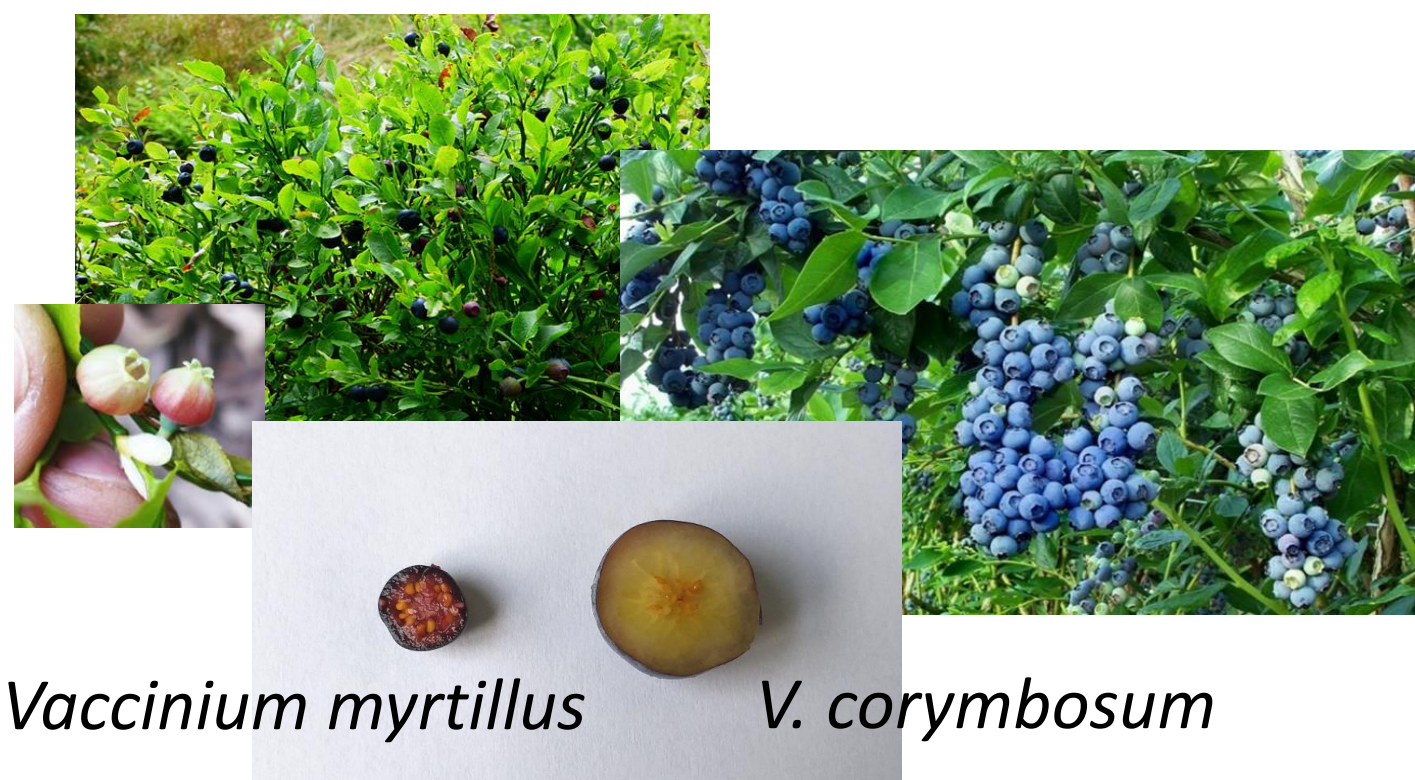




# POLIPLOIDYZACJA BORÓWKI CZERNICY (*Vaccinium myrtillus*) ORAZ WSTĘPNA OCENA FENOTYPOWA UZYSKANYCH AUTOTETRAPLOIDÓW

## WSTĘP

Celem pracy jest uzyskanie autotetraploidów borówki czernicy (*Vaccinium myrtillus*) zdolnych do krzyżowania z odmianami borówki wysokiej (*Vaccinium corymbosum*). Owoce borówki czernicy należą do najbogatszych źródeł cennych dla zdrowia antocyjanów. Szczególnie wysoka zawartość tych związków w owocach wiąże się z tym, że antocyjany występują zarówno w skórce, jak i miąższu owoców, podczas gdy owoce borówki wysokiej zawierają antocyjany tylko w skórce. Wprowadzenie cechy antocyjanowego miąższu do borówki wysokiej jest teoretycznie możliwe na drodze krzyżowania i selekcji. Jednak krzyżowanie diploidalnej *V. myrtillus* z tetraploidalną *V. corymbosum* nie jest możliwe ze względu na barierę krzyżowalności, tzw. blok triploidalny, wynikający z różnicy poziomu ploidalności pomiędzy gatunkami. Zakładamy, że podwojenie liczby chromosomów u dzikiego gatunku *V. myrtillus* przełamie barierę krzyżowalności.



## MATERIAŁY I METODY

Do poliploidyzacji wykorzystano pięć najbardziej zróżnicowanych genetycznie taksonów *V. myrtillus*, pochodzących z polskich i norweskich stanowisk. Genotypy te wyselekcjonowano na podstawie analizy AFLP (wyniki na posterze Markiewicz i wsp.). Do podwojenia liczby chromosomów użyto kultur pędów *in vitro*. Jako antymitotyki wykorzystano kolchicynę (125 i 250 mg l<sup>-1</sup>) i amiprofos metylu (APM) (5 i 10 mg l<sup>-1</sup>). Tetraploidy zidentyfikowano za pomocą cytometrii przepływowej. Otrzymane tetraploidy ukorzeniono *ex vitro* według zoptymalizowanej procedury, uprawiano w szklarni, a następnie w pojemnikach na zewnątrz. Neotetraploidy kilku klonów taksonu J4, uzyskane w badaniach wstępnych, poddano ocenie fenotypowej w odniesieniu do ich diploidalnych odpowiedników.

## PODSUMOWANIE

- Taksony borówki czernicy różniły się zdolnością do podwojania liczby chromosomów. Tetraploidy uzyskano dla wszystkich taksonów; w sumie 74, od 7 do 29, odpowiednio u J5 i J8.
- Tetraploidy wyraźnie różniły się od diploidów. W drugim sezonie uprawowym tetraploidy przewyższały wigorem diploidy.
- Kwitnienie obserwowano już u 1,5-letnich tetraploidów; w związku z tym wykonano pierwsze krzyżowania z borówką wysoką (wyniki na posterze Mynett i wsp.).

