

## OFERTA WDROŻENIOWA

### Ocena statusu chromosomowego materiałów hodowlanych roślin ogrodniczych

**Słowa kluczowe:** techniki cytologiczne, chromosomy, poliploidy, identyfikacja mieszańców

Metody cytologiczne umożliwiają analizę liczby i morfologii chromosomów. Warunkiem prowadzenia badań jest prawidłowe otrzymanie preparatu cytologicznego chromosomów.

W przypadku materiału roślinnego preparaty mikroskopowe wykonuje się zazwyczaj ze stożków wzrostu korzeni lub młodych pędów oraz z komórek pochodzących z kultur *in vitro*, które charakteryzują intensywnymi podziałami komórek. Procedura obejmuje nagromadzenie komórek w stadium metafazy i skrócenie chromosomów, utwalenie materiału, wykonanie preparatu i barwienie. Każdy z etapów musi być zaadaptowany do materiału i gatunku roślin. Do skrócenia chromosomów można zastosować np., kolchicynę, 8-hydroksychinolinę lub bromonaftalen. Preparaty wykonuje się metodą zgniatania po wcześniejszej maceracji tkanek w 1N HCL bądź maceracji enzymatycznej. Do wybarwienia chromosomów można zastosować między innymi odczynnik Schiffa, acetokarmin, acetoorceinę lub barwnik fluorescencyjny 4',6-diamidyno-2-fenylindol (DAPI). W zależności od użytego barwnika, obserwację i analizę liczby chromosomów można prowadzić pod mikroskopem świetlnym lub fluorescencyjnym.

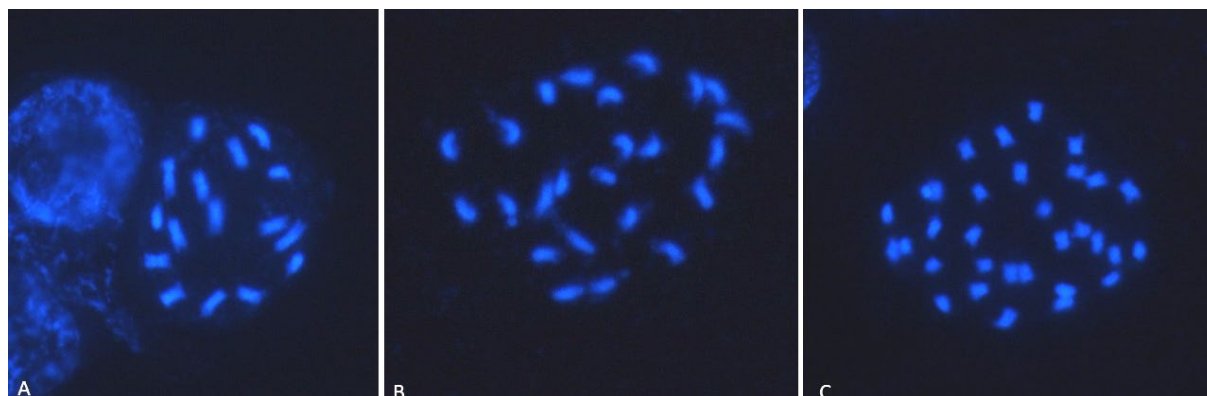
W pracach hodowlanych znajomość statusu chromosomowego umożliwia dobór partnerów do krzyżowań, weryfikację statusu mieszańców oraz ocenę wielkości genomów (detekcja haploidów, poliploidów, aneuploidów).

W Instytucie Ogrodnictwa – PIB analizę liczby chromosomów wykorzystuje się do potwierdzenia lub oceny poziomu ploidalności materiałów hodowlanych jagody kamczackiej, liliowca, analizy mieszańców pokolenia F<sub>1</sub> i BC<sub>1</sub> roślin kapustowatych, porzeczki i jabłoni oraz selekcji sztucznie indukowanych poliploidów m.in. porzeczki, tulipana, agrestu i jabłoni. Do cytologicznej oceny materiałów hodowlanych zaadaptowano metodę, która umożliwia wykonanie półtrwałych preparatów mikroskopowych z merystemów wierzchołkowych korzeni metodą maceracji enzymatycznej i barwionych DAPI (Tabeli 1). Metoda umożliwia wykonanie preparatu do badań cytologicznych dla wielu gatunków roślin ogrodniczych.

**Gatunki roślin, dla których zaadaptowano ww. metodę:** porzeczka czarna, agrest, jagoda kamczacka, świdośliwa, czereśnia, jabłoń, rzepak, kapusta warzywna, gorczyca biała, zwartnica.

**Tabela 1.** Zoptymalizowana metoda przygotowania preparatów chromosomowych z merystemów wierzchołkowych korzeni

Inhibitor wrzeciona podziałowego	Utrwalanie materiału	Maceracja enzymatyczna	Sporządzenie preparatów	Barwienie	Obserwacja
0,002 M roztwór 8-hydroksychinoliny; 2 godz. 4°C i 3-4 godz. temp. pokojowa w ciemności	Carnoy (alkohol 96%; kwas octowy; 3:1) 10 godz.	4% Pektynaza; 2% Celulaza w 0,01M buforze cytrynianowym 80-90 min 37°C	Metoda z zastosowaniem ciekłego azotu	DAPI	Mikroskop fluorescencyjny



Obserwacje mikroskopowe liczby chromosomów w merystemach wierzchołkowych korzeni poręczki czarnej dla genotypów o różnym poziomie ploidalności. (A) Diploid – 16 chromosomów. (B) Triploid – 24 chromosomy. (C) Tetraploid – 32 chromosomy.

### Innowacyjność wdrożeniowa – efekty gospodarcze i społeczne

Metoda enzymatyczna przygotowania preparatów gniecionych z merystemów wierzchołkowych korzeni barwionych DAPI została zoptymalizowana dla szerokiego spektrum gatunków ogrodniczych. Zaproponowana preparatyka chromosomów metafazowych może być wykorzystywana w pracach hodowlanych do selekcji haploidów, poliploidów, aneuploidów oraz do oceny statusu mieszańców otrzymanych w wyniku krzyżowania genotypów różniących się liczbą chromosomów. Analiza liczby chromosomów przyczyni się do znacznego przyspieszenia prac hodowlanych roślin ogrodniczych.

### Podmioty, do których skierowana jest oferta wdrożeniowa

Firmy hodowlane, ośrodki badawcze zajmujące się pracami hodowlanymi i pokrewne.

#### Twórcy oferty wdrożeniowej:

Centrum Innowacyjnych i Zrównoważonych Technologii Ogrodniczych  
Zakład Biologii Stosowanej

#### Autor:

dr hab. Agnieszka Marasek-Ciołakowska, prof. IO  
tel. (046) 83 46 783  
e-mail: [agnieszka.marasek@inhort.pl](mailto:agnieszka.marasek@inhort.pl)

#### Współautorzy:

mgr Aleksandra Machlańska  
mgr Urszula Kowalska

Praca wykonana w ramach tematu badawczego 9.7.21 „Diagnostyka mikroskopowa i cytometryczna w hodowli i ochronie roślin sadowniczych”, realizowanego w Instytucie Ogrodnictwa – PIB w Skierniewicach, finansowanego przez MNiSW.

Rok przygotowania oferty: 2024