

SPRAWOZDANIE KOŃCOWE

**z realizacji 37 zadania na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej
w latach 2014-2015**

**Badanie możliwości zwiększenia żywotności i stopnia zapylenia kwiatów
gryki zwyczajnej w celu uzyskania wyższego plonu nasion**

Projekt finansowany przez MRiRW

Kierownik zadania prof. dr hab. Agnieszka Płazek
Katedra Fizjologii Roślin
Wydział Rolniczo-Ekonomiczny

Założenia i cel projektu

Gryka jest cenną rośliną uprawianą ze względu na bardzo dobry skład chemiczny nasion przeznaczonych głównie na kaszę, natomiast słoma gryki może być wykorzystywana jako pasza dla zwierząt hodowlanych. W klimacie Polski roślina ta słabo plonuje, ze względu na krótką żywotność pojedynczego kwiatu oraz nieprawidłowy rozwój woreczków zalążkowych. Słabe zawiązywanie nasion wynika z heterostylii dimorficznej zapobiegającej samozapyleniu (występowanie kwiatów typu Pin i Thrum) oraz silnej samoniezgodności, która *nota bene* jest dużą przeszkodą w procesie hodowlanym nowych odmian gryki.

Fot 1. Kwiaty gryki typu Thrum (A) i Pin (B)

A



B



Proces kwitnienia i zapyłania zależy w dużej mierze od warunków pogodowych, a zwłaszcza od temperatury i uwodnienia gleby. Gryka zapyłana jest głównie przez pszczoły zwabiane nektarem o dużej zawartości cukrów. Największym problemem w uprawie gryki jest niestabilność plonowania ze względu na słabe zawiązywanie nasion w stosunku do liczby wyprodukowanych kwiatów (około 10% kwiatów zawiązuje nasiona). Gryka jest rośliną samoniekńczącą. Rośliny kwitną do samego końca okresu wegetacji i wykazują się wysoką „nadprodukcją” liczby kwiatów w stosunku do liczby zawiązanych nasion (Fot. 2). Jest to przyczyną silnej konkurencji o asymilaty pomiędzy zawiązanymi nasionami a wciąż nowopowstającymi kwiatami (Fot. 3).

Fot. 2. „Nadprodukcja” kwiatów u gryki zwyczajnej



Fot. 3. Konkurencja pomiędzy zawiązanymi już nasionami a wciąż nowopowstającymi kwiatami gryki



Gryka jest bardzo wrażliwa na niekorzystne czynniki środowiskowe. Ma krótki okres wegetacji (70–90 dni). Jest wrażliwa na najmniejsze przymrozki. Gryka jest wysiewana, gdy temperatura gleby podniesie się do 8–10°C. Optymalny termin siewu przypada między 15 a 25 maja. Zbyt wysoka temperatura i susza z kolei powodują zamieranie zawiązków nasion. Długotrwałe opady wymywają nektar (nektarniki gryki są otwarte), co powoduje, że oblot przez pszczoły jest niewystarczający do zapylenia. Zbyt wysokie temperatury i susze wysuszają znamię słupka, które szybko zasycha, pyłek lub łagiewka pyłkowa zamierają i nie dochodzi do zapłodnienia, a powstałe już zawiązki nie rozwijają się w nasiona.

Celem projektu było zbadanie możliwości przedłużenia fazy kwitnienia roślin gryki poprzez zwiększenie żywotności kwiatów, jak też zwiększenie stopnia ich zapylenia, co miałoby bezpośredni wpływ na plon nasion. Ponadto, prowadzone badania miały pozwolić na wyodrębnienie odmiany lub formy gryki o wyższej zawartości cukrów w nektarze i o dłuższym okresie kwitnienia i nektarowania, co miało by na wpływ na większy oblot pszczół i lepsze zapylenie kwiatów.

Zrealizowany projekt dotyczył analizy biologii kwitnienia polskich odmian i rodów gryki, określenia przyczyn krótkiej żywotności kwiatów oraz zbadania możliwości jej przedłużenia i wspomagania procesu zawiązywania nasion. Planowano ocenę wpływu różnych biostymulatorów – roślinnych regulatorów wzrostu oraz komercyjnych preparatów na prawidłowy rozwój woreczków zalążkowych, żywotność pyłku, skład nektaru oraz plon nasion.

