

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

W ramach zadania prowadzono 6 tematów badawczych:

Temat badawczy 1. Analiza żywotności pyłku z form ojcowskich moreli, śliwy japońskiej, śliwy domowej i ałyczy. Celem badań była ocena żywotności pyłku oraz jego zdolności do kiełkowania w warunkach *in vitro* oraz *in vivo*. Analizę przeprowadzono z użyciem 3 metod pozwalających na ogólną ocenę żywotności pyłku (barwienie 2% acetoorceiną) oraz na ocenę zdolności kiełkowania łagiewki pyłkowej w warunkach *in vitro* oraz *in vivo* (na znamionach słupków). Pierwszą i drugą metodę zastosowano do oceny żywotności pyłku 16 wybranych genotypów ojcowskich. Do analiz metodą *in vivo* użyto materiału biologicznego z 19 kombinacji krzyżowań (śliwa japońska x morela, ałycza x morela i śliwa domowa x morela). Wyniki analiz po barwieniu acetoorceiną wskazywały na wysoką żywotność ziaren pyłku, ale nie przekładały się na zdolność łagiewki do kiełkowania. Zdolność kiełkowania łagiewek pyłkowych dla analizowanych 3 genotypów śliwy japońskiej nie przekroczyła 20%, podczas gdy zdolność do kiełkowania pyłku dla wszystkich genotypów należących do gatunku morela wynosiła ponad 50%. Trzy z analizowanych genotypów tj. 'Sirena', 'Early Orange' oraz 'Somo' wykazały największy potencjał w kiełkowaniu łagiewki (powyżej 80%). Wyniki te wskazują, że zastosowanie śliwy japońskiej jako formy ojcowskiej może wpływać ograniczająco na liczbę uzyskiwanych zawiązków owoców, natomiast morelę można uznać za dobrego kandydata do zapyleń. Obserwacje kiełkowania łagiewek w warunkach *in vivo* wskazują że po upływie 96 godzin od zapylenia łagiewka jest w stanie osiągnąć poziom komórki jajowej. Wynik ten uzyskano dla dwóch ('Kalipso' x 'Poleskiej Krupnoplodnyj' i 'Kalipso' x 'Sirena') spośród 19 analizowanych kombinacji międzygatunkowych.

Temat badawczy 2. Ocena możliwości krzyżowania różnych genotypów z rodzaju *Prunus* (ałycza, morela, śliwa japońska, śliwa domowa). Celem badań było uzyskanie wiedzy w zakresie możliwości krzyżowania wybranych genotypów ałyczy, moreli, śliwy japońskiej, i śliwy domowej metodami hodowli klasycznej. Program zapyleń międzygatunkowych wykonany został w polu, w Sadzie Doświadczalnym w Dąbrowicach oraz w wysokim tunelu foliowym w Sadzie Pomologicznym w Skierniewicach (warunki częściowo kontrolowane). Łącznie wykonano 60 kombinacji zapyleń i zapyłono 12.513 kwiatów. Uzyskano 1.479 owoców, co stanowi 11,8% zapyłonych kwiatów. Najlepsze zawiązywanie owoców w stosunku do liczby zapyłonych kwiatów uzyskano w krzyżowaniach ałycza x morela (23,2%), śliwa domowa x morela (11,8%) i śliwa japońska x morela (11,3%). Natomiast najmniej owoców w stosunku do zapyłonych kwiatów uzyskano w krzyżowaniu wstępnym mieszańca (śliwa japońska x ałycza) x śliwa japońska (3,4%) i śliwa japońska x ałycza (7,7%). Wstępne wyniki wskazują, że hybrydyzacja oddalona krzyżowanych gatunków odznacza się małą efektywnością, ale możliwe jest uzyskanie nasion i siewek mieszańcowych.