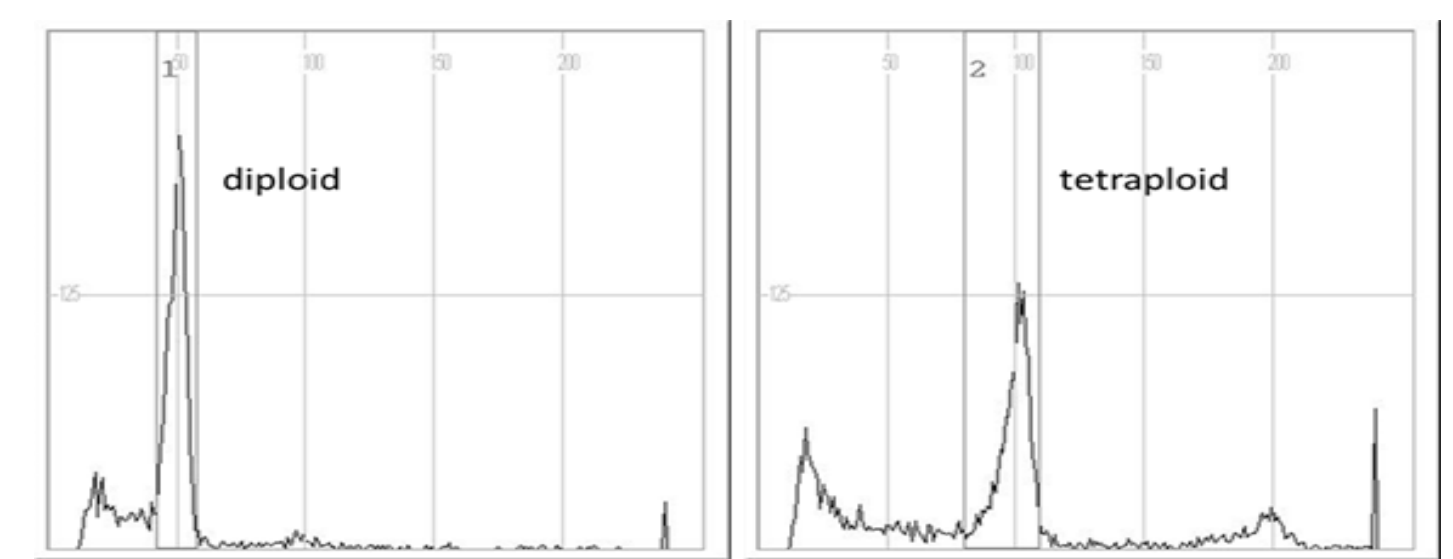
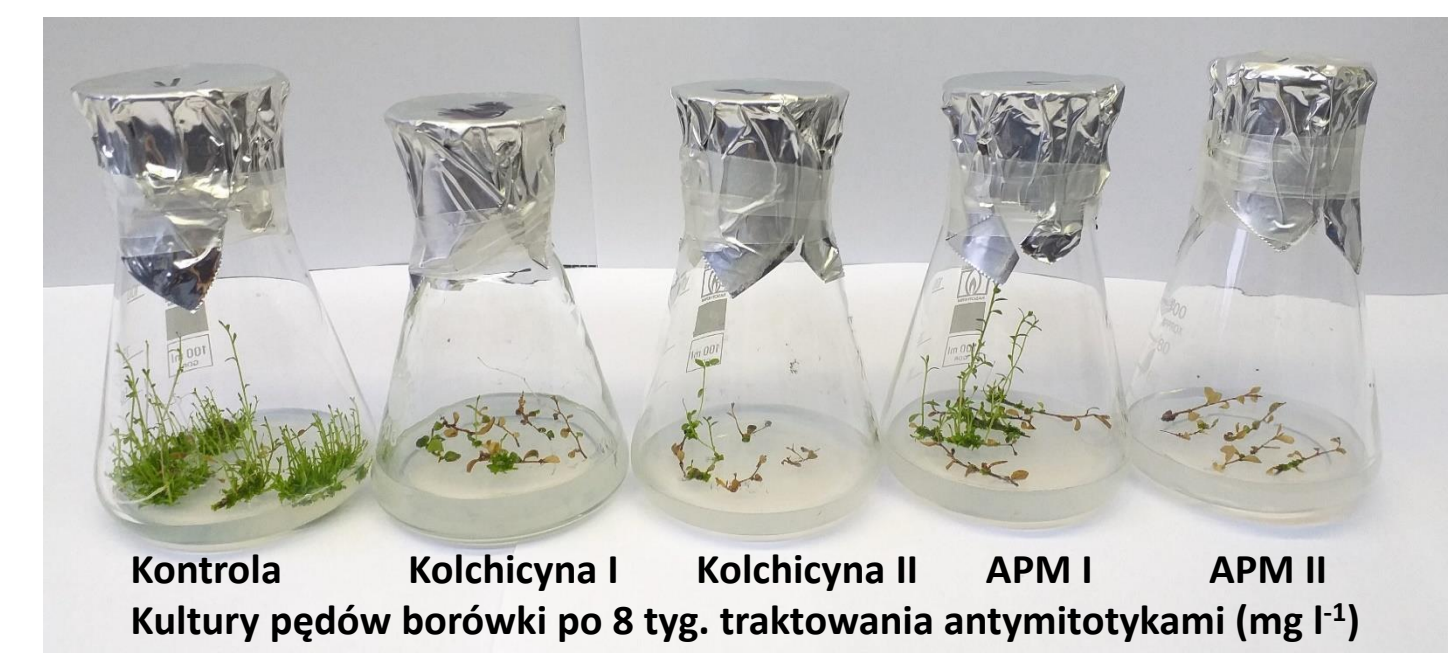
## WYNIKI

