

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

Kierownik zadania: Prof. dr hab. Agnieszka Płażek, Katedra Fizjologii Roślin, Wydział Rolniczo-Ekonomiczny UR w Krakowie

Wstęp

Gryka zwyczajna (*Fagopyrum esculentum* Moench.) ze względu na podobny skład chemiczny nasion i agrotechnikę uprawy zaliczana jest do grupy roślin zbożowych. Jej nasiona, choć nie zawierają glutenu, odznaczają się dużą zawartością białka i dobrze zbilansowanym składem aminokwasów. Roślina ta posiada liczne zalety, wśród których można wymienić ochronę gleby przed erozją, działanie fitosanitarne, wysoką zdolność przyswajania azotu i fosforu z gleby, odporność na szkodniki i choroby. Gryka jest rośliną owadopylną, w 90% zapylaną przez pszczoły i jest bardzo ceniona za swą miododajność. Największą jej wadą jest bardzo krótka żywotność i zdolność do zapylania pojedynczego kwiatu, która wynosi zaledwie jeden dzień (Cawoy i in. 2009). Głównymi powodami słabego zawiązywania nasion jest samoniezgodność wynikająca z heterostylii dimorficznej oraz wadliwy rozwój woreczków zalążkowych (Adachi i in. 1983, Björkman i in. 1995, Woo i in. 2001). Gryka jest rośliną ciepłolubną i wrażliwą na najmniejsze przymrozki. Zbyt wysoka temperatura i susza powodują z kolei zamieranie zawiązków (Adachi i in. 1983). Duży wpływ na zapylenie i wiązanie nasion mają warunki pogodowe w czasie kwitnienia – długotrwałe opady deszczu powodują wymywanie nektaru (nektarniki gryki są otwarte), co powoduje, że oblot przez pszczoły jest niewystarczający do zapylenia. Zbyt wysokie temperatury i susze powodują, że znamie słupka szybko zasycha, pyłek lub łagiewka pyłkowa zamiera i nie dochodzi do zapłodnienia, natomiast powstałe już zawiązki nie rozwijają się w nasiona.

Współczesne rolnictwo dopuszcza do użytku szereg biostymulatorów, które nie mają szkodliwego wpływu na środowisko. Ich rola polega na zwiększaniu plonów poprzez wpływ na przebieg procesów fizjologicznych związanych z kwitnieniem, zapłodnieniem, rozwojem owoców i nasion. Ponadto, niektóre z tych substancji podwyższają tolerancję roślin na niekorzystne czynniki środowiskowe i łagodzą ich negatywny wpływ na rośliny.

Głównym celem badań było poszukiwanie przyczyny słabego plonowania gryki, oraz próby jego poprawienia. Poszczególnymi celami były:

1. Zbadanie biologii kwitnienia dwóch polskich rodów gryki PA13 i PA14, oraz wykrycie ewentualnych zaburzeń w rozwoju embriologicznym. Cel ten realizowano przeprowadzając analizy mikroskopowe oceniające prawidłowość rozwoju pylników i woreczków zalążkowych.

2. Ocena wpływu ośmiu stymulatorów wzrostu: gibereliny, auksyny, cytokininy, putrescyny (poliamina), cysteiny, ASAHI SL, Tytanitu, oraz roztworu NaCl stosowanych w dwóch fazach kwitnienia na:

- a. rozwój embriologiczny
- b. liczbę kwiatów na roślinie
- c. obfitość nektarowania oraz ilościowy i jakościowy skład nektaru
- d. parametry plonu: liczbę i masę nasion w przeliczeniu na jedną roślinę oraz masę tysiąca nasion.

Material i metodyka

Rośliny uprawiano w otwartym tunelu foliowym, zapewniającym kontrolę nawodnienia i oblot owadów zapylających kwiaty gryki. Rośliny opryskiwano roztworami stymulatorów w dwóch terminach: na początku kwitnienia i w fazie pełnego kwitnienia. Po dwóch tygodniach po aplikacji stymulatorów dokonywano oceny rozwoju embriologicznego, oraz wpływu stymulatorów na produkcję kwiatów, aborcję kwiatów, skład ilościowy i jakościowy nektaru. Po zakończeniu wegetacji analizowano parametry plonu: liczbę i masę nasion uzyskanych z jednej rośliny oraz masę tysiąca nasion.

Żywotność pyłku oceniano metodą Alexandra (Dafni 1992), a rozwój woreczków zalążkowych standardową metodą parafinową z hematoksyliną żelazistą wg Heidenhaina w połączeniu z błękitem alcjanowym (Filutowicz i Kuźdowicz 1951) i metodą przejaśniania (Mól 1988). Liczbę kwiatów produkowanych przez jedną roślinę analizowano w 15 powtórzeniach (na 15 roślinach z każdej odmiany, traktowania i terminu aplikacji stymulatorów). Nektar pobierano z 50 kwiatów na każdą próbę (5 prób z każdej odmiany, traktowania i terminu aplikacji stymulatorów), a analizę jego składu wykonywano na HPLC. Parametry plonu oceniano na 20 roślinach z każdego traktowania.

Temat badawczy 1. Zbadanie biologii kwitnienia dwóch polskich rodów hodowlanych gryki PA13 i PA14, oraz wykrycie ewentualnych zaburzeń w rozwoju pyłku i woreczka zalążkowego.

1a. Analizy mikroskopowe oceniające prawidłowość rozwoju pylników i woreczków zalążkowych. Sporządzanie dokumentacji fotograficznej i opisu.

1b. Mikroskopowa ocena rozwoju embriologicznego kwiatów rodów PA13 i PA14 pod wpływem badanych stymulatorów. Sporządzanie dokumentacji fotograficznej i opisu.