Temat badawczy 3. Ocena zdolności kiełkowania uzyskanych nasion mieszańcowych. Celem badań była ocena zdolności kiełkowania nasion, uzyskanych z krzyżowań oddalonych ałyczy, moreli, śliwy japońskiej i śliwy domowej. Wydobyte z owoców nasiona uzyskane z programu hybrydyzacji oddalonych różnych genotypów ałyczy, moreli, śliwy japońskiej, śliwy domowej dzielono na dwie grupy; prawidłowo wykształcone oraz zdeformowane – nie zdolne do kiełkowania. Z uzyskanych 112 pestek pozyskano 85 nasion dobrze wykształconych oraz 27 nasion ze zdeformowanymi liścieniami. Nasiona prawidłowo wykształcone zostały odkażone w 1,0% roztworze preparatu Huwa San TR 50, wymieszane z wilgotnym podłożem do stratyfikacji (perlit) i poddane procesowi stratyfikacji. Pierwsze nasiona skiełkowały po 90 dniach stratyfikacji, a najwięcej nasion skiełkowało w 100 i 130 dniu stratyfikacji. Łącznie skiełkowało 59,1% nasion. Kiełkowanie nasion było zróżnicowane i zależało od krzyżowanych form rodzicielskich. W 100% kiełkowały nasiona z kombinacji krzyżowań 'Czernuszka' x 'M II-42', 'Santa Rosa' x 'Pietropawłowski', 'Santa Rosa' x 'Sirena' oraz 'D 17-73' x 'M I-33'. Nasiona nie kiełkowały w kombinacjach 'Czernuszka' x 'M II-19' oraz 'D 17-73' x 'M I-7'. Ze wstępnych badań wynika, że zdolność kiełkowania nasion uzależniona jest od genotypu krzyżowanych form rodzicielskich.

Temat badawczy 4. Optymalizacja i prowadzenie hodowli zarodków *in vitro*. Celem badań było zoptymalizowanie warunków do prawidłowego rozwoju 10-cio tygodniowych zarodków, uzyskanych w procesie krzyżowego zapylenia w obrębie rodzaju *Prunus*. Badania prowadzono na 295 nasionach z 10 kombinacji krzyżowań międzygatunkowych. Kontrolę stanowiło 240 nasion uzyskanych z wolnego

zapylenia. Po usunięciu owocni nasiona poddawano sterylizacji i wykładano na pożywki: MS, WPM i C2d. W celu przełamania spoczynku nasiona poddano 10-cio tygodniowej stratyfikacji w temperaturze 2°C, prowadząc równocześnie obserwacje zmian morfologicznych (pęknięta łupina nasienna, powiększenie objętości nasiona, zaczątki korzenia i pojawiające się liścienie). W materiale kontrolnym, w którym formą maticzną była morela, już w 4. tygodniu stratyfikacji obserwowano pęknięcie łupiny nasiennej (u 70% nasion). Odmiana D17-73 i 'Czernuszka' miały odpowiednio 40% i 50% nasion z pękniętą okrywą nasienną na pożywce MS, 45% i 60% na WPM oraz 55% i 40% na C2d. Praktycznie dla wszystkich nasion kontrolnych i badanych obserwowano wyostrzenie się części korzeniowej, a średnio u połowy z nich wzrost objętości. Pęknięcie okrywy u nasion międzygatunkowych po 4 tygodniach stratyfikacji przebiegało z podobną intensywnością na dwóch pożywkach MS (ok. 44%) oraz C2d (ok. 48%) i słabiej na WPM (33%). Po upływie 10 tygodnia na każdej zastosowanej pożywce liczba nasion z pękniętą okrywą była porównywalna (66% - C2d, 73% - MS). Po upływie 4 tygodni z fitotronie uzyskano 146 roślin mieszańcowych i 103 rośliny kontrolne. Zastosowanie moreli jako jednej z form rodzicielskich wpływało negatywnie na regenerację roślin wyłożonych na pożywkę C2d. Zarodki z kombinacji D17-73 x Morela oraz 'Trumlar' x Morela regenerowały na pożywce C2d słabiej niż na MS i WPM. Względną stabilność wykazywała kombinacja 'Czernuszka' x Morela, dla której na wszystkich pożywkach regenerowało ok. 70% roślin. Odmiana 'Czernuszka' wydaje się najbardziej obiecująca jako forma maticzna w zapyleniach międzygatunkowych.