Wymiernym rezultatem projektu było rozpoznanie biologii kwitnienia badanych materiałów hodowlanych gryki, wytypowanie najlepiej plonującego rodu/odmiany oraz wybranie stymulatorów poprawiających żywotność kwiatów, stopień ich zapylenia oraz strukturę plonu.

Material

Material roślinny

Badania prowadzono na polskich odmianach Kora i Panda oraz czterech rodach PA13,14, 15 i 16. Nasiona uzyskiwano z Zakładu Produkcyjnego w Palikijach, Oddziału w Zamościu Małopolskiej Hodowli Roślin w Polanowicach. Projekt realizowano w doświadczeniu prowadzonym w warunkach kontrolowanych pod otwartym tunelem foliowym, oraz w warunkach polowych.

Stymulatory

Zastosowano wodne roztwory stymulatorów w następujących stężeniach: GA₃ (kwas giberelowy) – 100 mg/l; NAA (kwas naftylo-1-octowy) – 50 mg/l; BAP (6-benzyloamino-puryna) – 50 mg/l; putrescyna – 290 mg/l; cysteina – 100 mg/l; ASAHI – 1 ml/l; Tytanit – 0,3 ml/l; NaCl – 10 mg/l; kontrola była opryskiwana wodą destylowaną.

Stymulatory aplikowano na początku kwitnienia i w fazie pełnego kwitnienia. Po dwóch tygodniach po aplikacji stymulatorów zebrano próbki do analiz embriologicznych, oceniano liczbę kwiatów oraz zebrano próbki do analiz ilościowych i jakościowych nektaru.

Najważniejsze wyniki

Biologia kwitnienia

Analizy mikroskopowe wykazały wysoką żywotność pyłku wszystkich badanych rodów i odmian (99-100%). Negatywny wpływ na żywotność pyłku wykazano po zastosowaniu NAA, NaCl oraz GA₃, jednakże tylko w niektórych przypadkach.

Fig. 1. Prawidłowo rozwinięte ziarna pyłku gryki

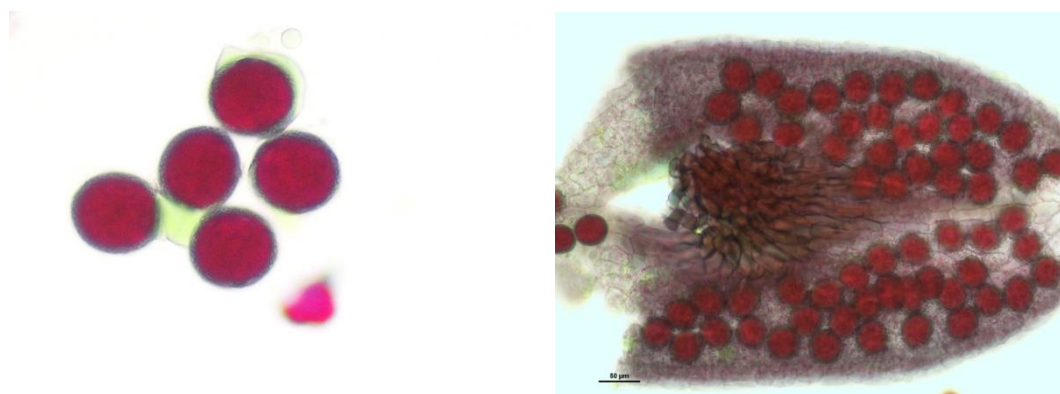
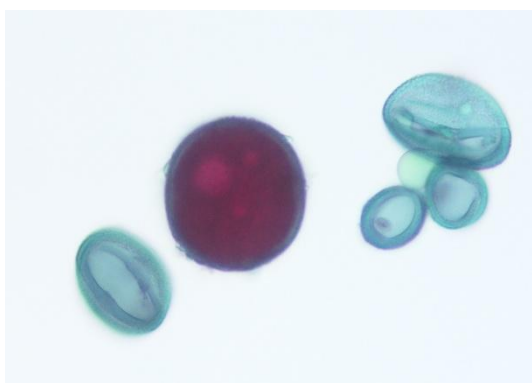
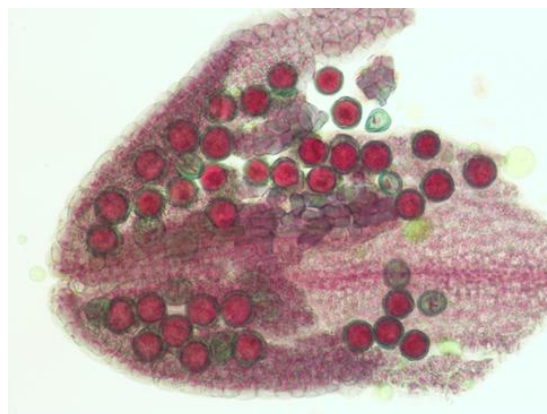