Wyniki

Żywotność ziaren pyłku rodu PA13 i PA14 w dwóch terminach obserwacji: na początku i w pełni kwitnienia przedstawiono w Tabeli 1.

Tabela 1. Żywotność (%) pyłku roślin rodów PA13 i PA14 pod wpływem biostymulatorów stosowanych w początkowej fazie kwitnienia (I termin) oraz w fazie pełnego kwitnienia (termin II). Średnie (n=10) zaznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie (Test Manna-Whitney'a; $p < 0,05$).

Stymulatory	Żywotność pyłku [%]			
	PA13		PA14	
	I termin	II termin	I termin	II termin
Kontrola	98 a	100 a	100 a	93 b
NAA	100 a	100 a	100 a	100 a
BAP	100 a	100 a	100 a	100 a
NaCl	100 a	100 a	89 b	51 c
ASAHI SL	100 a	100 a	100 a	100 a
Cysteina	100 a	100 a	100 a	100 a
TYTANIT	100 a	100 a	100 a	100 a
GA ₃	96 a	100 a	100 a	97 a
Putrescyna	100 a	100 a	100 a	100 a

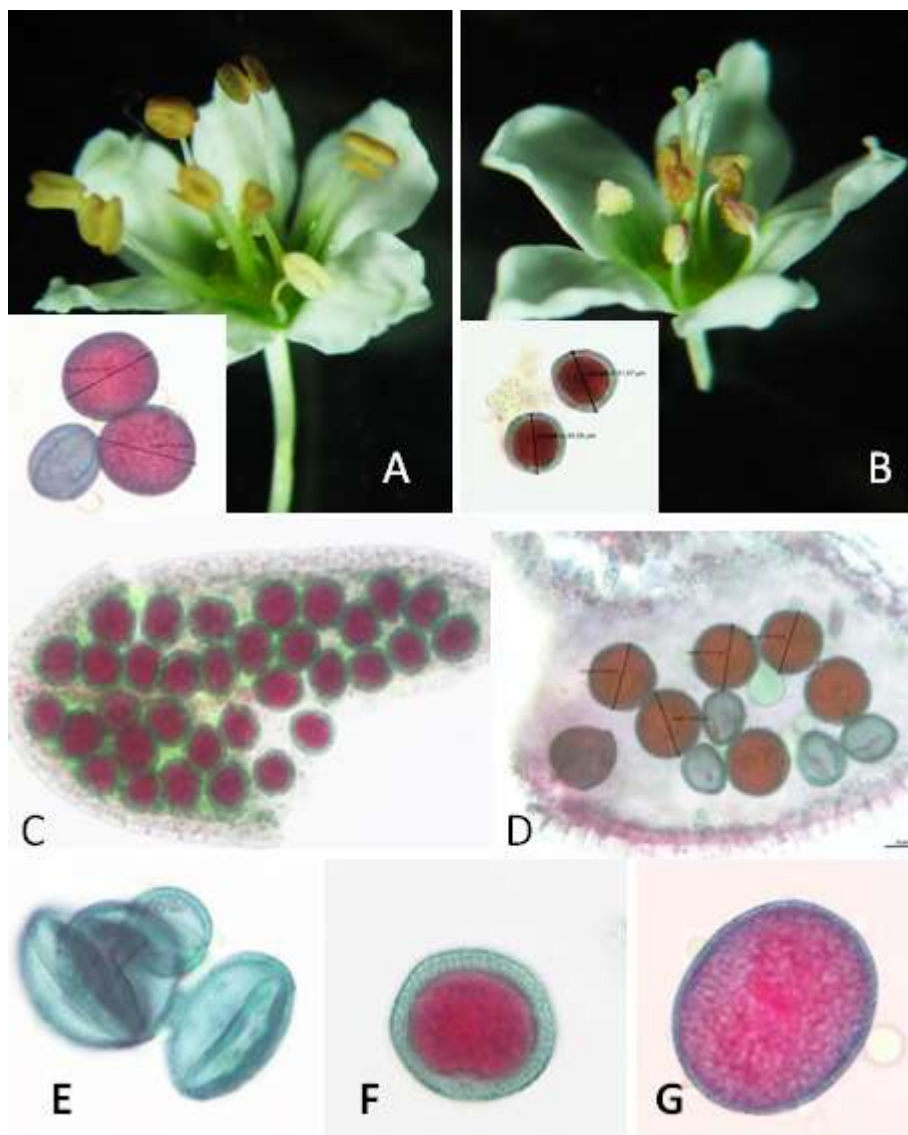
W dwóch badanych rodach stwierdzono występowanie dwóch rodzajów kwiatów: typu Thrum i Pin. W kwiatach tych obserwowano wyraźny dymorfizm ziaren pyłku. W kwiatach typu Thrum, o niskim słupku i wysokich pręcikach występował duży pyłek o wielkości 60-75 μm (Fot. 1A). W kwiatach typu Pin, o wysokim słupku, małych pręcikach występował mały pyłek o wielkości 30-50 μm (Fot. 1B). Aby doszło do zapłodnienia i rozwoju nasiona niezbędne jest zapłodnienie krzyżowe między kwiatami Pin i Thrum. Żywotność pyłku we wszystkich traktowaniach była wysoka (96-100%) (Fot. 1C, Fot. 3), za wyjątkiem pyłku z kwiatów rodu PA14 traktowanych NaCl w I terminie, kwiatów kontrolnych rodu PA14 obserwowanych w II terminie, oraz kwiatów tego rodu traktowanych NaCl w II terminie (Tabela 1), u których zdegenerowany pyłek był zielonego koloru, obkurczony, pozbawiony protoplastu (Fot. 1D,E). Szczególnie istotne obniżenie żywotności (51% żywotnego pyłku) obserwowano w kwiatach PA14 opryskiwanych NaCl w pełni kwitnienia. Wyniki te wskazują wyraźnie, że w przypadku rodu PA14 sól negatywnie wpłynęła na jakość pyłku. Tendencja ta nie jest widoczna w przypadku kwiatów rodu PA13. Nie zaobserwowano różnic w żywotności pomiędzy pyłkiem z kwiatów typu Thrum a pyłkiem z kwiatów typu Pin, natomiast pyłek z kwiatów Thrum ma dużo cieńszą sporoderkę aniżeli pyłek z kwiatu Pin, którego sporoderma jest nie tylko dużo grubsza, ale posiada również wyraźną ornamentację (Fot. 1F,G). W populacji roślin PA14 i PA13 stwierdzono wyraźnie zaburzony stosunek liczbowy kwiatów Pin:Thrum. W przypadku rodu PA13 tylko 5% kwiatów było typu Pin, w PA14 nieco więcej, bo 17%, ale również ten stosunek był daleki od optymalnego, czyli 50:50.

