

Raport końcowy za lata 2018-2021 z projektu NCN 2017/25/B/NZ9/00148
**pt. „Badanie mechanizmu degeneracji woreczków zalążkowych i aborcji
kwiatów jako przyczyny słabego zawiązywania nasion gryki
zwyczajnej(*Fagopyrum esculentum* Moench)”**

Kierownik projektu: prof. dr hab. Agnieszka Płazek, Katedra Fizjologii, Hodowli Roślin i
Nasiennictwa, Wydział Rolniczo-Ekonomiczny.

Wprowadzenie

Gryka zwyczajna (*Fagopyrum esculentum* Moench.) jest cenną rośliną, uprawianą głównie na cele spożywcze ze względu na bardzo dobry skład chemiczny nasion, a zwłaszcza na wysoką zawartość żelaza, rutyny, błonnika oraz lizyny i innych aminokwasów (Halbrecq i in., 2005; Christa i Sorali-Śmietana, 2008). Roślina ta posiada działanie fitosanitarne, wysoką zdolność przyswajania azotu i fosforu z gleby, odporność na szkodniki i choroby, oraz małe wymagania glebowe, stąd też gryka ma duży potencjał gospodarczy, jednakże wciąż niedostatecznie wykorzystywany w polskim rolnictwie, prawdopodobnie ze względu na niestabilne i niskie plonowanie. Niski plon nasion gryki przypisuje się głównie skomplikowanej biologii kwitnienia i dużej wrażliwości na szereg czynników środowiskowych. Gryka charakteryzuje się wysokim stopniem zaburzeń w rozwoju embriologicznym, co jest warunkowane głównie podłożem genetycznym (Cawoy i in., 2009; Słomka i in., 2017). Gatunek ten cechuje samoniezgodność, wynikająca z występowania heterostylii, tj. kwiatów typu Pin i Thrum, o zróżnicowanej długości słupków i pręcików, pomiędzy którymi musi dojść do zapłodnienia krzyżowego. Gryka jest rośliną niesamokończącą i kwitnie przez cały okres wegetacji, co powoduje występowanie silnej konkurencji o asymilaty pomiędzy zawiązanymi nasionami a wciąż produkowanymi kwiatami. Gryka zapylana jest głównie przez pszczoły zwabiane nektarem bogatym w cukry, aczkolwiek w naszych doświadczeniach głównymi zapylaczami okazały się trzmiele i muchówki. Największym problemem w uprawie gryki jest niestabilność plonowania ze względu na słabe zawiązywanie nasion w stosunku do liczby wytworzonych kwiatów (około 10% kwiatów zawiązuje nasiona). Gryka jest wrażliwa na przymrozki, a z kolei wysoka temperatura i susza powodują zamieranie zawiązków nasion.

Celem projektu było zbadanie przyczyn wadliwego rozwoju woreczków zalążkowych oraz aborcji kwiatów i niedojrzałych nasion gryki zwyczajnej. **Hipoteza badawcza** zakładała, że głównymi przyczynami tych procesów jest stres temperaturowy i troficzny. Badania przeprowadzono na roślinach polskiej odmiany „Panda” i rodu PA15 (obecnie zarejestrowanego jako odmiana „Korona”), różniących się stopniem degeneracji woreczków zalążkowych i aborcji kwiatów oraz wielkością plonu nasion. Nasiona uzyskano z Zakładu Produkcyjnego w Palikijach (Małopolska Hodowla Roślin Sp. z o.o.). W projekcie wykonano dwa podstawowe eksperymenty.

Eksperyment 1. Wpływ stresu termicznego na rozwój embriologiczny, profil hormonalny, zmiany ilościowe białek szoku cieplnego HSP-70 i 90 i zmiany proteomiczne w pąkach, kwiatkach otwartych i przekwitniętych oraz liściach donorowych (znajdujących się najbliżej kwiatostanów). Rośliny uprawiano w doniczkach w dwóch komorach fitotronowych w temperaturze 30°C i 20°C (kontrola), przy zachowaniu 16-godzinnego fotoperiodu i świetle PPFD (z ang. photosynthetic photon flux density) o natężeniu 300 μmol (kwantów) $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Dodatkowo, wykonano pomiary fluorescencji chlorofilu *a* i wymiany gazowej.

