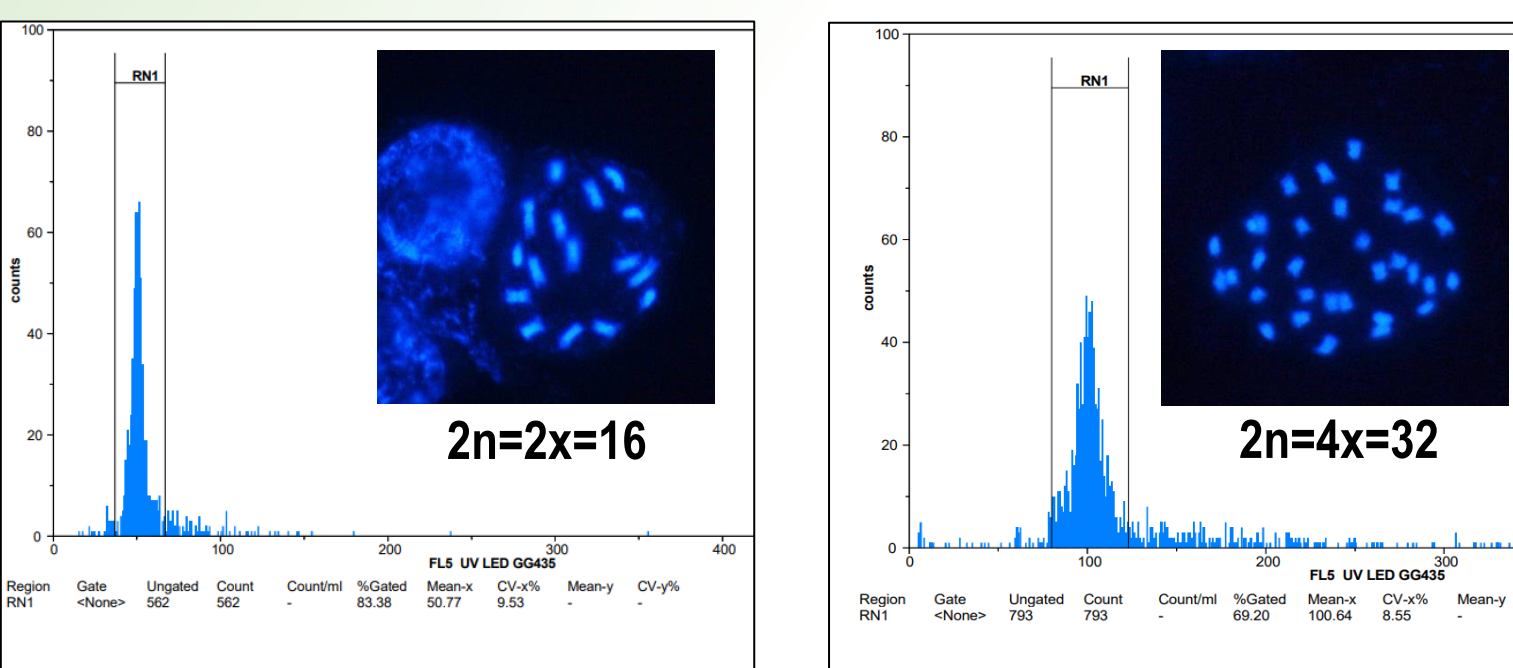




# Ocena zdolności do krzyżowania tetraploidalnych form porzeczki czarnej (*Ribes nigrum* L.)

## WSTĘP

Wszystkie odmiany uprawne porzeczki czarnej (*Ribes nigrum* L.) to diploidy. W Instytucie Ogrodnictwa – Państwowy Instytut Badawczy w Skierniewicach uzyskano pierwsze stabilne tetraploidy (Rys.1). Celem badań było określenie przydatności form tetraploidalnych do hodowli twórczej ukierunkowanej na wytwarzanie nowych odmian poliploidalnych tego gatunku.