- Taksony różniły się wrażliwością na działanie antymitotyków oraz zdolnością do podwojania liczby chromosomów. Najsilniejsze fitotoksyczne działanie zarówno kolchicyny jak i APM obserwowano u taksonu J4 (Tab. 1). W zależności od genotypu i traktowania antymitotykami otrzymano od 1 do 14 tetraploidów; największą efektywność poliploidyzacji (22,2%) uzyskano dla borówki J-8 po zastosowaniu 250 mg l<sup>-1</sup> kolchicyny i dla J-4 (28,6%) po traktowaniu 10 mg l<sup>-1</sup> APM (Tab. 2).
- Tetraploidy wyraźnie różniły się od diploidów. Początkowy wzrost tetraploidów był znacznie słabszy, ale po 2 latach uprawy dorównały lub przewyższyły wigorem diploidy; wyróżniały się grubszymi pędami i większymi liśćmi, wyższą zawartością chlorofilu oraz większymi aparatami szparkowymi i jednocześnie mniejszą ich liczbą na jednostkę powierzchni (Tab. 3). Kwitnienie obserwowano już u 1,5-letnich tetraploidów.

TAB 1. Wpływ antymitotyków użytych do poliploidyzacji *in vitro* na zdolności regeneracyjne eksplantatów – pędów *V. myrtillus*

Antymitotyk (mg l <sup>-1</sup> )	Taksony				
	J3	J4	J5	J8	J9
Eksplantaty żywe, n=6					
Kontrola	6,0 a*	6,0 a	6,0 ab	6,0 a	6,0 a
Kolchicyna 125	5,8 a	2,6 b	5,0 ab	3,4 b	2,9 c
Kolchicyna 250	5,8 a	0,8 b	3,2 b	4,8 ab	3,6 bc
APM 5	5,0 a	2,5 b	4,2 ab	2,8 b	4,9 ab
APM 10	5,6 a	1,4 b	4,0 ab	3,2 b	2,3 c
Liczba zregenerowanych pędów / eksplantat					
Kontrola	6,7 a	10,3 a	9,7 a	13,4 a	34,3 a
Kolchicyna 125	3,1 b	2,1 b	2,9 bc	5,0 b	0,8 c
Kolchicyna 250	2,2 b	0,3 b	0,6 c	3,4 b	3,7 c
APM 5	6,9 a	1,2 b	4,0 b	2,9 b	12,0 b
APM 10	5,1 ab	0,3 b	2,7 bc	2,5 b	1,7 c