Eksperyment 2. Wpływ stresu troficznego w warunkach *in vitro* i *in planta*. a) Stres troficzny *in vitro* wywołano wykładając pąki kwiatowe na trzy różne pożywki agarowe zawierające pełny i ubogi skład składników troficznych czyli cukru i witamin. W tym przypadku analizowano tylko rozwój mikrospor i zalążków. b) Stres troficzny *in planta* badano w otwartym tunelu foliowym. Usuwano 50% lub 75% kwiatów lub obcinano wszystkie pędy boczne, pozostawiając pęd główny. Analizowano rozwój embrionalny, profil hormonalny w tych samych fazach rozwojowych kwiatów i liściach jak w stresie termicznym, ponadto oceniano liczbę kwiatów, ich aborcję, liczbę nasion i ich masę.

Osiągnięcia i wnioski

1. Wysoka temperatura (30°C) występująca w okresie rozwoju embriologicznego oraz w okresie kwitnienia, która jest optymalna dla rozwoju wegetatywnego gryki, zwiększa stopień degeneracji woreczków zalążkowych. Z drugiej strony, wysoka temperatura nie zmniejsza żywotności mikrospor.

2. W wysokiej temperaturze prawdopodobnie białko HSP-70 pełni ochronną rolę w procesach embriologicznych i fotosyntetycznych gryki zwyczajnej.
3. Wzrost poziomu izoformy X2 syntazy indolo-3-glicerolo-fosforanu może być uznany jako marker wrażliwości roślin gryki na stres cieplny.
4. Znaczny wzrost poziomu kwasu abscysynowego w otwartych kwiatach gotowych do zapłodnienia indukuje starzenie się kwiatów obserwowane w kolejnych dniach.
5. Wzrost liczby kwiatów produkowanych przez roślinę zawsze pociąga za sobą zwiększenie ich aborcji. Punktem krytycznym dla plonu nasion jest sam moment kwitnienia i zapłodnienia. Nadprodukcja kwiatów oraz tworzenie zarodków jest procesem wyczerpującym zapasy rośliny. Niewypełnianie wszystkich nasion już nie zrekompensuje tych strat. Wykształcanie pustych nasion jest, obok aborcji kwiatów, inną formą regulacji plonowania w sytuacji, kiedy roślina wyprodukowała za dużą liczbę kwiatów.
6. Stres troficzny jest główną przyczyną niskiego plonowania gryki. Nawet gdyby wzrosła liczba prawidłowo wykształconych woreczków zalążkowych, roślina i tak nie byłaby zdolna do wypełnienia wszystkich nasion. Rośliny gryki zdają się mieć ograniczoną możliwość wyprodukowania asymilatów gromadzonych w nasionach.
7. Wyniki potwierdziły nasz pogląd, że wytworzenie formy samokończącej zmniejszyłoby stopień degeneracji zalążków, aborcji kwiatów i zawiązanych nasion.

Najważniejsze wyniki (wszystkie wyniki zostały zamieszczone na stronie internetowej UR: <https://wre.urk.edu.pl/index/site/4888>)

1. Stres termiczny,

a. Ocena przebiegu mikro- i megasporogenezy oraz mikro- i megagametofitogenezy w dwóch temperaturach: 20°C i 30°C. (Wyniki opublikowane w artykule Plażek i in. 2019)