Fig. 2. Zdegenerowane ziarna pyłku pod wpływem NaCl (A) i NAA (B)

A



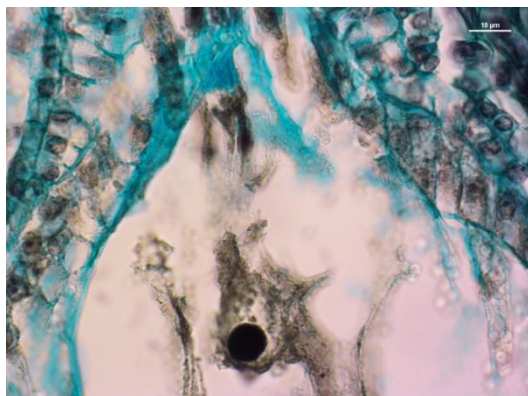
B



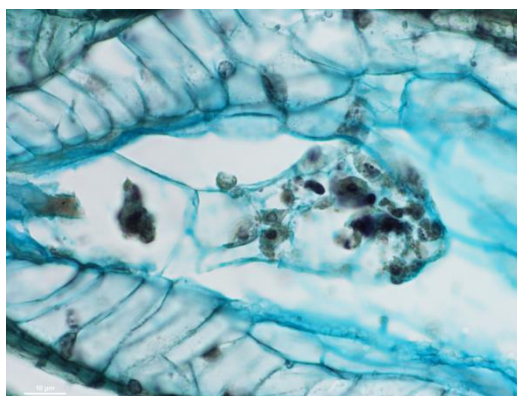
Degeneracje zalążków i zarodków znaleziono u wszystkich badanych odmian i rodów niezależnie od zastosowanego biostymulatora (Fig. 3). U odmian Kora i Panda obserwowano 25-30% zdegenerowanych woreczków zalążkowych, u rodów PA13 i PA14 degeneracje woreczków zalążkowych sięgały 30-40%, a degeneracje zarodków 20%. W przypadku rodów PA15 i PA16 degenerowało najmniej woreczków zalążkowych, około 10-13% i tylko 3% zarodków. Należy zaznaczyć, że w niektórych przypadkach przyczyną obumierania zarodków było „zagłodzenie” wynikające z dużej konkurencji o asymilaty (Fig. 4 F,G). Degeneracja zalążków w kwiatach roślin traktowanych różnymi stymulatorami zachodziła w takim samym stopniu, jak w roślinach kontrolnych (Fig. 5).

Fig. 3. Przykładowe zdjęcia degenerującego woreczka zalążkowego (A) i zarodka (B)

A



B



Stosunek liczbowy roślin z kwiatami Pin do Thrum

W doświadczeniu tunelowym obserwowano silnie zaburzony stosunek liczbowy roślin badanych odmian i rodów wytwarzających kwiaty Pin do liczby roślin z kwiatami Thrum. Kwiatów Pin było zdecydowanie mniej. W przypadku rodów PA13 i PA14 było ich tylko od 5 do 20%. Przewaga kwiatów Thrum sięgała zatem od 80-95%. Z tego względu zlecono wykonanie oceny w warunkach poletkowych w Zakładzie Produkcyjnym w Palikijach wszystkich odmian i rodów pod kątem stosunku roślin z kwiatami Pin i Thrum. Uzyskane wyniki wykazały jednak, że stosunek ten jest prawidłowy i wynosi prawie 50% : 50%. Wyniki te dowodzą, że cechy populacyjne, takie jak właśnie proporcje pomiędzy typami kwiatów, powinny być analizowane na dużej liczbie roślin w warunkach uprawy polowej.