Temat badawczy 5. Analizy molekularne form rodzicielskich i uzyskanych siewek mieszańcowych. Celem badań było opracowywanie profili genetycznych oraz potwierdzenie statusu mieszańca dla wybranych genotypów. Materiał do analiz stanowiły rośliny z rodzaju *Prunus*: 41 genotypów potomnych uzyskanych w wyniku planowanego krzyżowania w poprzednich latach prowadzenia hybrydyzacji oddalanej w tym rodzaju. Materiał genetyczny izolowano z młodych liści metodą opartą na CTAB, opisaną przez Doyle i Doyle. Na uzyskanej matrycy przeprowadzono reakcje amplifikacji z 7 parami starterów SSR, umożliwiającymi analizę fragmentów mikrosatelitarnych w genomach roślinnych. Polimorficzne amplikony (221 fragmentów DNA) posłużyły do utworzenia baz danych, na podstawie których przeprowadzono ocenę statusu mieszańca. Każdy analizowany genotyp scharakteryzowano wstępnie na podstawie 29-46 polimorficznych fragmentów. W oparciu o te dane zweryfikowano pozytywnie status 31 z 41 mieszańców.

Temat badawczy 6. Ocena wybranych cech biologicznych mieszańców i ich form rodzicielskich. Celem badań była ocena wybranych cech biologicznych siewek mieszańcowych uzyskanych z krzyżowania różnych genotypów ałyczy, moreli, śliwy japońskiej, śliwy domowej i ich form rodzicielskich (badania są kontynuacją zadania prowadzonego w latach 2011-2013). W 2015 roku zakwitły pierwsze siewki mieszańcowe posadzone w latach 2012-2013. Z 70 genotypów siewek mieszańcowych, poddanych obserwacjom, zakwitło 32 szt. Pozostałe 38 szt. siewek nie ukończyło fazy juvenilnej. Większość siewek odznaczyła się małą intensywnością kwitnienia, a nawet miała zaburzenia rozwojowe kwiatów. Przejawiało się to ich deformacjami lub niedorozwojem - w kwiatach znajdowało się od kilku do kilkunastu słupków, przy jednoczesnym braku płatków kwiatowych. W efekcie żadna z ocenianych siewek nie zaowocowała. Siewki posadzone w 2014 r. nie ukończyły fazy juvenilnej. Wykonane obserwacje wskazują, że okres juvenilny siewek mieszańcowych moreli, śliwy japońskiej i ałyczy trwa co najmniej 3-4 lata po ich posadzeniu w polu. Kiełkujące nasiona uzyskane z programu krzyżowań moreli, śliwy japońskiej, śliwy domowej i ałyczy w 2014 r. w miesiącach listopad - luty sukcesywnie wysiewano w ogrzewanej szklarni do plastikowych doniczek, wypełnionych podłożem składającym się z mieszaniny substratu torfowego i piasku. Z nasion uzyskanych w 2014 roku uzyskano 40 siewek mieszańcowych. Część siewek uzyskanych w 2013 roku rozmnożono poprzez zimowe szczepienie w rękę i jesienią posadzono w kwaterze selekcyjnej w Dąbrowicach. Każdy genotyp siewki został posadzony w liczbie od 1 do 4 drzewek.

Wyniki badań w postaci dwóch posterów zostały zaprezentowane na konferencji:
IV Zjazd Polskiego Towarzystwa Nauk Ogrodniczych, Wrocław, 14-16 Września 2015.

OCENA ZDOLNOŚCI KIEŁKOWANIA NASION UZYSKANYCH Z HYBRYDYZACJI ODDALONEJ GATUNKÓW Z RODZAJU PRUNUS - AŁYCZA, MORELA, ŚLIWA JAPOŃSKA I ŚLIWA DOMOWA



Marek Szymajda, 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 charakteryzuje się niską efektywnością, czego dowodem jest bardzo mała liczba nasion w stosunku do liczby zapylnych kwiatów, uzyskiwana w takich krzyżowaniach. Powodem jest istnienie barier krzyżowalności o charakterze morfologicznym, anatomicznym i fizjologiczno-biochemicznym. Bariery te mogą blokować zarówno tworzenie zarodka (bariery prezygotacyjne), jak i zaburzać jego rozwój (bariery postzygotacyjne). Ponadto, nasiona gatunków z rodzaju *Prunus* w chwili wydobycia z owoców znajdują się w fazie głębokiego spoczynku fizjologicznego, który spowodowany jest obecnością inhibitorów kiełkowania, w endokarpie, okrywie nasiennej i bielmie oraz w samym zarodku. Nawet pomimo przeprowadzenia długotrwałej stratyfikacji, nie wszystkie nasiona kiełkują.