Na Fot. 2A i B przedstawiono zamieranie łagiewki pyłkowej w szyjce słupka po tzw. nieuprawnionym zapyleniu, tj. słupek z kwiatu typu Thrum został zapyleny pyłkiem z tego samego typu kwiatu. Po zapyleniu krzyżowym natomiast łagiewka pyłkowa kielkuje prawidłowo i następuje prawidłowy rozwój zarodka (Fot. 2C).

W zalążkach gryki poza typowym rozwojem w 60-70% zalążków kontrolnych oraz traktowanych stymulatorami obserwowano zakłócenia rozwojowe i degeneracje. Degeneracje rozpoczynały się już na wczesnych etapach rozwoju kwiatów (młode pąki, Fot. 4A) i wówczas takie kwiaty były eliminowane. Degenerowały również woreczki zalążkowe na różnych etapach rozwoju (1-8 komórkowe, Fot. 4B,C) lub tylko komórki woreczków zalążkowych (Fot. 4D). Część dojrzałych, 7 komórkowych woreczków zalążkowych, mimo, że wyglądały normalnie, nie ulegało zapłodnieniu wskutek braku łagiewki pochodzącej z właściwego typu pyłku, albo z powodu innych, niedostrzegalnych za pomocą mikroskopii świetlnej wad woreczka zalążkowego. Częste były przypadki, że degenerowały całe zalążki (Fot. 4F,G). Jeśli doszło do zapłodnienia, około 20% zarodków kontrolnych i po traktowaniach ulegało degeneracji spowodowanej zaburzeniami podziałowymi i nieprawidłową wakuolizacją komórek (Fot. 4H-J). Degeneracja zalążków w kwiatach roślin traktowanych różnymi stymulatorami zachodziła w takim samym stopniu, jak w roślinach kontrolnych (Fot.5).

Fot. 1. Dymorfizm wielkości i kształtu ziaren pyłku oraz żywotność pyłku u dwóch rodzajów (PA14 i PA13) gryki w kontroli (K) i po traktowaniu stymulatorami w dwóch terminach: I – na początku kwitnienia, II – w pełni kwitnienia.

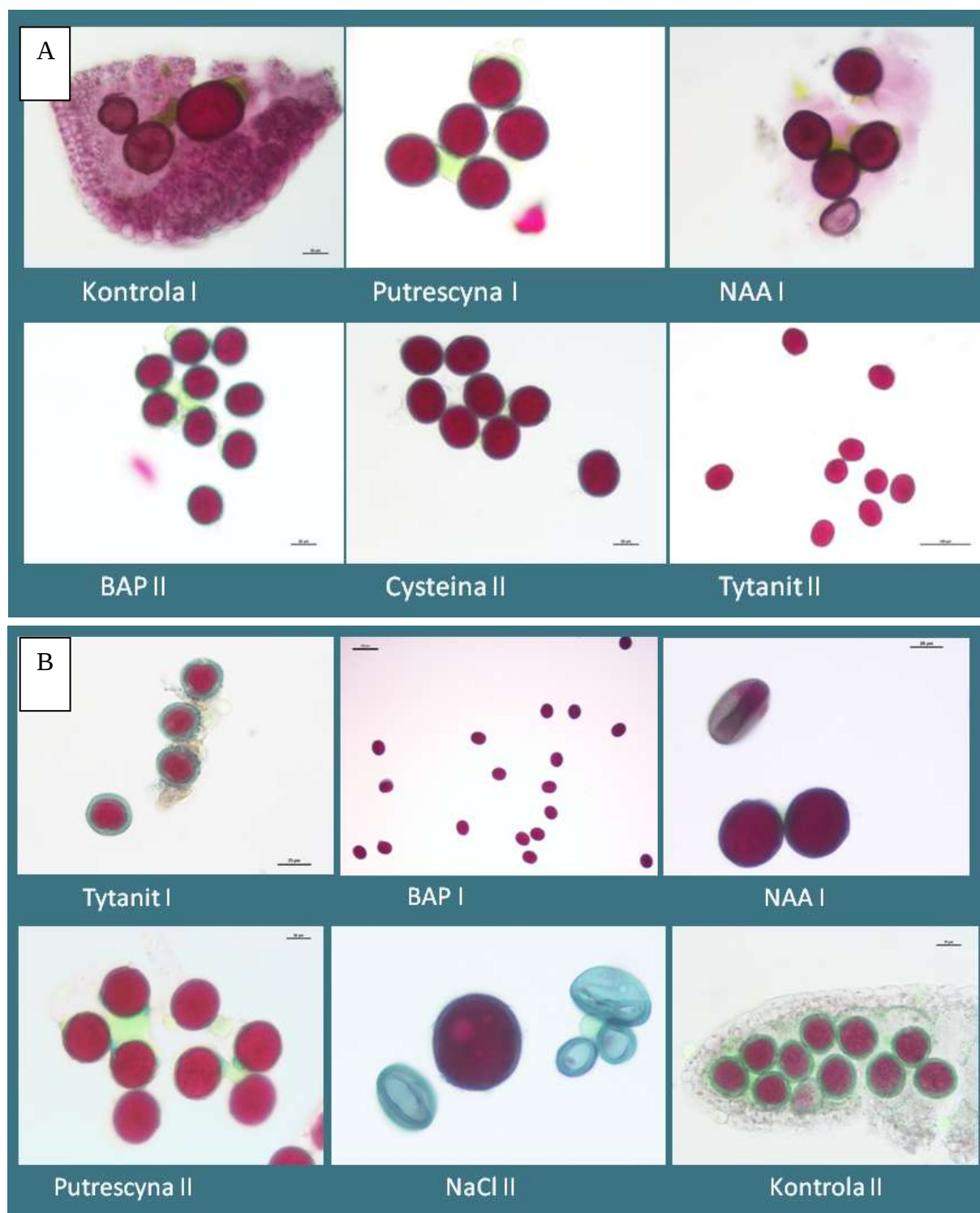
Kwiat typu Thrum z długimi pręcikami, niskim słupkiem oraz dużym pyłkiem (A), kwiat typu Pin z niskimi pręcikami, wysokim słupkiem i małym pyłkiem (B), całkowicie żywotny pyłek typu Pin w pylnikach PA14_K_I (C), żywotny oraz zdegenerowany pyłek (strzałka) w pylnikach PA14_NaCl_I (D), zdegenerowany pyłek PA14_K_II (E), gruba sporoderma pyłku typu Pin (F), cienka sporoderma pyłku typu Thrum (G). Barwienie pyłku – odczynnik Alexandra.