Nektarowanie

U wszystkich badanych odmian i rodów najobfitsze nektarowanie notowano na początku kwitnienia (Tabela 1). W tym terminie stwierdzono też w nektarze największą zawartość cukrów, w porównaniu do fazy pełnego kwitnienia. Wyjątek stanowił ród PA16, dla którego termin aplikacji biostymulatorów oraz analiz w roślinach kontrolnych nie odgrywał roli. Nektar gryki składa się głównie z fruktozy (jest jest najwięcej – ponad 40% ogólnej puli cukrów), glukozy, sacharozy, maltozy i fruktanów. Dodatkowo nektar składa się z inozytolu i glicerolu, który spełnia rolę „wypełniacza”. W przypadku odmian Kory i Pandy nie znaleziono różnic w zawartości cukrów na początku i w pełni kwitnienia, pomimo, że masa i objętość nektaru były zdecydowanie większe na początku kwitnienia. Najsłabiej nektarowały rody PA15 i PA16, jednakże przebieg wrunków pogodowych był odmienny w porównaniu z latami 2014 i 2015, podczas których badano odmiany Kora i Panda oraz rody PA13 i PA14. Na zwiększenie nektarowania wpływały takie stymulatory, jak putrescyna, ASAHI SL i Tytanit. Jedynie u rodów PA15 i PA16 nie stwierdzono większego nektarowania po aplikacji stymulatorów.

Tabela 1. Wybrane parametry nektarowania badanych odmian i rodów gryki na początku (I termin) i w pełni (II termin) kwitnienia.

Odmiana/ród	Objętość nektaru [μl/50 kwiatów]		Masa nektaru [mg/50 kwiatów]		Suma cukrów [mg/g s.m.]	
	I termin	II termin	I termin	II termin	I termin	II termin
Kora	86,79	65,05	91,07	68,02	32,05	34,86
Panda	93,54	69,30	97,99	72,82	31,40	35,87
PA13	85,27	61,78	88,82	64,15	50,78	42,35
PA14	72,87	49,07	76,14	50,90	69,70	47,01
PA15	63,22	56,02	65,08	57,27	26,37	15,53
PA16	54,90	54,04	56,45	55,10	17,74	18,34

Fig. 4. Zakłócenia w przebiegu rozwoju woreczków zalążkowych rodów PA13 i PA14. Degenerujący pąk rośliny rodu PA13 (strzałka) (A), zdegenerowany woreczek zalążkowy PA14 (strzałki) (B, C), degeneracja komórki jajowej oraz synergid w woreczku zalążkowym PA13 (gwiazdka) (D), prawidłowo rozwinięty, ale niepłodny woreczek zalążkowy PA14 (E), zdegenerowane zalążki PA13 i PA14 (F, G), nieprawidłowe zarodki PA14 o zaburzonej wakuolizacji komórek (H-J) oraz kształcie (I).

