 1,5x. Najwięcej, bo 14,4% stanowiły rośliny określone jako 1x+2x.

Badanie homozygotyczności roślin o podwójnej liczbie chromosomów (2x) wykazała, że pod względem izoenzymu PGI 95% roślin posiadało profil charakterystyczny dla homozygotycznego układu prążków. W przypadku drugiego izoenzymu - AAT 85% roślin było homozygotami.

Temat badawczy 5

Podwajanie liczby chromosomów u roślin haploidalnych.

Zastosowanie kolchicyny i innych czynników chemicznych.

Celem zadania będzie zastosowanie na etapie regeneracji związków antymitotycznych w celu podwojenia liczby chromosomów u androgenetycznego materiału roślinnego. Rozety poddane były działaniu w warunkach *in vitro* substancjom antymitotycznym: kolchicyny trifluraliny, amiprofos metylu (APM), oryzaliny. Przełożono je w warunkach sterylnych do 20 probówek w obrębie każdego wariantu, kontrolnego, i trzech pożywek z dodatkiem wyżej wymienionych związków

antymitotycznych. Probówki z materiałem roślinnym umieszczono w komorze wzrostowej w ciemności w temperaturze +18-20°C na okres 24 godz. Po tym czasie materiał przeniesiono na pożywkę MS bez udziału związków antymitotycznych. Związki zastosowane do podwajania liczby chromosomów w użytych stężeniach nie były toksyczne dla rozet buraka ćwikłowego. Nie stwierdzono zamierania ani uszkodzeń rozet. Najlepszy rezultat – 30% roślin o podwojonym garniturze chromosomowym uzyskano stosując oryzalinę w stężeniu 50 μ M.

Temat badawczy 6

Ocena cech użytkowych roślin gyno- i androgenetycznych.

Celem zadania była ocena cech użytkowych roślin gyno- i androgenetycznych z zastosowaniem konwencjonalnych metod hodowlanych. Zaadaptowane rośliny uzyskane na drodze embriogenezy gametycznej zostały wysadzone w podłoże ogrodnicze. Następnie były uprawiane i chronione zgodnie z programem ochrony i doprowadzone do osiągnięcia odpowiedniej fazy rozwoju dla przyjęcia bodźca niskiej temperatury, wtedy zostały umieszczone w chłodni w temp + 4 °C na dwa miesiące. Po wyjęciu z chłodni zostały doprowadzone do kwitnienia. W izolatorach przeprowadzone zostało samozapylenie oraz dokonano oceny ich cech morfologicznych. Rośliny gynogenetyczne buraka ćwikłowego różniły się cechami pędów kwiatostanowych i nasiennych, okresem wchodzenia w kwitnienie, zdolnością wiązania nasion. Stwierdzono bardzo duży procent roślin męskosterylnych. Uzyskano nasiona z samozapylenia rośliny męskopłodnej i 2 roślin męskosterylnych zapylonych pyłkiem rośliny męskopłodnej. Nasion było odpowiednio: 1,92g, 1,26g i 0,96g.