Fot. 2. Łagiewki pyłkowe w szyjce słupka (A, B) oraz w zalążku gryki (C). Zapylenie nieuprawnione; kielkujące łagiewki, ale zatrzymane w szyjce słupka na wysokości ok. 2/3 długości (kwiat rośliny kontrolnej rodu PA13) (A); trzy łagiewki również zatrzymane w szyjce słupka kwiatu PA13 traktowanego roztworem ASAHI, gwiazdka (B); prazarodek rodu rośliny kontrolnej PA14 z widoczną pozostałością łagiewki pyłkowej, zapylenie krzyżowe, udane (C).

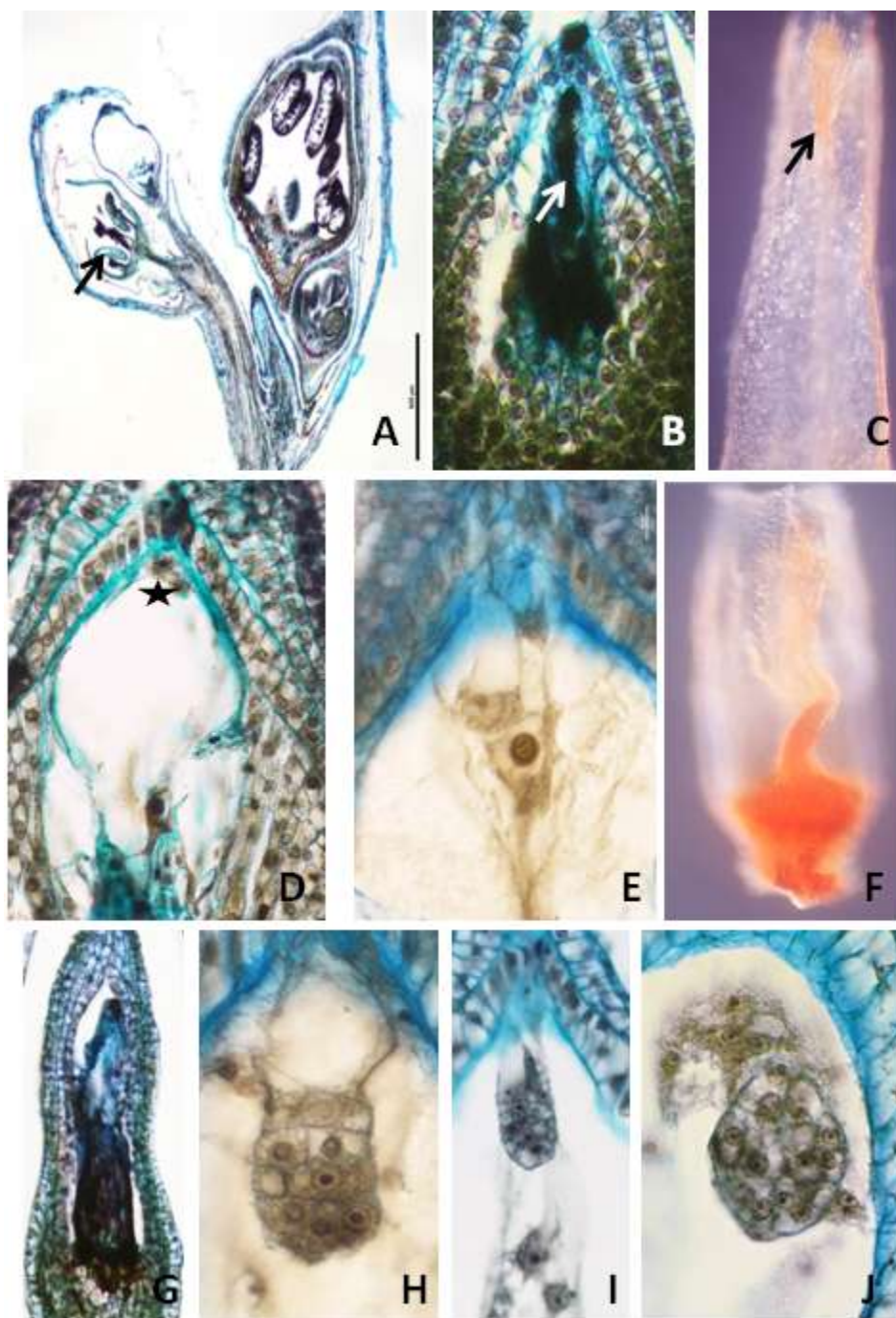