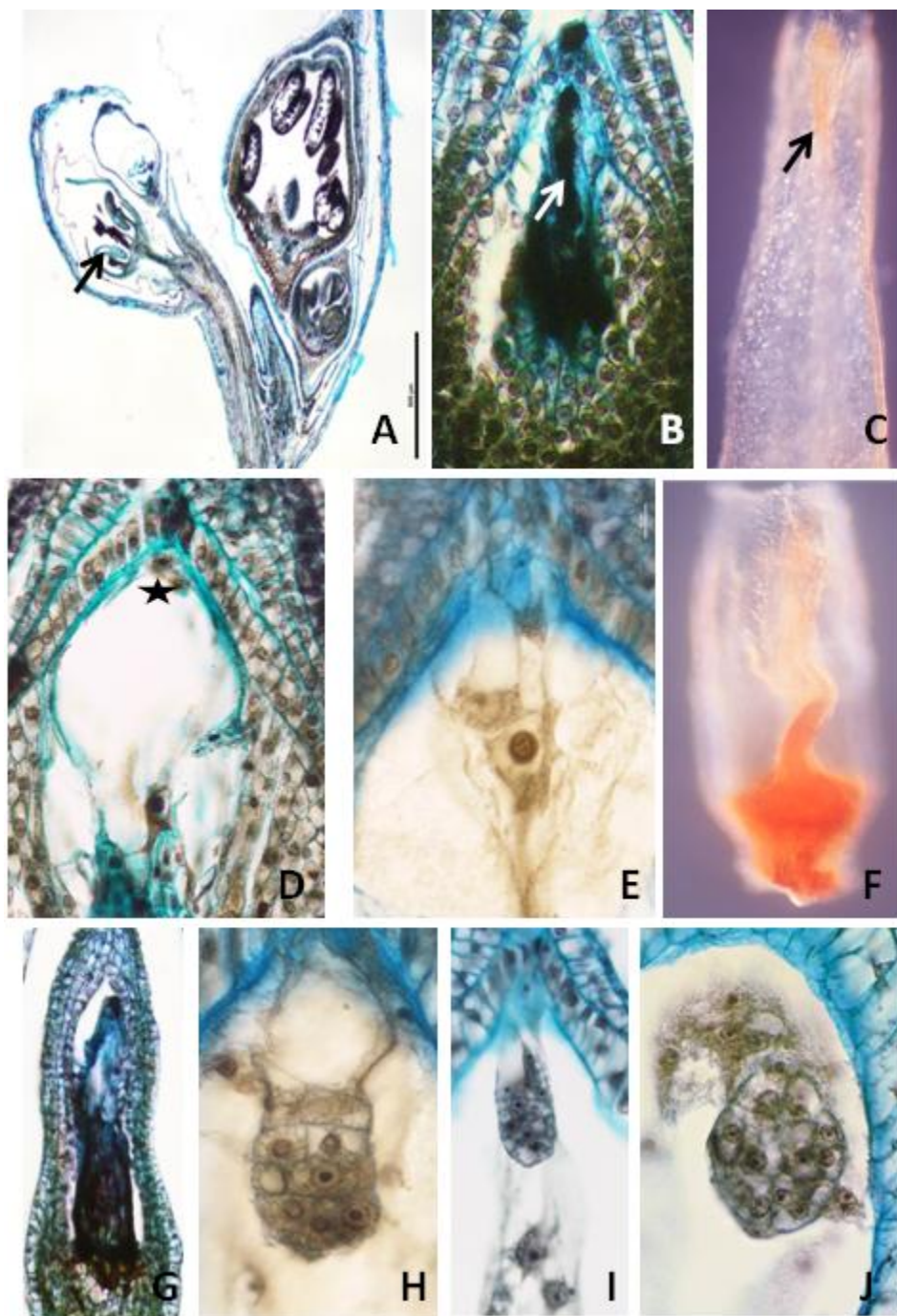
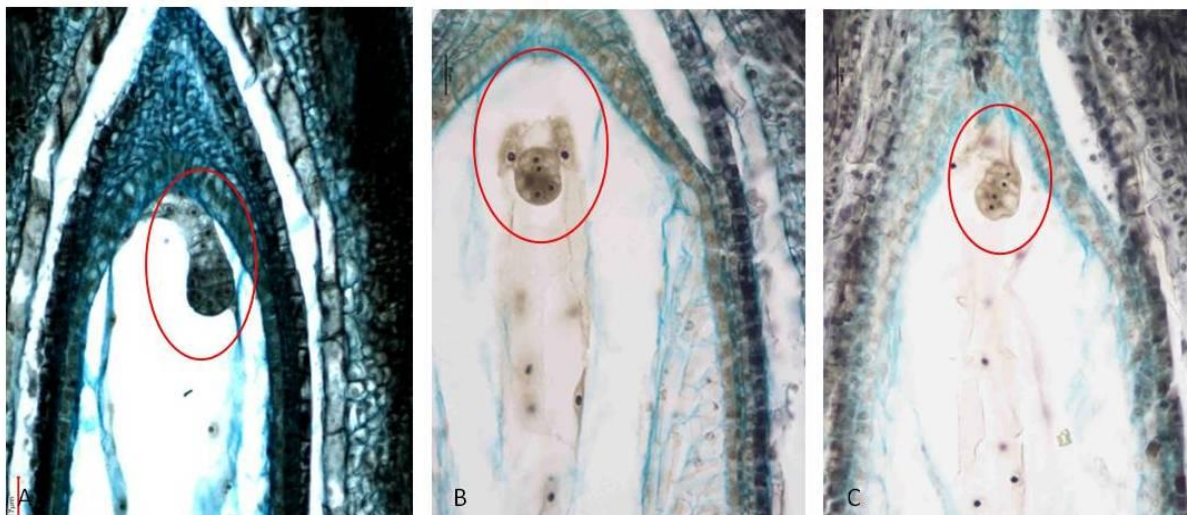