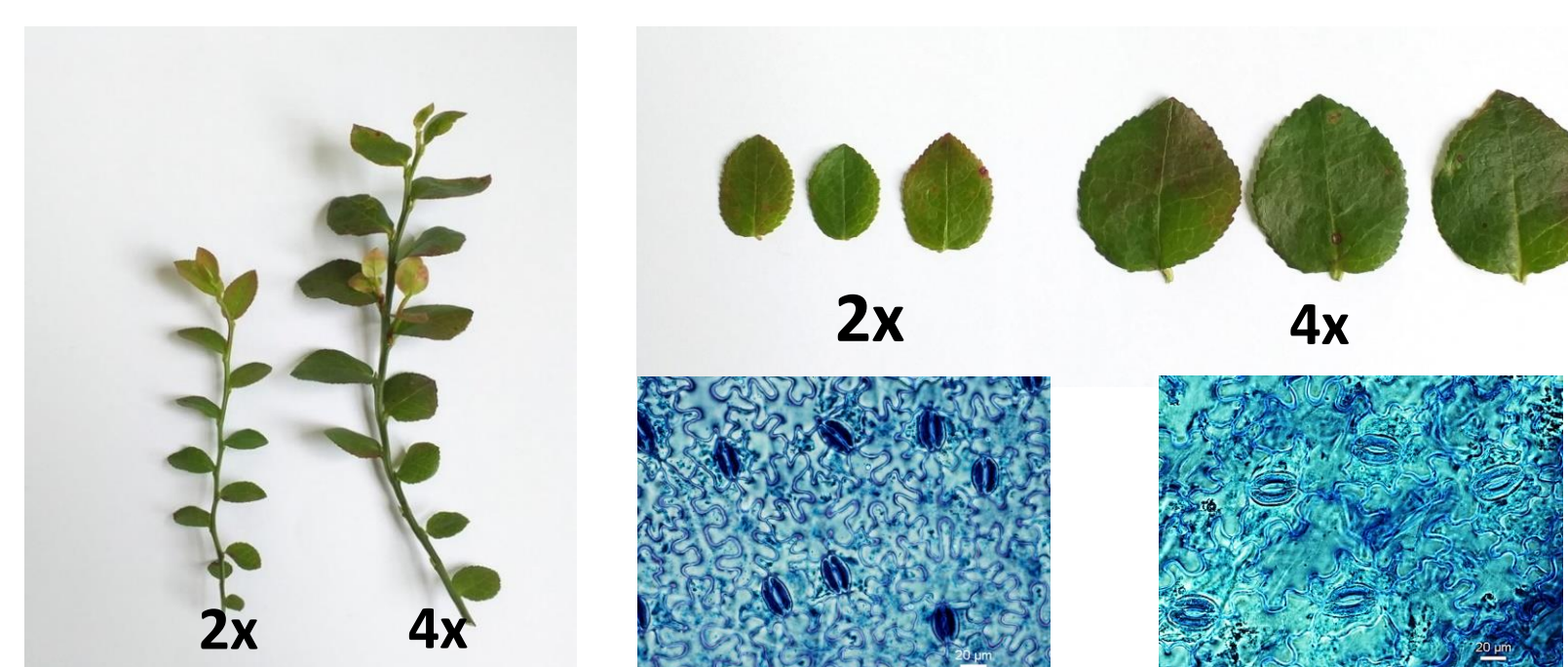
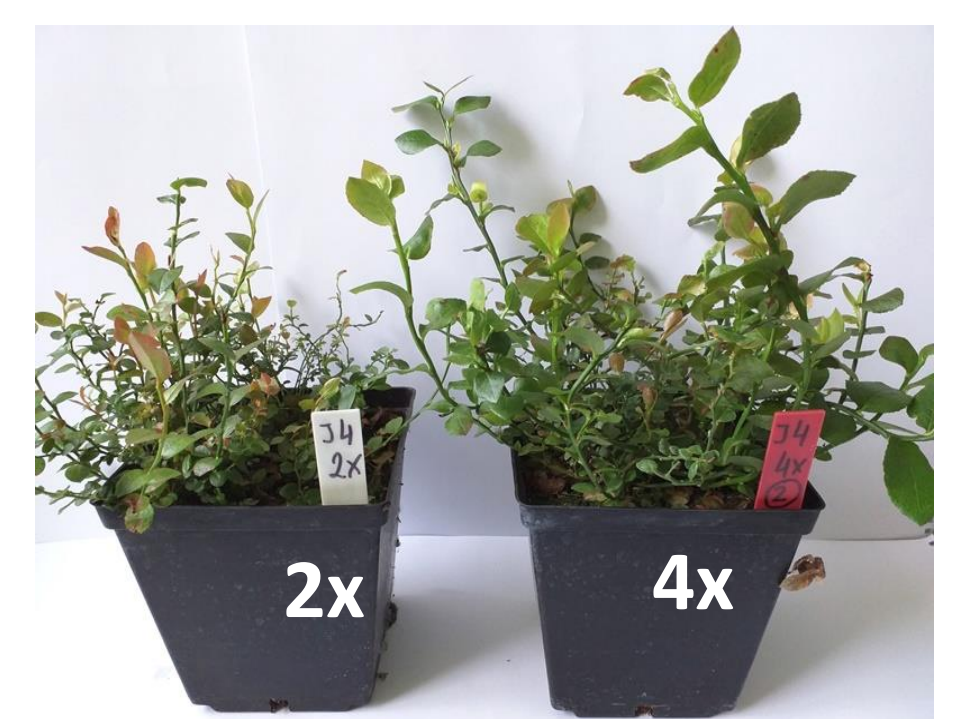
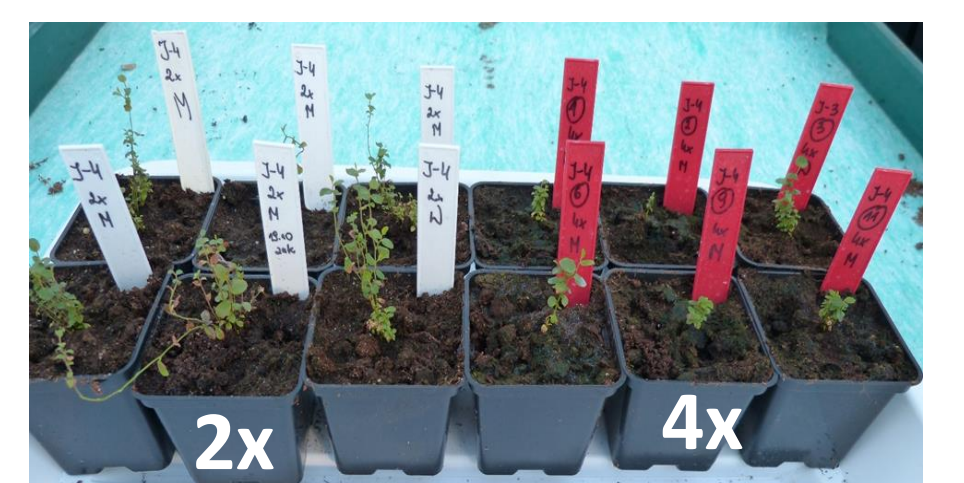
Średnie oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie przy poziomie istotności 5%; wielokrotny test Duncana; jednoczynnikowa analiza wariancji (Statistica 13.1)