Fot. 3. Żywotność pyłku pobranego z kwiatów rodu PA13 (A) i rodu PA14 (B) traktowanych wybranymi stymulatorami na początku kwitnienia (I termin) i w pełni kwitnienia (II termin).



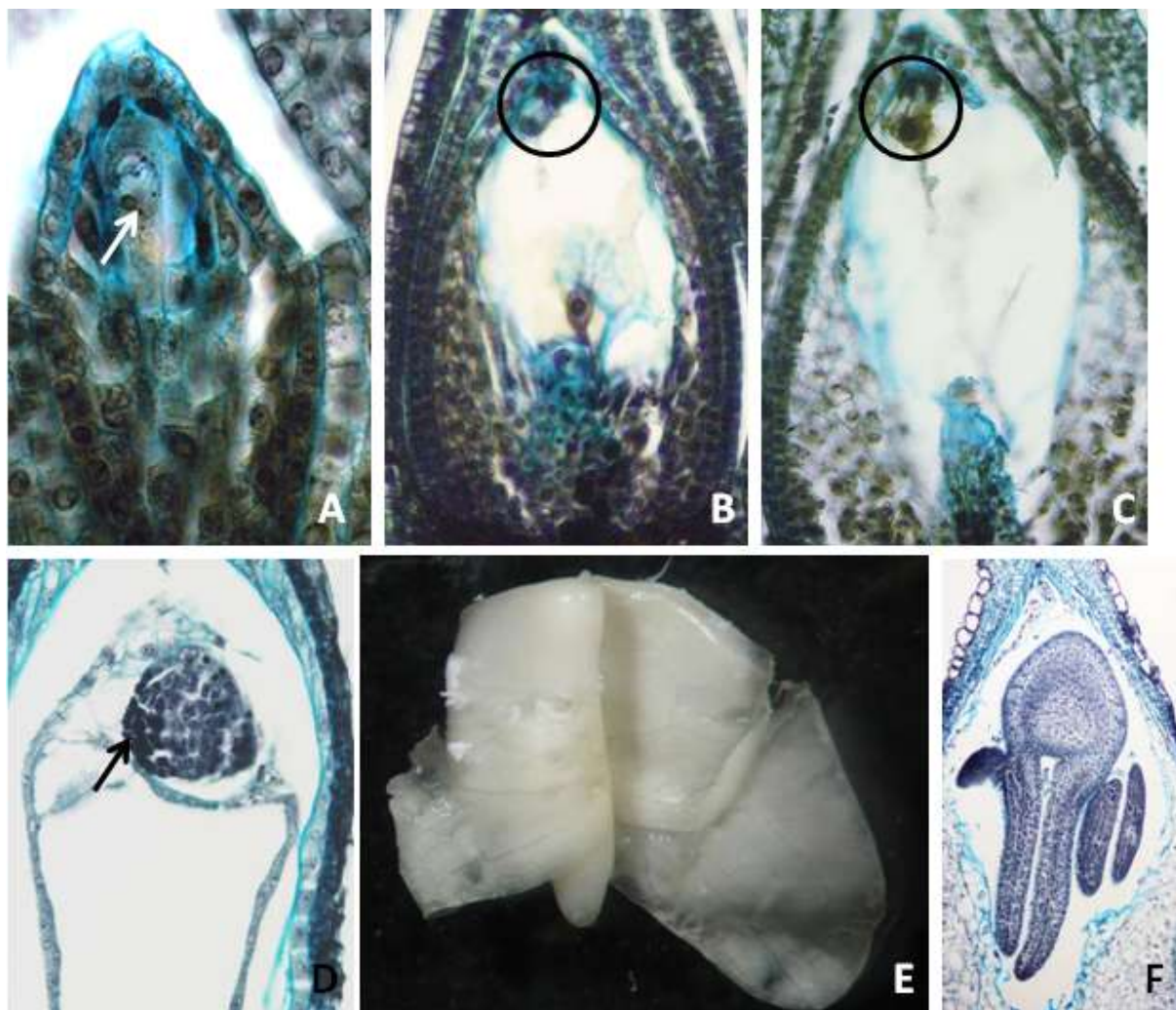
Fot. 4. Zakłócenia w przebiegu procesów embriologicznych w zalążkach roślin kontrolnych dwóch rodów gryki (PA13 i PA14).

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 niezapłodniony woreczek zalążkowy PA14 (E), zdegenerowane zalążki PA13 (F, G), nieprawidłowe zarodki PA14 o zaburzonej wakuolizacji komórek (H-J) oraz kształcie (I).