**Rys. 1** Ocena poziomu ploidalności z wykorzystaniem cytometrii przepływowej i liczba chromosomów.

## MATERIAŁY I METODY

Materiał badawczy stanowiły diploidalne i tetraploidalne klonie porzeczki czarnej pochodzące od polskich odmian 'Gofert' (PC-1) i 'Polares' (PC-7/13). W 2023 roku oceniano termin i intensywność kwitnienia, wielkość i liczbę kwiatów w kwiatostanie, żywotność pyłku i jego rozmiary, wielkość owoców oraz liczbę nasion (Fot. 1-3). Żywotność pyłku oceniono na podstawie kiełkowania na pożywce agarowej z 3% roztworem sacharozy (Fot. 4-5) oraz barwienia pyłku wg metody Aleksander (Fot. 6-7). Wykonano krzyżowania międzyodmianowe i między wybranymi klonami typu 2x × 2x, 2x × 4x, 4x × 2x i 4x × 4x. Po krzyżowaniu obserwowano kiełkowanie ziaren pyłku na znamieniu i przenikania łagiewek pyłkowych do poszczególnych części słupka z użyciem mikroskopu fluorescencyjnego (Fot. 8-11).



## PODSUMOWANIE

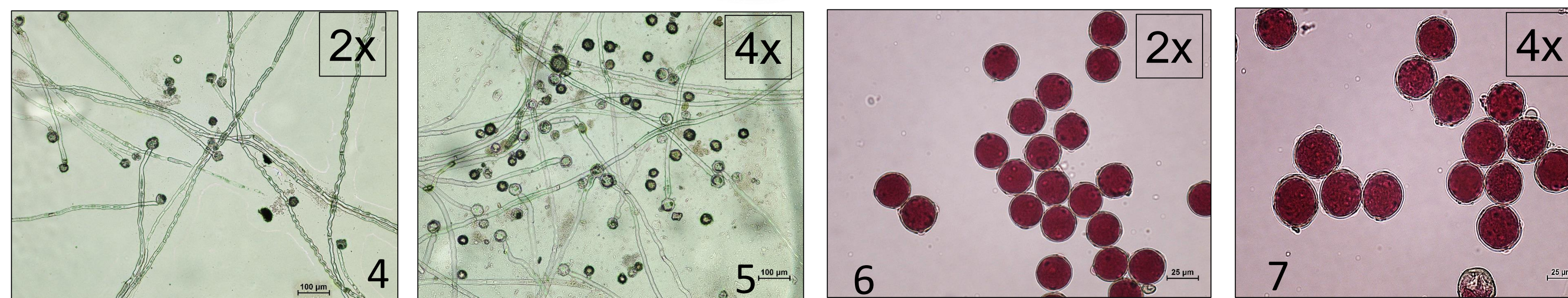
Wszystkie siewki pochodzące z krzyżowań 2x × 4x okazały się diploidami, natomiast nasiona z krzyżowań 4x × 2x nie skiełkowały (Tab. 3). Z krzyżowań 4x × 4x otrzymano siewki tetraploidalne (Fot. 12). W krzyżowaniach interploidalnych dochodziło do obumierania zarodków we wczesnym etapie rozwoju, co może być związane z blokiem triploidalnym, czyli pre- lub postzygotyczną barierą krzyżowalności. Ze względu na to zdecydowano o rozpoczęciu badań z zastosowaniem kultur *in vitro* izolowanych zarodków (embryo rescue).

## WYNIKI

Badane tetraploidy kwitły później i mniej intensywnie niż odmiany diploidalne porzeczki czarnej. Klony tetraploidalne charakteryzowały się większymi kwiatami (Fot. 1), większą średnicą pyłku (Wyk. 1) i niższą żywotnością w porównaniu z odmianami diploidalnymi (Fot. 4-5). Kiełkowanie pyłku na pożywkach wynosiło średnio 42% u tetraploidów i 73% u diploidów (Tab. 1). Wielkość owoców była podobna, ale klony tetraploidalne miały mniejszą zdolność zawiązywania nasion. Stwierdzono również, że owoce tetraploidów w gronie dojrzewają bardziej równomiernie niż odmiany diploidalne (Fot. 2, 3)