### Diploidy i tetraploidy *V. myrtillus*

TAB 2. Liczba autotetraploidów uzyskana w procesie poliploidyzacji pędów w kulturach *in vitro*; tetraploidy wykrywano przy użyciu cytometrii przepływowej 16 tyg. po traktowaniu antymitotykami.

Antymitotyk (mg l <sup>-1</sup> )	Taksony					Całkowita liczba tetraploidów (Efektywność poliploidyzacji)
	J3	J4	J5	J8	J9	
Kolchicyna 125	1 (2,7%)	3 (7%)	3 (5,8%)	1 (2,9%)	6 (12,8%)	14 (6,6%)
Kolchicyna 250	2 (3%)	0	0	14 (22,2%)	5 (10,4%)	21 (10,4%)
APM 5	2 (3,3%)	3 (14,3%)	2 (5,3%)	8 (16,7%)	1 (0,7%)	16 (5,1%)
APM 10	11 (14,1%)	2 (28,6%)	2 (2,3%)	6 (13,3%)	2 (3,9%)	23 (8,6%)
<b>Całkowita liczba tetraploidów (%)</b>	<b>16 (6,5%)</b>	<b>8 (10,1%)</b>	<b>7 (3,6%)</b>	<b>29 (15,3%)</b>	<b>14 (4,9%)</b>	<b>74 (7,4%)</b>
Liczba testowanych pędów	245	79	193	190	288	995



TAB 3. Ocena fenotypowa uzyskanych autotetraploidalnych klonów *V. myrtillus* taksonu J4 pod względem parametrów morfologicznych; rośliny obserwowano po 2 latach uprawy *ex vitro*

Cecha	Diploid	Tetraploids			
		4x-1	4x-2	4x-5	4x-7
Długość pędów (cm)	23,5 ab	21,4 ab	24,3 a	22,1 ab	20,2 b
Grubość pędów (mm)	2,09 b	2,39 ab	2,56 a	2,11 b	2,61 a
Powierzchnia blaszki liściowej (cm <sup>2</sup> )	1,6 c	2,1 bc	2,4 b	2,5 b	3,2 a
Zawartość chlorofilu (CCI)	11,4 d	12,3 d	15,4 ab	13,5 bcd	16,7 a
Długość aparatów szparkowych (µm)	31,6 c	39,1 a	39,0 a	36,5 b	40,6 a
Liczba aparatów szparkowych w polu widzenia (pow. x 20)	27,5 a	16,5 b	16,1 b	18,3 b	16,6 b

Średnie oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie przy poziomie istotności 5%; wielokrotny test Duncana; jednoczynnikowa analiza wariancji (Statistica 13.1)