CEL BADAŃ

Celem badań przeprowadzonych w 2014 r. była ocena zdolności kiełkowania nasion, uzyskanych z hybrydyzacji oddalonych gatunków *Prunus cerasifera* Ehr. (ałyca), *Prunus armeniaca* L. (morela), *Prunus salicina* Lindl. (śliwa japońska), *Prunus domestica* L. (śliwa domowa), poddanych stratyfikacji.

MATERIAŁ I METODY

Przed stratyfikacją z nasion usunięto endokarpę i odkażono je 1,0% roztworze preparatu Huwa San TR 50. Odkażone nasiona wymieszane zostały z wilgotnym podłożem do stratyfikacji (perlit) i zapakowane do perforowanych (w celu zapewnienia dostępu powietrza) foliowych torebek. Zabieg stratyfikacji przeprowadzony był w inkubatorze do stratyfikacji nasion w temperaturze ok. 5°C. Nasiona z poszczególnych kombinacji były poddawano stratyfikacji w różnych terminach w zależności od terminu dojrzewania owoców. Pierwsze cztery przeglądy nasion, w celu kontroli wilgotności podłoża i przewietrzenia nasion, wykonano po 20, 40, 60 i 80 dniach od rozpoczęcia stratyfikacji, a następnie co 10 dni. W trakcie tych przeglądów wybierano i liczone kiełkujące nasiona. Za skielkowane uznawane zostały nasiona z widocznym 5-10 mm korzonkiem zarodkowym.



Kastrowanie kwiatów śliwy japońskiej i nakładanie pyłku na znamię słupka



Uzyskane zawiązki, owoce i nasiona mieszzańcowe



Usuwanie endokarpów

Nasiono prawidłowo i nieprawidłowo wykształcone



Stratyfikacja nasion

Kiełkujące nasiona

Siewka mieszzańcowa

Tabla 1. Uzyskane owoce i nasiona oraz procent skielkowanych nasion mieszzańcowych ałyczy, moreli, śliwy japońskiej i śliwy domowej (Skierniewice, 2014)