Fot. 5. Przebieg procesów embriologicznych w zalążkach badanych rodów gryki po aplikacji biostymulatorami.

Prawidłowo wykształcona komórka macierzysta megaspor rodu PA13 w początkowej fazie kwitnienia po zastosowaniu ASAHI SL (A), prawidłowy aparat jajowy w dojrzałym woreczku zalążkowym rodu PA14 w pełni kwitnienia po aplikacji Tytanitem (obwiedzenie) (B), zdegenerowany aparat jajowy (obwiedzenie) w dojrzałym woreczku zalążkowym rodu PA14 na początku kwitnienia po aplikacji Tytanitem (C), zarodek z komórkami nekrotycznymi (strzałka) w zalążku rodu PA13 w pełni kwitnienia po traktowaniu NaCl (D), dojrzały, prawidłowo wykształcony zarodek wyizolowany z nasiona rodu PA13 na początku kwitnienia po zastosowaniu GA₃ w całości (E) oraz na preparacie krojonym (F).



Wnioski

1. W kwiatach obu rodów gryki PA13 i PA14 stwierdza się obecność dwóch typów kwiatów: Thrum i Pin. U obu rodów występuje silna ilościowa dysproporcja pomiędzy tymi typami, co może być główną przyczyną niskiego stopnia zapłodnienia woreczków zalążkowych.
2. Rozwój mikrospor u badanych rodów gryki PA13 i PA14 przebiega bez zakłóceń. Tylko w przypadku działania NaCl na PA14 stwierdza się negatywny wpływ traktowania na żywotność pyłku.
3. Na niską frekwencję nasion niezależnie od traktowania mogą przede wszystkim wpływać wysokie temperatury prowadzące do aborcji zarodków oraz brak zapłodnienia spowodowanego niską frekwencją odpowiedniego typu pyłku.

Temat badawczy 2. Ocena wpływu ośmiu stymulatorów wzrostu: gibereliny, auksyny, cytokininy, poliaminy (putrescyny), cysteiny, ASAHI SL, TYTANITU, oraz roztworu NaCl na:

- 2a. liczbę kwiatów wytworzonych przez roślinę,
- 2b. jakościowy i ilościowy skład nektaru pobranego z nektarników kwiatów traktowanych stymulatorami,
- 2c. parametry plonu badanych rodów gryki: liczbę i masę nasion uzyskanych z jednej rośliny gryki, liczbę niewypełnionych nasion oraz masę tysiąca nasion.

Wyniki

2a. Intensywność kwitnienia

Rośliny kontrolne obu badanych rodów produkowały zdecydowanie więcej kwiatów analizowanych w II terminie (w pełni kwitnienia) (Tabela 2). Ród PA14 charakteryzował się istotnie wyższą intensywnością kwitnienia w porównaniu do rodu PA13, ale tylko w ocenie przeprowadzonej w II terminie. W przypadku rodu PA13 w I i II terminie oceny, istotnie więcej kwiatów w porównaniu do roślin kontrolnych znaleziono na roślinach traktowanych cysteiną, natomiast w przypadku rodu PA14 wykazano zwiększenie produkcji kwiatów w stosunku do kontroli po oprysku cysteiną i putrescyną przeprowadzonym w I terminie. Zastosowanie stymulatorów w pełni kwitnienia (II terminie) nie zwiększyło procesu kwitnienia u tego rodu w porównaniu do kontroli.

Tabela 2. Liczba kwiatów w przeliczeniu na jedną roślinę rodów PA13 i PA14 pod wpływem biostymulatorów stosowanych w I terminie (na początku kwitnienia) i w II terminie (pełnia kwitnienia). Średnie (n=15) dla każdego terminu zaznaczone tą samą literą nie różnią istotnie (wielokrotny test Duncana; $p < 0,05$).

Stymulator	PA13		PA14	
	I termin	II termin	I termin	II termin
Kontrola	503,2 b	950,4 ab	408,0 d	1129,0 a
BAP	428,2 b	695,6 c	478,8 cd	751,8 d
NAA	606,0 ab	669,4 cd	571,4 b	503,6 e
GA3	376,4 b	518,4 e	430,4 d	587,2 e
Cysteina	829,8 a	995,8 a	630,4 a	898,2 c
NaCl	444,8 ab	902,0 b	545,8 b	771,4 d
ASAHI	564,4 b	417,4 f	269,0 e	902,6 b
Tytanit	471,8 b	715,2 c	433,6 d	362,8 f
Putrescyna	410,2 b	631,8 d	689,2 a	661,0 e

Aborcja kwiatów

Analizując dane przedstawione w Tabeli 3 można stwierdzić, że produkcja, jak i aborcja kwiatów u obu rodów była większa w po zastosowaniu stymulatorów w pełni kwitnienia niż na początku kwitnienia, także w przypadku roślin kontrolnych. W przypadku rodu PA13 w I terminie cysteina zwiększyła stopień aborcji, natomiast cytokinina BAP zmniejszyła zrzucanie kwiatów, porównując do kontroli. Po oprysku zastosowanym w II terminie żaden stymulator nie wpłynął istotnie na ten proces. W przypadku rodu PA14 Asahi i Tytanit aplikowane w I terminie zmniejszyły procent odrzuconych kwiatów, a pozostałe stymulatory zwiększyły intensywność aborcji w porównaniu do kontroli. W II terminie spośród wszystkich stymulatorów aplikacja Tytanitem istotnie zmniejszyła aborcję. Warto zauważyć, że stopień aborcji kwiatów na roślinach kontrolnych rodu PA14 był bardzo wysoki i sięgał około 90%. Współczynniki korelacji pomiędzy liczbą kwiatów, pustych i wypełnionych nasion oraz procentem aborcji przedstawiono w wynikach dotyczących parametrów plonowania (Temat badawczy 2c). Należy zaznaczyć, że pomiędzy liczbą kwiatów a procentem ich aborcji w przypadku obu rodów istnieje silna korelacja ($r=0,9$ dla rodu PA13 i $r=0,8$ dla PA14; $p<0,05$).