Wysoka temperatura nie obniżyła żywotności ziaren pyłku odmiany „Panda”, natomiast nieznacznie zmniejszyła żywotność mikrosporodu PA15. W warunkach kontrolnych (20°C) żywotność pyłku odmiany „Panda” była istotnie mniejsza od rodu PA15. Proces megasporofitogenezy i megagametogenezy był zdecydowanie bardziej wrażliwy na wpływ wysokiej temperatury w porównaniu do mikrosporofitogenezy i mikrogametogenezy. W wyższej temperaturze w pąkach kwiatowych odmiany „Panda” zanotowano prawie 40% mniej prawidłowo wykształconych woreczków zalążkowych w porównaniu do roślin kontrolnych. W przypadku PA15 efekt termiczny na rozwój woreczków zalążkowych w pąkach był nieznaczny. Z tego względu uznano większą wrażliwość odmiany „Panda” na stres wysokiej temperatury niż rodu PA15. W pełni rozwiniętych kwiatach, zdolnych do zapłodnienia, u obu odmian obserwowano dwa razy mniej prawidłowo wykształconych zalążków w 30°C niż w 20°C, a w kwiatach przekwitniętych stopień degeneracji woreczków zalążkowych był podobny. Zaburzenia rozwojowe polegały na rozroście komórek integumentów, wadliwej wakuolizacji komórek jajowych, zapadanie się światła woreczka zalążkowego czy braku synergid. W przypadku odmiany „Panda” w 30°C proces silnego rozrostu komórek woreczka zalążkowego można łączyć z istotnym wzrostem poziomu aktywnych giberelin (GAs), cytokinin (CYT) i estru metylowego kwasu jasmonowego (JA-Met). W 30°C w kwiatach w pełni rozwiniętych „Pandy” obserwowano istotny wzrost poziomu kwasu abscysynowego (ABA), natomiast w takich samych kwiatach rodu PA15 następowało jego obniżenie. Należy tu zaznaczyć sygnałną rolę ABA w starzeniu się różnych organów, w tym także kwiatów. Sygnał ABA występował już w pełni rozwiniętych kwiatach, które są zdolne do zapłodnienia tylko przez jeden dzień. W kwiatach przekwitniętych poziom ABA istotnie spadał.

b. Określenie profilu hormonalnego w różnych fazach rozwojowych kwiatów oraz liści donorowych (leżących najbliżej badanych kwiatów) w stresie termicznym. (Wyniki opisano w publikacji: Plażek i in. 2019)

Prześledzono zmiany hormonalne zachodzące w kolejnych stadiach rozwojowych kwiatów i w liściach donorowych w roślinach kontrolnych i pod wpływem wysokiej temperatury. Zmiany te zależały głównie od odmiany i organu. W roślinach kontrolnych najmniejsza ilość CYT występowała w liściach w porównaniu do pąków, otwartych i przekwitniętych kwiatów. Gibereliny występowały głównie w otwartych i przekwitniętych kwiatach. Najwyższy poziom IAA wykryto w przekwitniętych kwiatach, a najniższy w liściach. Większe ilości ABA stwierdzono w otwartych kwiatach w porównaniu do innych organów. Wszystkie stadia rozwojowe kwiatów wykazywały wyższy poziom kwasu salicylowego (SA) niż w liściach, w przeciwieństwie do JA i JA-Met. Stres termiczny zwiększył istotnie zawartość CYT w kwiatach otwartych i przekwitniętych odmiany „Panda”, poziom IAA w przekwitniętych kwiatach

PA15 oraz zawartość giberelin w kwiatach odmiany „Panda”. W temperaturze 30°C stwierdzono obniżenie poziomu ABA w kwiatach PA15 oraz JA w pąkach obu odmian. Pod wpływem wysokiej temperatury zwiększyła się zawartość JA-Met w pąkach i kwiatach odmiany „Panda”. Zawartość SA nie ulegała zmianie pod wpływem stresu termicznego.

c. Oznaczenie białek szoku cieplnego HSP-70 i HSP-90 w kwiatach w różnych fazach rozwojowych i liściach donorowych; dodatkowo zbadano wydajność fotosyntetyczną w stresie termicznym. (Wyniki opublikowano w artykule: Płażek i in. 2020 oraz Hornyák i in. 2020a).

Analiza poziomu białek metodą Western blot wykazała u obu odmian uprawianych w 20°C i 30°C zdecydowanie większą zawartość białka HSP-70 niż HSP-90. Dotyczyło to wszystkich badanych organów, zarówno odmiany „Panda”, jak i PA15. U „Pandy” wyraźny wzrost HSP-70 pod wpływem stresu termicznego zanotowano w pąkach i kwiatach przekwitniętych w stosunku do roślin kontrolnych, natomiast w 20°C (kontroli) zawartość tego białka była wyższa w kwiatach otwartych. W liściach donorowych tej odmiany poziom HSP-70 był niższy w 30°C niż w kontroli. W 20°C u PA15 wyraźnie wyższy poziom HSP-70 zaobserwowano w kwiatach otwartych. W pąkach i liściach zawartość tego białka była większa w 30°C niż w 20°C. Zawartość HSP-90 była mało zróżnicowana u obu odmian, jedynie w liściach kontrolnych odmiany „Panda” obserwowano więcej tego białka niż w liściach roślin uprawianych w 30°C, zaś w liściach PA15 reakcja była odwrotna.