Lp.	Krzyżowane formy rodzicielskie	Zapylone kwiaty (szt.)	Owoce/pestki (szt.)	% uzyskanych owoców/pestek	Nasiona (szt.)	% uzyskanych nasion z liczbę pestek	Nasiona nieprawidłowo wykształconej (szt.)	% nasion nieprawidłowo wykształconych	% skielkowanych nasion
morela x śliwa japońska									
1	M 1-7 x E ²	120	3	2,5	3	100	0	0	100,0
2	M 59 x E ²	220	6	2,7	6	100	0	0	100,0
Suma/		340	9	2,6	9	100	0	0	100,0
śliwa japońska x morela									
3	OSL 63 x Sirena	143	6	4,2	6	100	0	0	66,6
4	OSL 58 x Early Orange	160	11	6,9	11	100	0	0	100,0
5	OSL 58 x Sirena	194	33	17,0	33	100	0	0	84,8
6	OSL 58 x Taja	145	7	4,8	7	100	0	0	57,1
7	OSL 58 x Early Blusch	160	3	1,9	3	100	0	0	100,0
8	OSL 59 x Sirena	459	6	1,3	6	100	0	0	100,0
9	OSL 65 x Sirena	292	31	10,6	31	100	0	0	81,2
10	OSL 69 x Sirena	376	9	2,4	9	100	0	0	22,2
11	Angeleno x Sirena	209	3	1,4	3	100	0	0	0,0
12	Blue Gigant x Early Orange	360	11	3,1	11	100	0	0	27,3
13	Blue Gigant x Taja	230	12	5,2	12	100	0	0	16,7
14	Blue Gigant x Early Blusch	220	10	4,5	10	100	0	0	10,0
15	OSL 73 x Early Orange	120	5	4,2	5	100	0	0	40,0
16	Najdienna x Early Orange	250	2	0,8	2	100	0	0	100,0
17	Najdienna x Sirena	180	2	1,1	2	100	0	0	100,0
18	Najdienna x B ¹	170	2	1,2	2	100	0	0	100,0
19	(Cerasi x Salicina) x C ³	170	2	1,2	2	100	0	0	0,0
20	Kometa Kubarska x B ¹	280	9	3,2	9	100	0	0	77,7
21	Genieral x B ¹	228	12	5,3	11	91,7	1	8,3	45,5
22	Genieral x C ³	200	16	8,0	15	93,7	1	6,3	13,3
23	Santa Rosa x C ³	250	6	2,4	6	100	0	0	33,3
24	Santa Rosa x Early Orange	630	23	3,6	9	39,1	14	60,9	55,5
25	D 17-73 x Early Orange	136	55	40,6	51	92,7	4	7,3	100,0
26	D 17-73 x Harcot	96	46	48,0	37	80,4	9	19,6	100,0
27	D 17-73 x Somo	159	15	9,4	13	86,7	2	13,3	100,0
28	D 17-73 x M 1-33	246	99	40,2	87	87,9	12	2,1	100,0
Suma		6053	436	7,2	393	90,1	43	9,9	74,8
śliwa japońska x ałyca									
31	Kometa Późna x D ²	250	6	2,4	6	100	0	0	93,3
32	Szalior x D ²	70	4	5,7	4	100	0	0	50,0
33	Santa Rosa x D ²	220	25	11,4	20	80	5	20	100,0
34	Gek x D ²	80	5	6,3	5	100	0	0	100,0
35	Trumlar x D ²	114	2	1,8	2	100	0	0	100,0
Suma		734	42	5,7	37	88,0	5	12,0	91,9
ałyca x morela									
29	Amelia x Early Orange	150	5	3,3	5	100	0	0	100,0
Suma		150	5	3,3	5	100	0	0	100,0
Ałyca x śliwa japońska									
30	Ałyca 1 x E ²	230	5	2,2	4	80	1	20	100,0
Suma		230	5	2,2	4	80	1	20	100,0
śliwa domowa x morela									
36	Hanita x Sirena	350	7	2,0	7	100	0	0	100,0
37	Hanita x Early Orange	200	5	2,5	5	100	0	0	100,0
38	Opal x Early Orange	360	2	0,6	2	100	0	0	100,0
Suma		910	14	1,5	14	100	0	0	100,0
Razem		8427	511	6,1	462	90,4	49	9,6	77,9

WYNIKI

Hybrydyzacja oddalona ałyczy, moreli, śliwy japońskiej i śliwy domowej charakteryzuje się niską efektywnością (Tab. 1). Z zapylnych w programie krzyżowań 8427 szt. kwiatów uzyskano 511 pestek czyli tylko 6,1%. Z pozyskanych pestek wydobyto 462 szt. dobrze wykształconych nasion co stanowi 90,4%. Z tych nasion skielkowało 360 szt., co stanowi 77,9%. W 100 % kiełkowały tylko nasiona z kombinacji krzyżowań gdzie formą mateczną była morela, ałyca lub śliwa domowa. Nasiona z kombinacji śliwa japońska x ałyca kiełkowały w 91,9%, a w kombinacjach śliwa japońska x morela w 74,8%.

WNIOSKI

- Pomimo długotrwałej stratyfikacji nie wszystkie uzyskane nasiona mieszzańcowe są zdolne do kiełkowania. Przy niedużej liczbie uzyskiwanych nasion jest to dużym utrudnieniem w uzyskaniu siewek mieszzańcowych.
- Zdolność kiełkowania nasion z hybrydyzacji oddalonych ałyczy, moreli, śliwy japońskiej i śliwy domowej uzależniona jest od genotypu krzyżowanych form rodzicielskich.

Badania prowadzone w ramach Badań Podstawowych na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej - Zadanie 77 „Hybrydyzacja oddalona gatunków *Prunus cerasifera* (ałyca), *Prunus armeniaca* (morela), *Prunus salicina* (śliwa japońska), *Prunus domestica* (śliwa domowa) w celu zwiększenia bioróżnorodności genetycznej w obrębie rodzaju *Prunus*”, finansowane przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi.