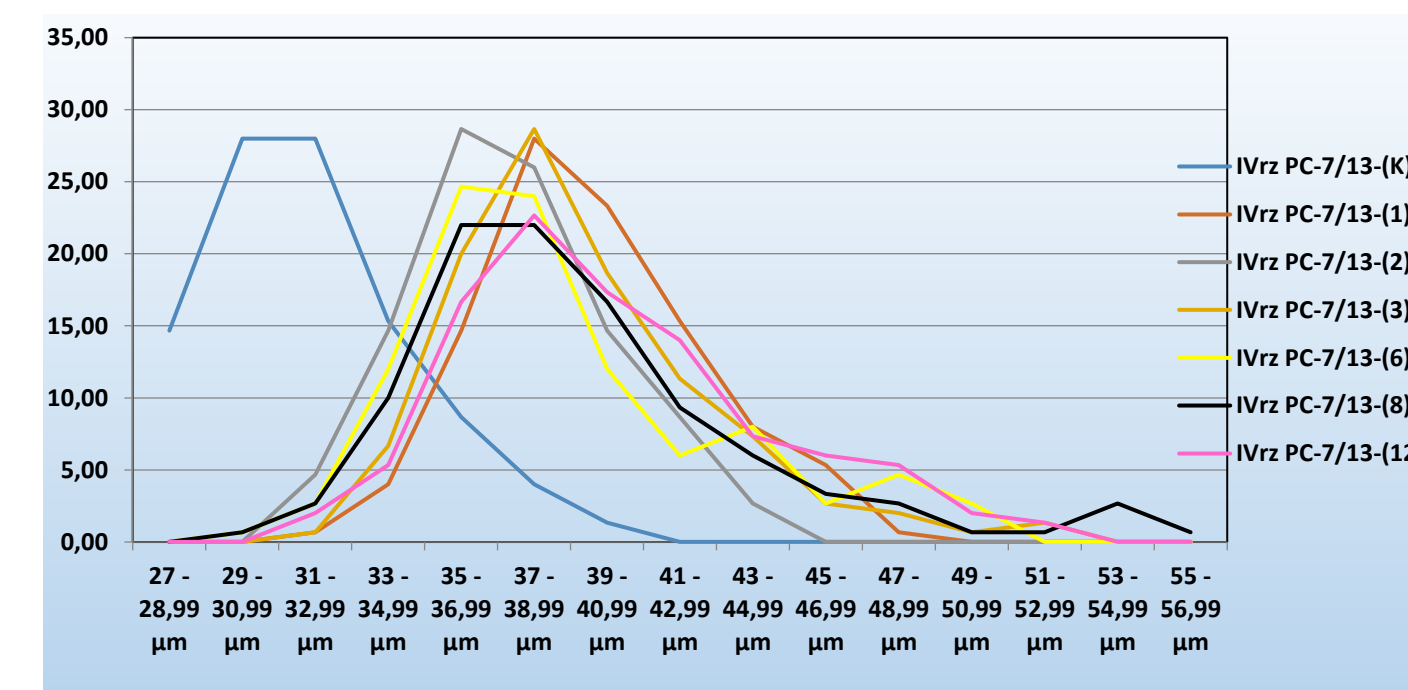
**Fot. 1, 2, 3.** Budowa kwiatostanów, kwiatów, owoców i nasion w diploidalnej (2x) odmianie 'Polares' i tetraploidalnym (4x) klonie.