U obu odmian w temperaturze 30°C wszystkie parametry wydajności fotochemicznej fotosystemu drugiego (PSII) były wyższe niż w temperaturze 20°C, co świadczy o tym, że zastosowana wysoka temperatura nie była czynnikiem stresowym, a wręcz była korzystniejsza dla tych procesów fazy jasnej fotosyntezy. Również w tym eksperymencie badane odmiany różniły się reakcją na wysoką temperaturę. Odmiana „Panda” w 30°C asymilowała dwukrotnie więcej dwutlenku węgla niż w 20°C, natomiast u PA15 wydajność fotosyntezy netto była taka sama w obu temperaturach, lecz była istotnie wyższa niż u odmiany „Panda”. Należy podkreślić, że rośliny obu odmian rosły szybciej w 30°C niż w 20°C. Tą reakcją można by tłumaczyć fakt istotnie mniejszej zawartości cukrów rozpuszczalnych w liściach donorowych wszystkich roślin rosnących w 30°C w porównaniu do roślin z 20°C. Analiza specyficznych parametrów kinetyki fluorescencji chlorofilu *a*, (prawdopodobieństwo, że wzbudzony elektron jest przenoszony do łańcucha transportowego elektronów poza przenośnik $Q_A - \psi_{R0}$, oraz wydajność kwantowa elektronu transportowanego z Q_A do akceptorów elektronów końcowych fotosystemu PSI – ϕ_{R0}), sugeruje, że u PA15 część energii w postaci ATP została uzyskana w 30°C w procesie fosforylacji cyklicznej bez syntezy NADPH, drugiej siły asymilacyjnej, potrzebnej w fazie ciemnej, co skutkowałoby zmniejszeniem syntezy cukrów. Tego zjawiska z kolei nie obserwowano u odmiany „Panda”. Uzyskane wyniki potwierdzają efekty wyższej temperatury na rozwój embriologiczny, uważamy bowiem, że rośliny rodu PA15 są bardziej odporne na ten stres niż rośliny odmiany „Panda”. Wyższa temperatura sprzyja lepszemu rozwojowi wegetatywnemu gryki zwyczajnej, jednak jest czynnikiem stresowym dla rozwoju woreczków zalążkowych.

d. Zmiany proteomiczne w stresie termicznym (wyniki opublikowane: Kopeć i in. 2021)

Profil proteomiczny był badany metodą elektroforezy dwukierunkową i spektrometrii masowej. Badane rośliny gryki „Panda” i PA15 różniły się tolerancją na wysoką temperaturę, co ilustruje stopień degeneracji woreczka zarodkowego pod wpływem tego stresu. Różne reakcje na stres cieplny znalazły odzwierciedlenie także w ich profilach białkowych. Wysoka temperatura istotnie zwiększyła zawartość białka ogólnego w kwiatach rozwiniętych (1,68 razy) i przekwitłych (trzykrotnie) oraz liściach (prawie siedmiokrotnie) odmiany „Panda”, a w pąkach kwiatowych zmniejszyła poziom białek 1,3 razy, porównując do roślin kontrolnych. Ród PA15 (odmiana „Korona”) zdecydowanie słabiej reagował na stres termiczny pod względem zawartości białka ogólnego, bowiem w kwiatach przekwitłych wysoka temperatura zmniejszyła zawartość białka (1,4 razy), a zwiększenie jego zawartości obserwowano jedynie w liściach. Do identyfikacji białek wytypowano z żeli poliakrylamidowych 200 białek, których zawartość była co najmniej dwukrotnie mniejsza lub większa u roślin rosnących w wyższej temperaturze w stosunku do rosnących w warunkach kontrolnych. Białka te pełnią różne funkcje w komórce: sygnałową, w hydrolizie ATP, w procesach fotosyntezy, syntezy białek, rozkładzie proteolitycznym białek, metabolizmie węglowodanów i azotu, organizacji komórki. Udało się zidentyfikować tylko część białek. Zawartość 15 białek w roślinach rosnących w wysokiej temperaturze była podobna dla wszystkich badanych roślin. W wyniku reakcji na wysoką temperaturę zostało zakumulowanych więcej białek w roślinach PA15 niż „Pandy”. Izoforma X2 syntazy indolo-3-glicerolo- fosforanu, podobna do tej zawartej w chloroplastach, wzrosła znacząco w otwartych kwiatach „Pandy” pod wpływem stresu cieplnego.