Tabela 3. Liczba kwiatów niezapłodnionych lub też usuniętych (wyrażona w procentach) pod wpływem zastosowanych stymulatorów wyliczona na podstawie liczby kwiatów i dojrzałych nasion.

Stymulator	Termin	PA13			PA14		
		Liczba kwiatów	Liczba nasion dojrzałych	% aborcji	Liczba kwiatów	Liczba nasion dojrzałych	% aborcji
Kontrola	1	503,2	127,2	74,72	408,0	126,2	69,07
BAP	1	428,2	153,8	64,08	478,8	124,8	73,93
NAA	1	606,0	135,0	77,72	571,4	129,0	77,42
GA3	1	376,4	112,1	70,22	430,4	56,2	86,94
Cysteina	1	829,8	112,0	86,50	630,4	111,0	82,39
NaCl	1	444,8	127,1	71,43	545,8	115,1	78,91
ASAHI	1	564,4	147,8	73,81	269,0	103,9	61,38
Tytanit	1	471,8	118,6	74,86	433,6	162,7	62,48
Putrescyna	1	410,2	104,8	74,45	689,2	133,4	80,64
Średnie		515,0	126,5	74,20	495,2	118,0	74,80
Kontrola	2	950,4	126,5	86,69	1129,0	91,8	91,87
BAP	2	695,6	123,6	82,23	751,8	111,4	85,18
NAA	2	669,4	121,2	81,89	503,6	98,8	80,38
GA3	2	518,4	124,3	76,02	587,2	115,4	80,35
Cysteina	2	995,8	116,2	88,33	898,2	113,0	87,42
NaCl	2	902,0	123,6	86,30	771,4	100,4	86,98
ASAHI	2	417,4	112,2	73,12	902,6	95,9	89,38
Tytanit	2	715,2	127,2	82,21	362,8	102,6	71,72
Putrescyna	2	631,8	154,4	75,56	661,0	113,3	82,86
Średnie		721,8	125,5	81,37	729,7	104,7	84,02

Wnioski

1. Największa produkcja i aborcja kwiatów u obu rodów występuje w roślinach traktowanych stymulatorami w fazie pełnego kwitnienia (II terminie). W przypadku badanych rodów, nie miało to jednak przełożenia na liczbę dojrzałych nasion.
2. Tytanit i putrescyna zmniejszają liczbę odrzuconych kwiatów, natomiast cysteina zwiększa ich aborcję.
3. Pomiędzy intensywnością kwitnienia i aborcją istnieje silna korelacja.
4. Rody gryki PA13 i PA14 charakteryzują się większą produktywnością kwiatów w stosunku do odmiany Kora i Panda, i jednocześnie większym odsetkiem kwiatów odrzucanych.

2b. Analiza jakościowa i ilościowa nektaru pobranego z nektarników kwiatów traktowanych stymulatorami.

Analiza chromatograficzna wykazała, że nektar obu badanych odmian gryki zawiera następujące cukry: fruktozę, glukozę, sacharozę, fruktany: kestozę, nystozę, oraz maltozę. Ponadto wykryto obecność inozytolu i glicerolu. Obarody produkowały więcej nektaru w I terminie niż w II terminie, przy czym należy zaznaczyć, że w przypadku roślin rodu PA14 produkcja nektaru w pełni kwitnienia była drastycznie mniejsza (Tabela 5 i 6). Zanotowano niewielki wpływ stymulatorów na skład ilościowy i jakościowy cukrów w nektarze. W przypadku PA13 NAA zwiększył objętość nektaru w I terminie kwitnienia, zaś cysteina w II

terminie (Tabela 5). Również w II terminie aplikacji stymulatorów, kwas giberelowy GA₃ i NaCl zmniejszyły zawartość sacharozy, a NaCl dodatkowo istotnie zmniejszył sumę cukrów w nektarze. Z kolei Tytanit zwiększył zawartość sacharozy i sumę cukrów po aplikacji w pełni kwitnienia. W nektarze zebranym w I terminie z roślin PA14 BAP, NaCl, putrescyna i Tytanit zwiększyły zawartość glukozy, wpływając równocześnie na wzrost zawartości ogólnej puli cukrów (Tabela 6). Kwas giberelowy dodatkowo zwiększył zawartość sacharozy, a NAA obniżył zawartość tego dwucukru, ale za to zwiększył zawartość fruktanów. W II terminie kwitnienia BAP i GA₃ obniżyły zawartość sacharozy. NAA zwiększył zawartość sumy cukrów, a GA₃ fruktanów.

Auksyna (NAA) zastosowana na początku kwitnienia, zaś NaCl aplikowany w pełni kwitnienia zredukowały całkowicie zawartość nystozy w nektarze roślin PA13 (Tabela 7). Poziom inozytolu podniósł się istotnie po oprysku Tytanitem w pełni kwitnienia. W nektarze PA14 obserwowano najwięcej inozytolu w roślinach kontrolnych i traktowanych NAA w I terminie (Tabela 8). NaCl zastosowany na początku kwitnienia podniósł poziom fruktanów i maltozy. Z kolei GA₃ zredukował poziom nystozy.