¹Mieszczanka pyłków czterech genotypów moreli – ‘Early Orange’, ‘Harcot’, ‘Somo’, ‘Sirena’.
²Mieszczanka pyłków czterech genotypów moreli – ‘Kjejskiej Krásen’, ‘Poleskiej Krupnopłodnyj’, ‘Pietropawlowskij’, ‘Czewniwskij’.
³Mieszczanka pyłków czterech genotypów moreli – M 1-7, M 1-33, M 11-19, M 11-42.
⁴Mieszczanka pyłków trzech genotypów ałyczy – ‘Anna’, ‘Agata’, ‘Amelia’.
⁵Mieszczanka pyłków dwóch genotypów śliwy japońskiej – ‘Angeleno’, ‘Black Amber’, ‘Blue Gigant’.

WPLYW SKŁADU POŻYWEK NA WZROST I ROZWÓJ WYIZOLOWANYCH ZARODKÓW, POCHODZĄCYCH Z KRZYŻOWAŃ W OBRĘBIE RODZAJU *PRUNUS*

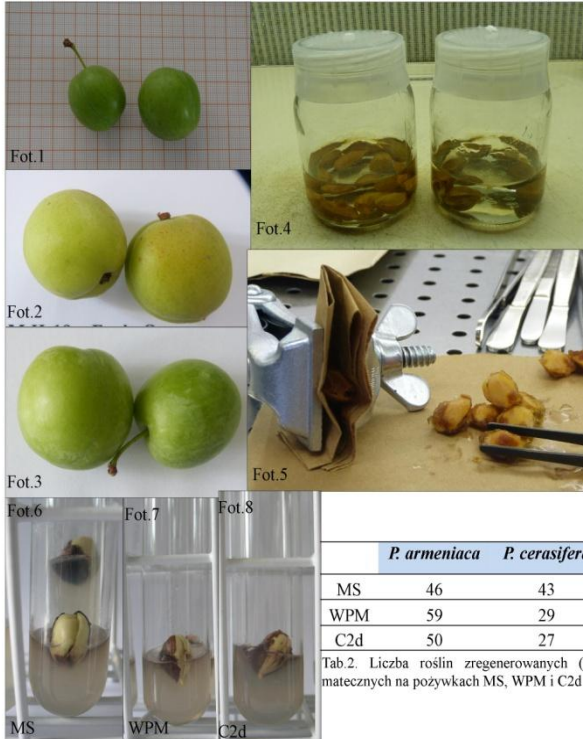
Bogusława Napiórkowska, Krystyna Strączyńska, Marek Szymajda, Małgorzata Korbin

Instytut Ogrodnictwa, ul. Konstytucji 3 maja 1/3, 96-100 Skierniewice

WSTĘP

Istotnym ograniczeniem w poszerzaniu bioróżnorodności jest dla roślin wielu gatunków istnienie naturalnych barier w hybrydacji genotypów należących do oddalonych genetycznie taksonów. Metodą ułatwiającą przełamanie postzygotycznych barier krzyżowania, których skutkiem są zaburzenia embriogenezy, jest hodowla *in vitro* izolowanych zarodków (technika *embryo rescue*). Kluczowy w tej procedurze jest termin izolacji zarodka oraz skład pożywek pełniących rolę bielma podczas hodowli zarodków w szkle.

Celem przeprowadzonych badań było ustalenie optymalnego terminu izolacji zarodków mieszańcowych z rodzaju *Prunus* oraz wpływ składu pożywki na wzrost i różnicowanie uzyskanych mieszańców oddalonych.



MATERIAL I METODY

Materiał: 10 tygodniowe zawiązki owoców z rodzaju *Prunus*: *P. cerasifera* (Fot.1), *P. armeniaca* (Fot.2), *P. salicina* (Fot.3).

Opis metody:

- A) usuwanie owocni i poddawanie pestek sterylizacji (Fot.4):
- płukanie pod bieżącą wodą i w wodnym roztworze detergentu, wytrząsanie w roztworze 15% Cloroxu, płukanie w sterylnej wodzie.
- B) usuwanie endokarpu (Fot.5) i wykładanie wyizolowanych nasion na pożywkę: • Murashige i Skoog (1962) (Fot.6), • Lloyd i McCown (1981) (Fot.7), • Chee i Pool (1987) (Fot.8) ze stałą kompozycją hormonów roślinnych: BAP 1mg/l, IBA 1mg/l, GA₃ 1mg/l.
- C) umieszczanie nasion w chłodni (2°C) na 10 tygodni.
- D) przeniesienie nasion do fitotronu i pasażowanie zarodków na odpowiednią pożywkę po uprzednim usunięciu łupiny nasiennej.