Eksperyment 2. Stres troficzny

a) Wpływ warunków troficznych na przebieg megasporogenezy i megagametofitogenezy w izolowanych szupkach gryki odmiany Panda i rodu PA15 w warunkach in vitro. (Wyniki opublikowane: Hornyák i in. 2020b)

Zielone pąki kwiatowe pobierano z roślin uprawianych w 20°C i wykładano na pożywki agarowe zawierające składniki niezbędne dla prawidłowego przebiegu procesów embriologicznych. Stres troficzny polegał na hodowli pąków na pożywkach agarowych zawierających połowę lub 1/3 składu pożywek kontrolnych, z wyjątkiem hormonów, których skład był w każdym wariancie taki sam.

Pożywka 1. Kontrola. Bazowa pożywka wyjściowa: ½ MS (Murashige i Skoog 1962) + 3% sacharozy + 1 mg/l BA + 0.1 mg/l NAA. **Pożywka 1A** – zawierała połowę stężeń składników odżywczych pożywki 1. **Pożywka 1B** – 1/3 stężeń składników odżywczych pożywki 1. **Pożywka 2. Kontrola.** Bazowa pożywka wyjściowa: makro- i mikroelementy MS + 2 mg/l zestawu witamin jak w pożywce B5 (Gamborg i in. 1968) + 2,5 g/l sacharozy + 0,1 g/l glutaminy + 1 mg/l kinetyny + 1 mg/l gibereliny GA₃). **Pożywka 2A** – zawierała połowę stężeń składników odżywczych pożywki 2. **Pożywka 3. Kontrola.** Bazowa pożywka wyjściowa: MS + 3% sacharoza + 2 mg/l zeatyny. **Pożywka 3A** – zawierała połowę zawartości składników odżywczych pożywki 3.

Na poszczególnych pożywkach kontrolnych po 5 i po 10 dniach hodowli obserwowano różnego rodzaju zaburzenia w rozwoju woreczków zalążkowych. Należały do nich: rozrost komórek integumentów, rozrost komórek ośrodka zalążka, dodatkowe podziały w woreczkach zalążkowych, rozwój struktur zarodkopodobnych. Zaburzenia w megasporofitogenezie oraz megagametogenezie obserwowano na wszystkich pożywkach kontrolnych oraz ich odpowiednikach o zmniejszonym składzie, ale najczęściej deformacji notowano na pożywce 1B, czyli zawierającej tylko jedną trzecią składników odżywczych. Dużo więcej przypadków degeneracji woreczków zalążkowych (zarówno w kontroli, jak i na ubogich pożywkach) obserwowano w przypadku rodu PA15 niż odmiany „Panda”. Wynik ten jest o tyle interesujący, że w warunkach *in vivo* u rodu PA15 obserwowano dużo mniejszy stopień degeneracji.

b) Wpływ stresu troficznego na przebieg rozwoju embriologicznego, profilu hormonalnego oraz struktury plonowania w warunkach in planta (Wyniki opublikowane w artykule: Hornyák i in. 2020b)

Rośliny uprawiano od maja do września w doniczkach w tunelu otwartym umożliwiającym oblot owadów zapylających. Część roślin prowadzono w uprawie jednopędowej (boczne pędy usuwano sukcesywnie), na części roślin usuwano 50 lub 75% kwiatów. Na roślinach kontrolnych pozostawiano pędy boczne i wszystkie kwiaty. W pozostawionych na roślinach pąkach, kwiatach otwartych i przekwitających analizowano przebieg procesów embriologicznych oraz wyznaczano profil hormonalny, oceniano produkcję kwiatów przez jedną roślinę. Pod koniec sierpnia zebrano nasiona. Liczbę nasion pełnych i pustych, masę nasion pełnych przeliczano na jedną roślinę. Ponadto, obliczono masę tysiąca nasion (MTN). Po analizie nasion obliczono procent aborcji kwiatów. Przeprowadzono analizę zależności pomiędzy liczbą kwiatów, a liczbą uzyskanych nasion z jednej rośliny, liczbą kwiatów i masą nasion, aborcją kwiatów a pozostałymi parametrami plonu.