Fig. 5. Prawidłowo rozwinięte zarodki w stadium globularnym rodu PA16. Kontrola (A), po traktowaniu Asahi (B), oraz NAA (C).



Efektywność kwitnienia, produkcja nasion i ich masy w warunkach uprawy wazonowej

W Tabeli 2. przedstawiono liczbę kwiatów, nasion i ich masy uzyskanych w przeliczeniu na jedną roślinę jako średnią ze wszystkich traktowań stymulatorami.

Tabela 2. Porównanie produkcji kwiatów i nasion w przeliczeniu na jedną roślinę oraz masy tysiąca nasion (MTN) badanych rodów i odmian gryki.

Ród/odmiana	Liczba kwiatów/roślinę		Liczba nasion/roślinę		MTN [g]	
	I termin	II termin	I termin	II termin	I termin	II termin
PA13	515	721	126	125	27	27
PA14	495	729	118	104	29	29
PA15	629	889	144	98	30	30
PA16	456	804	133	104	28	27
Kora	319	392	109	101	28	26
Panda	309	445	107	95	28	28

Najwięcej kwiatów produkował ród PA15, a najmniej odmiana Panda. Wszystkie rody kwitły obficie od Pandy i Kory. Pomiedzy liczbą kwiatów a aborcją wykazano dla wszystkich odmian i rodów dodatnią korelację, co oznacza, że im więcej roślina produkowała kwiatów, tym więcej kwiatów ulegało aborcji. Najwięcej nasion (średnia z obu terminów analiz) produkował ród PA15, najmniej odmiana Panda. Masa tysiąca nasion była największa w

przypadku rodu PA15, a u pozostałych rodów i odmian była podobna. Wykazano negatywną korelację pomiędzy liczbą nasion a masą tysiąca nasion (MTN). Tylko w przypadku rodu PA15 wykryto statystycznie istotną korelację pomiędzy liczbą kwiatów a liczbą nasion. U pozostałych odmian i rodów korelacja ta nie była istotna, lecz we wszystkich przypadkach wykazano ujemną zależność pomiędzy tymi dwoma parametrami.

Efektywność kwitnienia, produkcja nasion i ich masy w warunkach uprawy polowej

Różnice w kwitnieniu i plonowaniu roślin produkujących kwiaty Pin i Thrum

Doświadczenie poletkowe prowadzone w Palikijach wykazało, że analizując wszystkie odmiany i rody łącznie, więcej nasion pustych (118,4) i pełnych (265,0) w przeliczeniu na jedną roślinę uzyskano z roślin o kwiatkach Pin w porównaniu do roślin z kwiatami Thrum (107,1 nasion pustych i 235,2 nasion pełnych). W obrębie poszczególnych odmian i rodów jednak nie zawsze stwierdzono tę prawidłowość (Tabela 3).

Z roślin o typie kwiatów Pin otrzymano większą masę nasion (7,56 g/roślinę) niż z roślin z kwiatami Thrum (6,83 g/roślinę). Analiza poszczególnych odmian i rodów wykazała jednak, że ta zasada nie obowiązuje dla każdej poszczególnej odmiany czy rodu. Najmniejszą masę nasion uzyskano z odmiany Panda (z kwiatów Thrum i Pin) oraz rodu PA13 (kwiatów typu Thrum).