	<i>P. armeniaca</i>	<i>P. cerasifera</i>	<i>P. salicina</i>
MS	46	43	35
WPM	59	29	37
C2d	50	27	24

Tab.2. Liczba roślin zregenerowanych (%) dla trzech form matecznych na pożywkach MS, WPM i C2d

	<i>P. armeniaca</i>	<i>P. cerasifera</i>	<i>P. salicina</i>
4 tygodnie w chłodni, % pękniętej okrywy nasiennej			
MS	71	35	18
WPM	60	32	18
C2d	60	30	15
10 tygodni w chłodni, % pękniętej okrywy nasiennej			
MS	87	64	34
WPM	99	64	24
C2d	98	60	28
10 tygodni w chłodni, % zainicjowanego wzrostu korzenia			
MS	77	22	19
WPM	89	29	11
C2d	76	37	15

Tab.1. Zmiany fizjologiczno-morfologiczne obserwowane podczas 10-tygodniowego okresu stratyfikacji zarodków na pożywkach MS, WPM, C2d

PODSUMOWANIE

- skład pożywki nie ma znaczącego wpływu na cechy fizjologiczno-morfologiczne testowanych zarodków (pęknięcie łupiny nasiennej, powiększanie się objętości zarodka, inicjacja wzrostu korzenia) w okresie 10 tygodni stratyfikacji (Fot.6-8); cechy te są charakterystyczne dla gatunku formy matecznej (Tab.1).
- liczba zregenerowanych roślin jest zależna od genotypu i zastosowanej pożywki; największy stopień regeneracji roślin uzyskano dla *P. armeniaca* na WPM, pożywka MS charakteryzuje się stabilnością w procesie regeneracji zarodków badanych gatunków (Tab.2).
- rośliny rozwijające się na WPM cechuje redukcja liczby liści oraz powierzchni blaszki liściowej (Fot. 10); podczas gdy rośliny na C2d charakteryzuje karłowaty pokrój (Fot.11) w stosunku do roślin rozwijających się na pożywece MS (Fot.9).

Badania finansowane przez MRiRW w ramach Postępu Biologicznego, Zadanie 77

OCENA ZDOLNOŚCI KIEŁKOWANIA NASION UZYSKANYCH Z HYBRYDYZACJI ODDALONEJ GATUNKÓW Z RODZAJU *PRUNUS*- AŁYCZA, MORELA, ŚLIWA JAPOŃSKA I ŚLIWA DOMOWA

Marek Szymajda, 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 charakteryzuje się niską efektywnością, czego dowodem jest bardzo mała liczba nasion w stosunku do liczby zapylnych kwiatów, uzyskiwana w takich krzyżowaniach. Powodem niskiej efektywności hybrydyzacji oddalonej jest istnienie szeregu barier o charakterze morfologicznym, anatomicznym i fizjologiczno-biochemicznym. Bariery te mogą blokować zarówno utworzenie zarodka (bariery prezygotyczne), jak i zaburzać jego rozwój (bariery postzygotyczne). Ponadto nasiona gatunków z rodzaju *Prunus* w chwili wydobycia z owoców znajdują się w fazie głębokiego spoczynku fizjologicznego, który spowodowany jest obecnością inhibitorów kiełkowania, występujących w endokarpie, okrywie nasiennej i bielmie oraz w samym zarodku. Pomimo przeprowadzenia długotrwałej stratyfikacji, nie wszystkie nasiona kiełkują. Celem badań przeprowadzonych w 2014 r. była ocena zdolności kiełkowania nasion, uzyskanych z hybrydyzacji oddalonych gatunków *Prunus cerasifera* Ehr. (ałyca), *Prunus armeniaca* L. (morela), *Prunus salicina* Lindl. (śliwa japońska), *Prunus domestica* L. (śliwa domowa).