Rozwój embrionalny i profil hormonalny

W roślinach rodu PA15, z których usunięto 50% kwiatów, wykryto najmniejszy procent zdegenerowanych woreczków zalążkowych (o 20% mniej niż w roślinach kontrolnych). W pąkach kwiatowych tych roślin odnotowano istotnie mniej giberelin, cytokinin i ABA, zaś istotnie więcej JA, i SA w stosunku do roślin kontrolnych, jak i roślin inaczej traktowanych. W otwartych kwiatach zdolnych do zapłodnienia w roślinach z 50-procentowym usunięciem kwiatów, zanotowano istotnie więcej ABA, JA, SA i BA niż u roślin kontrolnych. Zwłaszcza stężenia SA i BA były dużo wyższe. Dodatkowo, w tych kwiatach wykryto więcej IAA. Niewykluczone, że auksyna ta podtrzymuje rozwój zarodków, co mogło mieć znaczenie dla większego plonu nasion w przypadku tych roślin. Kwas salicylowy odgrywa dużą rolę w procesie kwitnienia i przywabiania owadów, podobnie jak kwas jasmonowy. Kwas jasmonowy jest niezbędny także do tworzenia komórki jajowej, a jego brak jest charakterystyczny dla sterylnych kwiatów. Zazwyczaj uważa się, że ABA, jako antagonist giberelin, hamuje proces kwitnienia, stąd też dziwi fakt, że w kwiatach, które najlepiej zawiązywały nasiona, właśnie tego hormonu było więcej niż w kwiatach roślin o większym stopniu degeneracji woreczków zalążkowych. Wysokie stężenie SA wskazuje również na jego ważną rolę w procesie kwitnienia roślin. Kontroluje on, podobnie jak JA proces przywabiania owadów. Prekursorem kwasu salicylowego jest kwas benzoesowy, stąd też nic dziwnego, że stężenie BA w kwiatach było wysokie. Należy zaznaczyć, że wszystkie powyższe obserwacje dotyczyły jedynie składu hormonalnego w kwiatach roślin rodu PA15 po usunięciu 50% kwiatów, natomiast w tak traktowanych roślinach odmiany ‘Panda’ tego typu zmian nie obserwowano. Analizując z kolei skład hormonalny w pąkach roślin PA15, z których usunięto 75%

kwiątów, stwierdzono najwięcej IAA i ABA. W otwartych kwiatach zanotowano najmniej IAA i jasmonianów, ale najwięcej giberelin. Co ciekawe, pomimo większego procentu nieprawidłowo wykształconych woreczków zalążkowych u PA15 po usunięciu 75% kwiątów, stwierdzono większą efektywność zawiązywania nasion niż u roślin po usunięciu 50% kwiątów. W roślinach „Pandy” po usunięciu 75% kwiątów stwierdzono także dużo większy odsetek wadliwych woreczków zalążkowych niż u roślin inaczej traktowanych, ale efektywność zawiązywania nasion była podobna do roślin, z których usunięto 50% kwiątów. Niewykluczone, że efekt ten był spowodowany większym stężeniem giberelin i że te hormony wykazują większą niż auksyny efektywność w podtrzymywaniu przy życiu powstających po zapłodnieniu zarodków.

Analiza kwitnienia i parametrów plonu

Usuwanie kwiątów powodowało kompensacyjną produkcję następnych kwiątów. Zwłaszcza w roślinach „Pandy” 50% usunięcie kwiątów wywołało zwiększenie ich liczby o 130%, a w roślinach, z których usunięto 75% kwiątów wzrost liczebności nastąpił o 260%. Wzrost liczby kwiątów korelował ze zwiększoną aborcją kwiątów i zarodków. Usuwanie 75% kwiątów oraz uprawa jedнопędowa u obu odmian znacznie zmniejszyły liczbę kwiątów wyprodukowane przez jedną roślinę w porównaniu z kontrolą. Po usunięciu 50% lub 75% kwiątów, u odmiany „Panda” zwiększyła się liczba nasion. Rośliny „Panda” i PA15 z jednym pędem głównym produkowały najmniej dojrzałych i pustych nasion w porównaniu z kontrolą; jednakże u PA15, masa pojedynczego ziarna była największa. Mniejsza liczba dojrzałych nasion przełożyła się na lepsze ich wypełnienie, a w konsekwencji zwiększenie masy tysiąca nasion. Rośliny w uprawie jedнопędowej wcześniej kończyły wegetację, a ich nasiona dojrzewały szybciej. Generalnie, pojedyncze nasiona PA15 wykazały istotnie większą masę niż nasiona odmiany „Panda”.