Masa tysiąca nasion zależała od rodu/odmiany i typu kwiatu. Najdrobniejsze nasiona (stąd o mniejszej masie tysiąca nasion) zanotowano w przypadku roślin odmiany Kora (kwiaty Thrum) i rodu PA13 (oba typy kwiatów). Największe nasiona natomiast otrzymano z rodów PA14 i 15 (oba typy kwiatów).

Tabela 3. Liczba kwiatów, liczba pustych i pełnych nasion oraz masa nasion (w przeliczeniu na jedną roślinę) i masa tysiąca nasion (MTN) uzyskanych z roślin o danym typie kwiatów. Średnie $\pm$ BS zaznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie (wielokrotny test Duncana; $p < 0,05$).

Odmiana / linia	Typ kwiatu	Liczba kwiatów na roślinę	Liczba pustych nasion na roślinę	Liczba pełnych nasion na roślinę	Masa pełnych nasion na roślinę [g]	MTN [g]
PA 13	Thrum	805,7 $\pm$ 16,2 d	106,5 $\pm$ 1,8 c	226,0 $\pm$ 4,2 b	6,18 $\pm$ 0,11 fg	23,48 $\pm$ 0,15 e
PA 13	Pin	912,7 $\pm$ 16,3 bc	105,6 $\pm$ 2,5 c	267,5 $\pm$ 5,5 b	7,51 $\pm$ 0,16 bc	28,07 $\pm$ 0,16 c
PA 14	Thrum	926,6 $\pm$ 13,3 bc	93,9 $\pm$ 1,1 f	222,6 $\pm$ 4,3 e	6,66 $\pm$ 0,11 ef	29,96 $\pm$ 0,28 b
PA 14	Pin	1007,1 $\pm$ 15,0 a	117,3 $\pm$ 1,6 d	286,0 $\pm$ 5,6 a	8,55 $\pm$ 0,18 a	29,91 $\pm$ 0,28 b
PA 15	Thrum	1027,4 $\pm$ 21,1 a	127,3 $\pm$ 1,2 b	244,8 $\pm$ 8,8 cd	7,75 $\pm$ 0,29 b	31,63 $\pm$ 0,29 a
PA 15	Pin	1031,5 $\pm$ 15,7 a	167,7 $\pm$ 1,9 a	261,2 $\pm$ 5,2 bc	8,39 $\pm$ 0,19 a	32,09 $\pm$ 0,24 a
PA 16	Thrum	883,5 $\pm$ 18,1 c	98,7 $\pm$ 2,1 f	236,4 $\pm$ 4,8 de	7,14 $\pm$ 0,10 cd	28,12 $\pm$ 0,26 c
PA 16	Pin	937,2 $\pm$ 14,2 b	114,2 $\pm$ 0,7 cd	279,3 $\pm$ 9,5 ab	6,72 $\pm$ 0,05 de	28,29 $\pm$ 0,22 c
Kora	Thrum	910,1 $\pm$ 11,7 bc	97,7 $\pm$ 2,4 f	263,8 $\pm$ 5,2 b	7,17 $\pm$ 0,15 cd	27,18 $\pm$ 0,21 d
Kora	Pin	936,8 $\pm$ 14,2 b	96,0 $\pm$ 1,7 f	275,6 $\pm$ 7,0 ab	7,83 $\pm$ 0,21 b	28,41 $\pm$ 0,23 c
Panda	Thrum	787,5 $\pm$ 19,8 d	118,5 $\pm$ 2,6 d	218,0 $\pm$ 3,9 e	6,11 $\pm$ 0,12 g	28,11 $\pm$ 0,39 c
Panda	Pin	800,2 $\pm$ 17,2 d	109,3 $\pm$ 3,0 cd	220,6 $\pm$ 5,1 e	6,37 $\pm$ 0,18 efg	28,83 $\pm$ 0,33 c

Plonowanie badanych odmian i rodów w uprawie poletkowej

Abstrahując od typu kwiatu, najwięcej nasion pełnych zebrano z odmiany Kora, a najmniej z odmiany Panda, największą masę pełnych nasion z jednej rośliny zebrano z roślin rodu PA15, a najmniejszą z odmiany Panda, natomiast MTN była największa w przypadku rodu PA15, a najmniejsza w przypadku rodu PA13, odmiany Kora i rodu PA16 (Tabela 4).