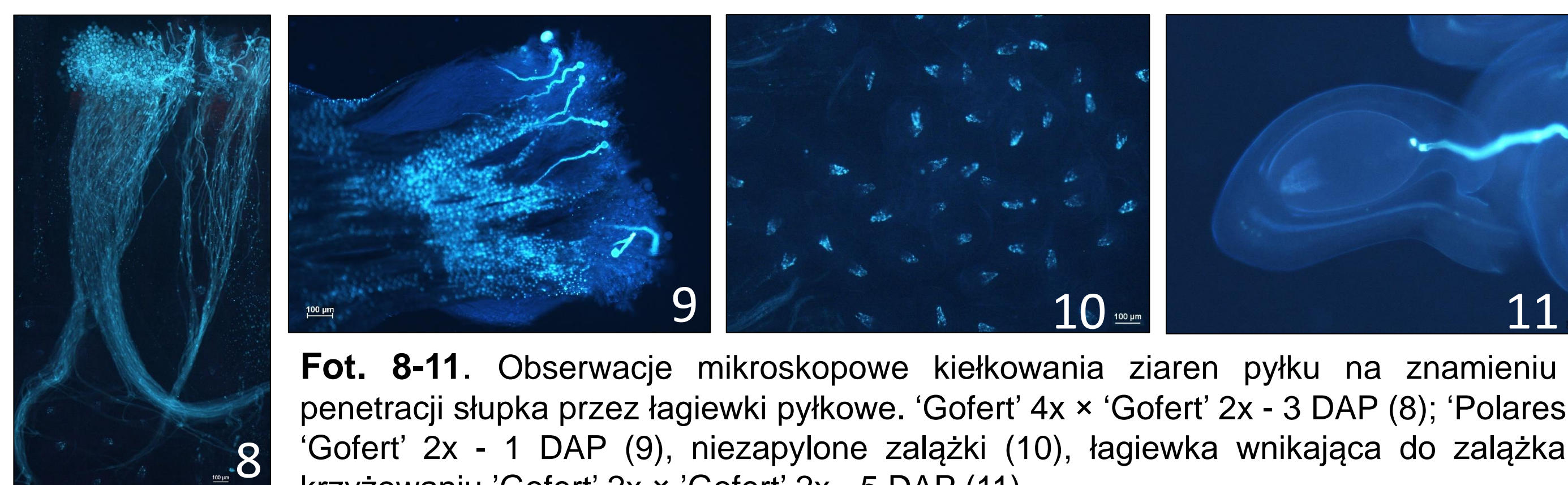
**Fot. 4-7.** Ocena żywotności ziaren pyłku. 4-5-kiełkowanie na pożywce agarowej; 6-7 barwienie ziaren pyłku wg metody Aleksander. 4,6) odmiana diploidalna 'Polares'; 5,7) tetraploidalny klon.

**Tabela 1.** Charakterystyka pyłku u diploidów (2x) i tetraploidów (4x) w odmianach 'Gofert' i 'Polares' w stadium generatywnym.

Genotyp	Średnica ziaren pyłku (µm)	Barwność pyłku (%)	Kiełkowanie pyłku (%)
Gofert 2x	30,6 b	95,20 a	91,87 a
Gofert 4x	38,8 a	81,28 b	45,68 b
Polares 2x	30,6 b	92,31 a	79,93 a
Polares 4x	38,9 a	84,28 b	64,40 b



**Wyk. 1.** Diagram przedstawiający wielkość pyłku w diploidalnej odmianie 'Polares' i w wybranych tetraploidalnych klonach.



**Fot. 8-11.** Obserwacje mikroskopowe kiełkowania ziaren pyłku na znamieniu oraz penetracji słupka przez łagiewki pyłkowe. 'Gofert' 4x × 'Gofert' 2x - 3 DAP (8); 'Polares' 2x × 'Gofert' 2x - 1 DAP (9), niezapylone załączki (10), łagiewka wnikająca do załączki przy krzyżowaniu 'Gofert' 2x × 'Gofert' 2x - 5 DAP (11).

**Tabela 2.** Stopień kiełkowania ziaren pyłku oraz wnikania do poszczególnych części słupka w krzyżowaniach 2x × 2x, 2x × 4x, 4x × 2x i 4x × 4x