Wpływ na rozwój dyscypliny

Układ doświadczeń, w których analizowano zmiany embriologiczne, hormonalne, proteomiczne zachodzące w pąkach kwiatowych, kwiatach zdolnych do zapłodnienia i przekwitłych, oraz w liściach donorowych w stresie termicznym i troficznym był nowatorski. Uzyskane wyniki poszerzyły wiedzę na temat biologii kwitnienia i efektywności zapłodnienia u gryki, zmian endogennych prowadzących do degeneracji zalążków, jak też umożliwiających wzrost efektywności zapłodnienia i podtrzymania rozwijania się zarodków. Udowodniono, że główną przyczyną niskiego plonowania nasion gryki zwyczajnej jest silna konkurencja pomiędzy wciąż powstającymi kwiatami a już zawiązanymi nasionami. Przełamanie tej genetycznej cechy tradycyjnymi metodami hodowlanymi jest praktycznie niemożliwe, stąd nasze wyniki nadają nowy kierunek hodowli gryki, która powinna dążyć do otrzymania formy samokończącej. Niewykluczone, że byłoby to możliwe tylko poprzez mutację. Otrzymane wyniki są istotne dla rozwoju dyscypliny rolnictwo i ogrodnictwo, jak też dostarczyły nowych informacji w dyscyplinie nauki biologiczne.

Literatura:

- Cawoy, V., Ledent, J. F., Kinet, J. M., Jacquemart, A. L. (2009). Floral biology of common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench). The European Journal of Plant Science and Biotechnology, 3(1), 1-9.
- Christa, K., Soral-Smietana, M. (2008). Effect of roasting process on the enzymatic digestibility of proteins in grains of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench). Żywność Nauka Technologia Jakość (Poland).
- Gamborg, O. L., Miller, R., Ojima, K. (1968). Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. Experimental Cell Research, 50(1), 151-158.
- Halbrecq, B., Romedenne, P., Ledent, J. F. (2005). Evolution of flowering, ripening and seed set in buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench): quantitative analysis. European Journal of Agronomy, 23(3), 209-224.
- Hornyák, M., Płazek, A., Kopeć, P., Dziurka, M., Pastuszak, J., Szczerba, A., & Hura, T. (2020a). Photosynthetic activity of common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) exposed to thermal stress. Photosynthetica, 58(1), 45-53.
- Hornyák, M., Słomka, A., Sychta, K., Dziurka, M., Kopeć, P., Pastuszak, J., Szczerba, A., Płazek, A. (2020b). Reducing flower competition for assimilates by half results in higher yield of *Fagopyrum esculentum*. Int. J. Mol. Sci., 21(23), 8953.
- Kopeć, P., Hornyák M., Pastuszak, J., Szczerba, A., Rapacz, M., Waga, J., Płazek, A. (2021). Changes in flower and leaf proteome of common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) under high temperature. Int. J. Mol. Sci. 2021, 22, 2678. <https://doi.org/10.3390/ijms22052678>,

- Murashige, T., Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, 15(3), 473-497.
- Płazek, A., Hura, K., Hura, T., Słomka, A., Hornyák, M., Sychta, K. (2020). Synthesis of heat-shock proteins HSP-70 and HSP-90 in flowers of common buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) under thermal stress. *Crop and Pasture Science*, 71(8), 760-767.
- Płazek, A., Słomka, A., Kopeć, P., Dziurka, M., Hornyák, M., Sychta, K., Pastuszak, J., Dubert, F. (2019). Effects of high temperature on embryological development and hormone profile in flowers and leaves of common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench). *Int. J. Mol. Sci.*, 20(7), 1705.
- Słomka, A., Michno, K., Dubert, F., Dziurka, M., Kopeć, P., Płazek, A. (2017). Embryological background of low seed set in distylous common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) with biased morph ratios, and biostimulant-induced improvement of it. *Crop and Pasture Science*, 68(7), 680-690.