Tabela 4. Elementy struktury plonu badanych rodów/odmian gryki zwyczajnej w doświadczeniu poletkowym (dane z dwóch powtórzeń, poletka o powierzchni 5 m²). Średnie (n=40) zaznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie (wielokrotny test Duncana; p<0,05).

Ród/odmiana	Liczba nasion/jedną roślinę	Masa nasion/jedną roślinę [g]	Masa tysiąca nasion [g]
PA13	246,7 b	6,84 c	27,7 d
PA14	254,3 b	7,60 b	29,9 b
PA15	253,0 b	8,07 a	31,9 a
PA16	257,9 ab	6,93 c	28,2 cd
Kora	269,7 a	7,50 b	27,8 d
Panda	219,3 c	6,24 d	28,5 c

Wnioski

1. Wszystkie badane w projekcie rody i odmiany wykazują bardzo wysoką żywotność mikrospor (ziaren pyłku).
2. Woreczki zalążkowe roślin kontrolnych oraz traktowanych różnymi stymulatorami degenerują (od 10% do 40%) albo w wyniku braku zapłodnienia, albo pod wpływem wysokiej temperatury w okresie kwitnienia, w wyniku konkurencji o asymilaty z wciąż powstającymi kwiatami, lub ich aborcja ma podłoże genetyczne. Najmniejszy stopień degeneracji zalążków i zarodków wykazują rody PA15 i PA16, a największy rody PA13 i PA14.
3. Największa produkcja kwiatów i ich aborcja u badanych rodów i odmian występuje w roślinach kontrolnych i traktowanych stymulatorami w pełni kwitnienia.
4. Pomiędzy intensywnością kwitnienia i aborcją istnieje silna dodatnia korelacja.
5. Obfitość nektarowania jest większa na początku kwitnienia badanych rodów gryki. Zawartość większości cukrów jest wyższa w początkowej fazie kwitnienia, niż w fazie pełnego kwitnienia. Wyjątkiem w tym przypadku jest ród PA16.
6. Głównymi składnikami nektaru obu rodów gryki zwyczajnej jest fruktoza i glukoza (fruktozy jest więcej niż glukozy).
7. Na zwiększenie obfitości nektarowania badanych rodów wpływają putrescyna, ASAHI SL i Tytanit, co znajduje odzwierciedlenie w zwiększeniu plonu nasion. W przypadku rodów PA15 i PA16 żaden ze stymulatorów nie wpływa na zwiększenie nektarowania.
8. Pomiędzy liczbą wyprodukowanych kwiatów przez rośliny gryki a liczbą uzyskanych pełnych nasion nie ma istotnej korelacji (z wyjątkiem PA15). Zawsze jednak obserwuje się negatywną zależność pomiędzy tymi parametrami.
9. Badane odmiany i rody gryki reagują specyficznie na zastosowane stymulatory. W większości przypadków najlepsze efekty w stymulowaniu zawiązywania nasion oraz uzyskiwaniu ich masy daje putrescyna, Tytanit i ASAHI.
10. Tytanit i putrescyna zmniejszają liczbę odrzuconych kwiatów i zwiększają liczbę zapłodnionych kwiatów, co jest związane ze zwiększoną liczbą nasion pełnych i pustych. Efekt ten jednak nie jest obserwowany we wszystkich przypadkach.
11. Stymulatory zwiększają liczbę i masę nasion produkowanych na jednej roślinie po zastosowaniu na początku kwitnienia.
12. Najbardziej interesującym materiałem hodowlanym wydaje się ród PA15.

13. Hodowla nowych form roślin gryki powinna iść w kierunku roślin samokończących lub produkujących mniejszą liczbę kwiatów.