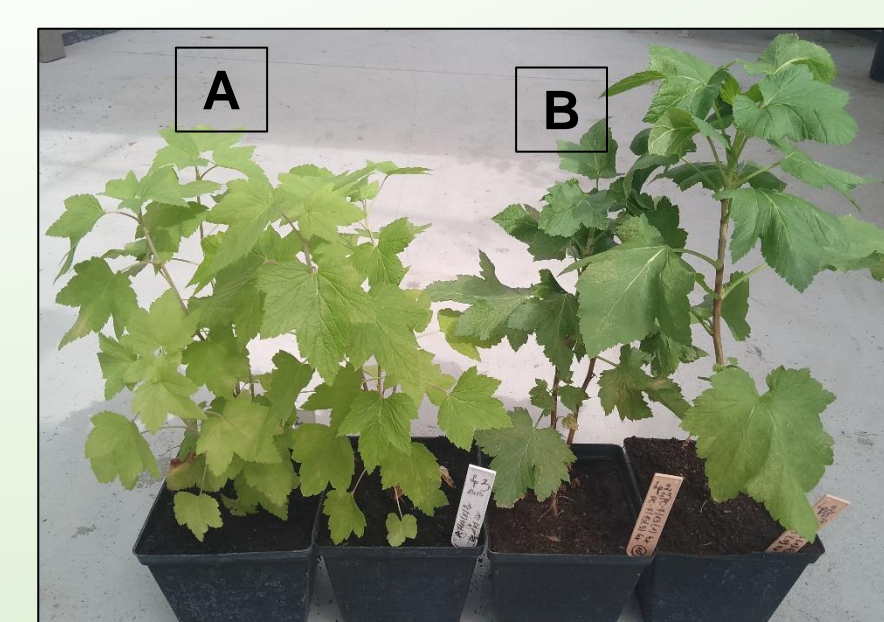
Krzyżowanie	Znamię					Szyjka					Załącznia				
	1	2	3	5	11	1	2	3	5	11	1	2	3	5	11
Gofert 2x × Gofert 2x	+++ <sup>2</sup>	+++	+++	+++	-	cała długość	cała długość	cała długość	cała długość	-	+	+	+	++	-
Gofert 2x × Gofert 4x	+++	+++	++	++	+	cała długość	cała długość	cała długość	cała długość	cała długość	-	+	++	+	-
Gofert 4x × Gofert 2x	+	+++	+++	+	+	bardzo krótkie	¼ długości	cała długość	cała długość	cała długość	-	-	++	+	-
Gofert 4x × Gofert 4x	++	+++	+++	++	+	½ długości	¼ długości	cała długość	cała długość	cała długość	-	-	++	-	-
Gofert 2x × Polares 2x	+++	+++	+++	+++	+++	cała długość	cała długość	cała długość	cała długość	cała długość	-	+	++	+++	+
Polares 2x × Gofert 2x	+	-	++	+	+	½ długości	-	cała długość	cała długość	cała długość	-	-	+	+	-

<sup>1</sup> DAP - day after pollination (dzień po zapyleniu)

<sup>2</sup> Intensywność kiełkowania ziaren pyłku i wnikania łagiewek pyłkowych oceniano w skali „plusowej”, +++ – najliczniejsze łagiewki pyłkowe, - brak kiełkowania lub brak pyłku

**Tabela 3.** Ocena zdolności do krzyżowania autotetraploidów porzeczki czarnej *in vivo*.

Krzyżowanie	Liczba zapylnych kwiatów	Liczba zawiązanych owoców	Liczba owoców	Liczba nasion	Liczba siewek
2x × 2x	94	56	50	650	320(2x)
2x × 4x	221	130	73	182	146(2x)
4x × 2x	188	102	9	39	0
4x × 4x	479	172	72	264	20(4x)



**Fot. 12.** Diploidalne (A) i tetraploidalne (B) siewki otrzymane z krzyżowań 2x × 2x i 4x × 4x.

Wyniki badań wskazują, że w poszczególnych kombinacjach krzyżowań obserwowano różną liczbę ziaren pyłku naniesionych na znamię słupka oraz zróżnicowaną intensywność kiełkowania ziaren pyłku i wnikania łagiewek pyłkowych do poszczególnych części słupka (Fot. 8-9). W przypadku kombinacji z formą mateczną tetraploidalną czas na całkowity przerost słupka przez łagiewkę był wydłużony, co jest spowodowane morfologią tej części kwiatu. Również w tych kombinacjach intensywność kiełkowania ziaren pyłku była obniżona. Dodatkowo zaobserwowano zróżnicowaną zgodność krzyżową w krzyżowaniach międzyodmianowych (2x × 2x). Wnikanie łagiewek pyłkowych do załączni zachodziło głównie w trzeciej dobie od zapylenia, mimo długiego czasu obserwacji wnikanie do załączek zaobserwowano tylko w przypadku kombinacji 2x × 2x w odmianie 'Gofert' (Fot. 11) (Tab. 2).