



Ocena poziomu ploidalności oraz żywotności pyłku wybranych genotypów jagody kamczackiej (*Lonicera caerulea* L.)

WSTĘP

Nowe odmiany uprawne jagody kamczackiej to najczęściej mieszańce międzygatunkowe *Lonicera caerulea*. Pochodzą głównie z Azji, Ameryki Północnej i Japonii. Występują w formie diploidalnej (2x) i częściej tetraploidalnej (4x). Inne gatunki *Lonicera* sp. występują jako diploidy, tetraploidy, heksaploidy (6x) oraz tri- (3x) i pentaploidy (5x). O ile znany jest poziom ploidalności dzikich populacji *L. caerulea* oraz odmian pochodzących od różnych chińskich gatunków o znaczeniu farmaceutycznym, np. *L. japonica*, to brakuje informacji na temat ploidalności odmian uprawnych, szczególnie tych nowych. Znajomość poziomu ploidalności potencjalnych form rodzicielskich jest bardzo ważna dla hodowców, przygotowujących programy krzyżowań jagody kamczackiej. Z danych literatury wynika, że w krzyżowaniach form diploidalnych z poliploidalnymi, nasiona i żywotne siewki uzyskiwano tylko w przypadku, gdy rośliną mateczną był tetraploid, a pyłek do zapylenia pochodził od diploidalnej formy ojcowskiej. Celem badań była ocena odmian jagody kamczackiej pod względem poziomu ploidalności oraz żywotności pyłku – parametrów pomocnych przy opracowaniu programów hodowlanych.

MATERIAŁ I METODY

Materiał. Badaniom poddano 33 odmiany jagody kamczackiej zgromadzone w kolekcji Zakładu Hodowli Roślin Ogrodniczych (ZHRO) Instytutu Ogrodnictwa – PIB w Skierniewicach.

Analiza liczby chromosomów w preparatach mikroskopowych barwionych DAPI przy użyciu mikroskopu fluorescencyjnego Optiphot 2 (Nikon, Japonia) została przeprowadzona w sposób opisany przez Marasek-Ciołakowska i in. 2012.

Analiza cytometryczna (FCM-DAPI). Do analizy wykorzystano próby młodych liści pobrane wiosną z testowanych genotypów. Poziom ploidalności analizowano przy użyciu cytometru przepływowego CyFlow PA (Partec, Niemcy). Jądra komórkowe izolowano z rozdrobnionego materiału roślinnego przy użyciu buforu ekstrakcyjnego Partec, z wykorzystaniem barwnika fluorescencyjnego DAPI, z dodatkiem 1% PVP i czasem inkubacji 30 min. Poziom fluorescencji DNA na histogramie, wyrażony położeniem piku na osi X dla każdego badanego genotypu, odnieszono do lokalizacji piku odmiany 'Aurora' - standardu zewnętrznego, dla którego potwierdzono w analizie mikroskopowej tetraploidalną liczbę chromosomów $2n=4x=36$.

Żywotność pyłku oceniano w dwóch terminach: na początku marca u kwitnących roślin uprawianych w szklarni 6 genotypów rodzicielskich oraz w połowie kwietnia w pełni kwitnienia roślin uprawianych w gruncie 34 genotypów z kolekcji ZHRO IO-PIB. Analizę żywotności pyłku wykonano na podstawie kiełkowania ziaren pyłku na pożywce zestalonej agarą z sacharozą w stężeniu 15%, po 4-6 godzinach inkubacji w temperaturze pokojowej (Niles i Quesenberry, 1992).