Przed stratyfikacją z nasion usunięto endokarpy i odkażono je 1,0% roztworze preparatu Huwa San TR 50. Odkażone nasiona wymieszane zostały z wilgotnym podłożem do stratyfikacji (perlit) i zapakowane do perforowanych (w celu zapewnienia dostępu powietrza) foliowych torebek. Zabieg stratyfikacji przeprowadzony był w inkubatorze do stratyfikacji nasion w temperaturze ok. 5°C. Za skiełkowane uznawane zostały nasiona z widocznym 5-10 mm korzonkiem zarodkowym.

Z pozyskanych z programu krzyżowań 511 szt. pestek uzyskano 462 szt. dobrze wykształconych nasion co stanowi 90,4%. Z otrzymanych 462 szt. nasion skiełkowało 360 szt. co stanowi 77,9%. W 100% kiełkowały nasiona z kombinacji krzyżowań gdzie formą mateczną była morela, ałyca lub śliwa domowa. Nasiona z kombinacji śliwa japońska x ałyca kiełkowały w 91,9%, a w kombinacjach śliwa japońska x morela w 74,8%. Uzyskane wyniki pokazały, że pomimo długotrwałej stratyfikacji nie wszystkie uzyskane nasiona mieszańcowe są zdolne do kiełkowania i zdolność ta uzależniona jest od genotypu krzyżowanych form rodzicielskich.

WPŁYW SKŁADU POŻYWEK NA WZROST I ROZWÓJ WYIZOLOWANYCH ZARODKÓW, POCHODZĄCYCH Z KRZYŻOWAŃ W OBRĘBIE RODZAJU *PRUNUS*

Bogusława Napiórkowska, Krystyna Strączyńska, Marek Szymajda, Małgorzata Korbin

Instytut Ogrodnictwa, ul. Konstytucji 3 maja 1/3, 96-100 Skierniewice
e-mail: boguslawa.napiorkowska@inhort.pl

Prace w zakresie zwiększenia bioróżnorodności w obrębie rodzaju *Prunus* cechują się niską wydajnością ze względu na naturalne ograniczenia w krzyżowalności roślin charakteryzujących się pożądanymi cechami użytkowymi, a równocześnie należących do oddalonych genetycznie taksonów (przykład: ałyca, morela, śliwa). *P. cerasifera* charakteryzuje zwiększona odporność na mróz, *P. armeniaca* doskonały smak oraz oddzielanie pestki od miąższu, *P. salicina* wytrzymałość na transport i przydatność do przechowywania przez relatywnie długi okres. Mieszańce roślin tych gatunków mogły by więc być przydatne zarówno dla producentów, jak i konsumentów, ale efektywność ich wytwarzania jest ograniczona ze względu na występowanie barier pre- i postzygotycznych. W przypadku tych ostatnich możliwym rozwiązaniem jest zastosowanie techniki *embryo rescue*. Metoda ta polega na izolacji zarodków w optymalnym dla gatunku stadium i zapewnieniu im dalszego rozwoju na pożywce o zoptymalizowanym składzie chemicznym. W przedstawionej pracy testowane były trzy pożywki: MS (bogaty skład chemiczny, znaczna zawartość azotu), WPM (obniżona w stosunku do MS zawartość soli, pożywka sprzyjająca rozwojowi systemu korzeniowego) oraz C2d (pożywka wpływająca na przyrost zielonej masy). Przeprowadzone badania wykazały, że 50% analizowanych nasion miała pękniętą łupinę nasienną po 4 tygodniach od stratyfikacji, a 99% w 10 tygodniu spoczynku gdy formą mateczną była morela, bez względu na zastosowaną pożywkę. Wśród kombinacji, w których formą mateczną była śliwa japońska, tylko pojedyncze nasiona miały pękniętą łupinę nasienną i nie było to również zależne od składu pożywki. Najślabszy rozwój organów roślinnych obserwowano w przypadku siewek wyłożonych na pożywkę C2d (karłowaty pokrój rośliny, korzenie bez włośników). Regeneracja i rozwój roślin na pożywkach MS i WPM były zbliżone, jednak w przypadku roślin rosnących na pożywce WPM obserwowano redukcję liczby liści oraz powierzchni blaszki liściowej. Na tym etapie badań za optymalną dla rozwoju zarodków z rodzaju *Prunus* uznano pożywkę MS.