PODSUMOWANIE

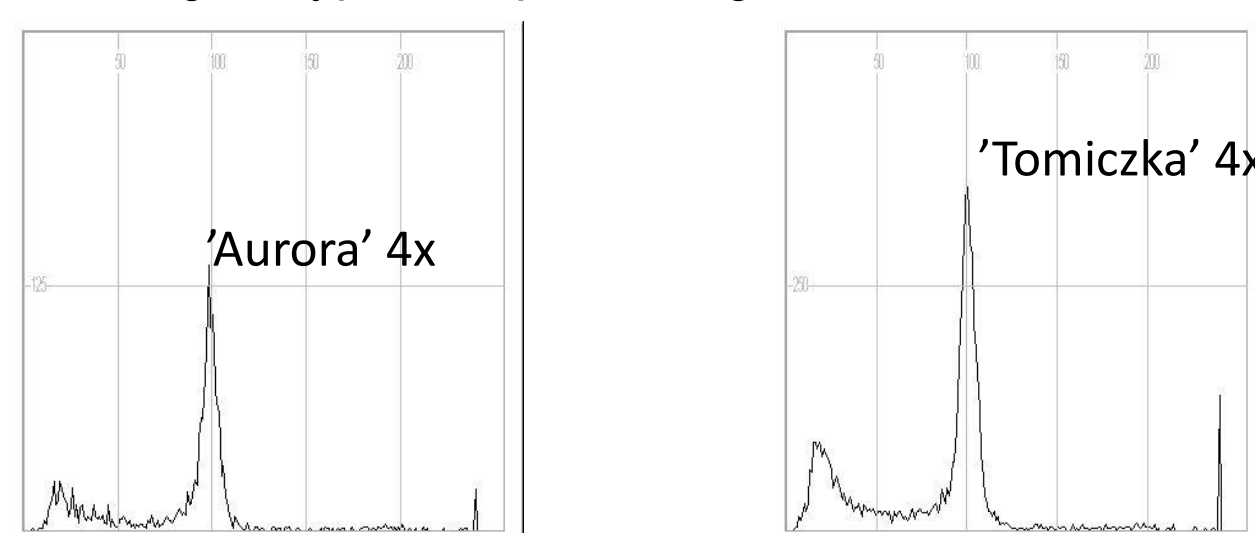
- Wszystkie badane odmiany jagody kamczackiej są tetraploidami, co potwierdziły wyniki analizy i mikroskopowej i cytometrycznej.
- Żywotność pyłku u badanych odmian jagody kamczackiej w 2023 roku była stosunkowo niska, wynosiła średnio 10,16% u genotypów rosnących w warunkach szklarniowych i 28,03% u roślin uprawianych w polu.
- Uzyskane wyniki są podstawą do opracowania programów krzyżowań w nowo rozpoczętej hodowli twórczej tego gatunku.

WYNIKI

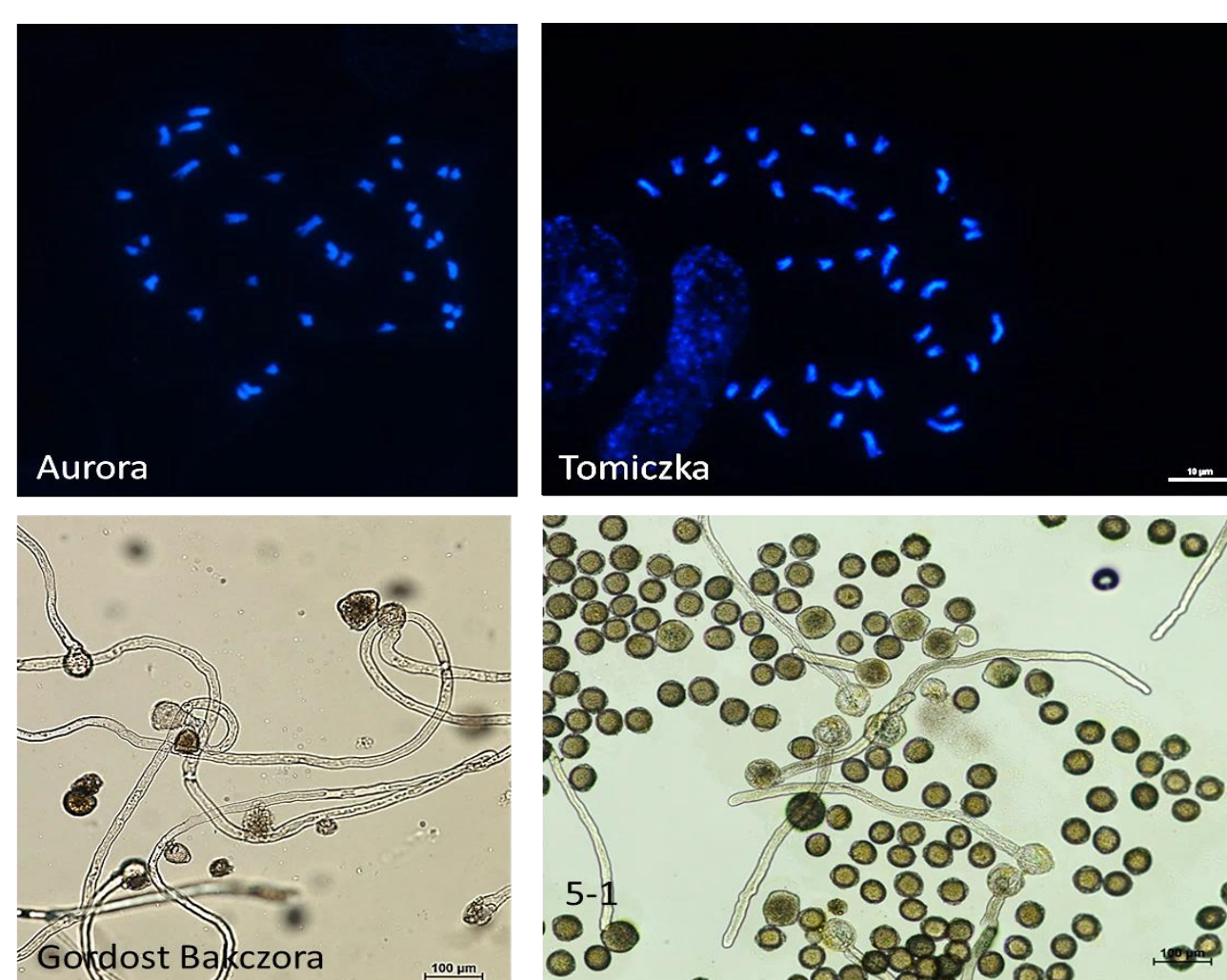
- Ocena mikroskopowa liczby chromosomów wybranych odmian: 'Aurora', 'Bakczarskaja', 'Indogo Gen', 'Wojtek', 'Tundra', 'Vorstag', 'Jugana', 'Sinij Utes', 'Boreal Blizzard', 'Boreal Beast', 'Colin' i 'Lori' wykazała, że u wszystkich genotypów liczba chromosomów wynosiła $2n = 4x = 36$, wskazując na ich tetraploidalność.
- Analiza cytometryczna wykonana w odniesieniu do odmiany 'Aurora' wykazała, że wszystkie badane genotypy zgromadzone w hodowlanej kolekcji ZHRO są tetraploidami.
- Zdolność kiełkowania ziaren pyłku, pobieranego z roślin rosnących w szklarni, wykonana u 6 genotypów rodzicielskich 'Jugana', 'Sinij Utes', 'Boreal Blizzard', 'Boreal Beast', 'Colin' i 'Lori', wykorzystywanych w programie krzyżowań w 2023 roku była stosunkowo niska. Procent kiełkujących ziaren pyłku wynosił od 5,35% dla 'Boreal Blizzard' do 13,35% u 'Boreal Beast' (tab. 1).
- Zdolność kiełkowania pyłku roślin rosnących w kolekcji odmian, w warunkach polowych była wyższa i wynosiła od 5,29% do 72,87%, w zależności od genotypu. Odmiany takie, jak 'Honeybee', 'Lawina', 'Leningradzkij Wielikan', 'Bakczarskaja Jubilejnaja' i 'Docz Wielikana' wykazują wysoką żywotność pyłku, przekraczającą 50%. Odmiany: 'Amphora', 'Bakczarskij Wielikan', 'Duet', 'Streżewczanka' i 'Zojka', charakteryzują się niską żywotnością pyłku, wynoszącą poniżej 10%. Informacje dotyczące żywotności pyłku są ważne dla hodowców przy opracowywaniu programu krzyżowań. Wybór do krzyżowań form męskich o wysokiej żywotności pyłku daje gwarancję uzyskania owoców, nasion oraz produkcji siewek, umożliwiając dalszą ocenę i selekcję wartościowych materiałów hodowlanych jagody kamczackiej.



Histogramy analizy FCM-DAPI dla odmiany jagody kamczackiej 'Aurora' - standardu zewnętrznego genotypu tetraploidalnego i przykładowy histogram genotypu tetraploidalnego 'Tomiczka'



Analiza liczby chromosomów w preparatach mikroskopowych barwionych DAPI, $2n=4x=36$



Kiełkowanie pyłku jagody kamczackiej na pożywkach zestalonych agarą

Tabela 1. Żywotność pyłku jagody kamczackiej w zależności od warunków uprawy, Skierniewice 2023

Lp.	Odmiana	Żywotność pyłku w warunkach szklarniowych [%]	Żywotność pyłku w warunkach polowych [%]
1	Amphora		8,94
2	Aurora		36,13
3	Bakczarskaja		13,00
4	Bakczarskaja Jubilejnaja		57,69
5	Bakczarskij Wielikan		7,22
6	Boreal Beast	13,13	36,01
7	Boreal Blizzard	5,34	21,45
8	Colin	6,64	
9	Czułymskaja		33,79
10	Docz Wielikana		56,03
11	Duet		5,29
12	Gordost Bakczora		19,26
13	Honeybee		72,87
14	Indigo Gem		19,39
15	Indigo Trent		27,04
16	Jugana	7,46	34,50
17	Kamczadalka		14,95
18	Lawina		57,94
19	Leningradzkij Velikan		67,09
20	Lori	16,59	
21	Morena		13,16
22	Nimfa		16,46
23	Nr 44		21,46
24	Roksana		21,73
25	Sinij Utes	11,85	
26	Silginka		30,08
27	Streżewczanka		6,69
28	Tomiczka		25,00
29	Uslada		30,60
30	Tundra		42,24
31	Vostorg		21,02
32	Wojtek		19,09
33	Zojka		6,29
	Średnia	10,16	28,03