Ród PA14 wykazywał większą produkcję nektaru niż rząd PA13 w początkowej fazie kwitnienia. Nektar ten w obu fazach kwitnienia zawierał więcej sacharozy oraz mniej fruktozy i fruktanów w porównaniu do nektaru rodu PA13 (Tabela 9). Termin kwitnienia wpływał też istotnie na zawartość poszczególnych cukrów. Rośliny rodu PA13 wykazywały więcej glukozy i fruktozy w nektarze w początkowej fazie kwitnienia, zaś nektar zebrany w tej fazie z roślin PA14 zawierał więcej sacharozy i fruktanów w porównaniu do fazy pełnego kwitnienia.

Tabela 5. Obfitość nektarowania kwiatów roślin gryki rodu PA13 [$\mu\text{l}/50$ kwiatów], gęstość nektaru [g/cm^3], zawartość glicerolu i suma cukrów [mg/cm^3] oraz procentowy udział poszczególnych cukrów w ogólnej puli węglowodanów rozpuszczalnych [%]. Średnie ($n=5$) dla każdego badanego parametru zaznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie (wielokrotny test Duncana; $p<0,05$).

Stymulator	Objętość nektaru [μl/50 kwiatów]	Gęstość nektaru [g/cm ³]	Glicerol [g/cm ³]	Procentowa zawartość poszczególnych cukrów [%]				Suma cukrów [mg/cm ³]
				Glukoza	Fruktoza	Sacharoza	Fruktany	
I termin								
Kontrola	82,95 bc	1,034 ab	1,148 de	32,06 ab	53,04 a	1,85 b-e	12,72 c	54,55 ab
NAA	117,61 a	1,034 ab	1,220 cde	31,34 ab	51,78 a-d	2,25 b-e	14,63 c	51,58 ab
BAP	89,32 b	1,066 a	1,052 e	30,73 a-d	51,75 a-d	2,78 b-e	14,39 c	44,55 abc
NaCl	85,43 b	1,044 ab	0,990 e	32,22 ab	52,76 ab	1,86 b-e	12,82 c	52,56 ab
ASAHI SL	88,10 b	1,043 ab	1,300 cde	31,68 ab	52,78 ab	2,86 b-e	12,33 c	49,08 ab
Cysteina	66,37 cd	1,034 ab	1,361 b-e	32,26 ab	52,83 a	2,06 b-e	12,55 c	53,04 ab
TYTANIT	88,99 b	1,024 b	1,192 cde	30,93 abc	52,27 a-d	3,79 abc	12,86 c	46,33 abc
GA ₃	66,52 cd	1,038 ab	1,245 cde	33,30 a	52,89 a	2,54 b-e	11,46 c	50,97 ab
Putrescyna	82,14 bc	1,033 ab	1,289 cde	32,30 ab	51,95 a-d	2,84 b-e	12,49 c	54,40 ab
II termin								
Kontrola	60,96 cd	1,039 ab	1,820 ab	30,75 bcd	51,88a-d	2,41 b-e	15,21 bc	50,56 ab
NAA	60,28 cd	1,038 ab	2,0145 a	31,23 ab	50,74a-d	3,82 abc	13,75 c	43,76 abc
BAP	49,70 d	1,043 ab	1,907 a	30,73 bcd	51,75a-d	1,77 cde	14,18 c	45,49 abc
NaCl	59,94 d	1,021 b	1,668 abc	28,05 d	50,30 b-e	0,54 e	22,15 a	29,17 d
ASAHI SL	56,98 d	1,035 ab	1,600 a-d	31,30 ab	49,70 def	3,43 a-d	15,58 bc	39,18 bcd
Cysteina	111,19 a	1,061 a	1,108 de	28,21 cd	47,45 f	4,59 ab	19,75 ab	32,69 cd
TYTANIT	52,11 d	1,053 ab	1,662 abc	31,20 ab	47,99 ef	5,58 a	15,18 bc	58,69 a
GA ₃	51,04 d	1,036 ab	1,866 a	31,38 ab	52,42 abc	0,87 de	15,23 bc	41,77 bcd
Putrescyna	53,85 d	1,035 ab	1,879 a	29,93 bcd	49,81 c-f	4,34 abc	15,52 bc	39,86 bcd

Tabela 6. Obfitość nektarowania kwiatów roślin gryki rodu PA14 [$\mu\text{l}/50$ kwiatów], gęstość nektaru [g/cm^3], zawartość glicerolu i suma cukrów [mg/cm^3] oraz procentowy udział poszczególnych cukrów w ogólnej puli węglowodanów rozpuszczalnych [%]. Średnie ($n=5$) zaznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie (wielokrotny test Duncana; $p<0,05$).

Stymulator	Objętość nektaru [μl/50 kwiatów]	Gęstość nektaru [g/cm ³]	Glicerol [g/cm ³]	Procentowa zawartość poszczególnych cukrów [%]				Suma cukrów [mg/cm ³]
				Glukoza	Fruktoza	Sacharo- za	Fruktany	
I termin								
Kontrola	81,93 ab	1,057 ab	1,213 de	32,67 b-f	49,76 def	5,53 a-e	11,96 b	69,50 bcd
NAA	83,90 ab	1,031 cde	1,311 de	31,95 c-f	50,02 c-f	2,25 f	15,54 a	56,58 c-g
BAP	62,13 c-f	1,049 a-d	1,059 e	34,54 a	50,46 b-f	4,62 c-f	10,30 bc	73,69 b
NaCl	43,02 g	1,069 a	1,472 cd	34,61 a	49,50 ef	5,41 a-f	10,15 bc	106,66 a
ASAHI SL	76,01 abc	1,046 a-d	1,024 e	33,56 abc	52,58 ab	3,77 def	9,98 c	58,31 b-f
Cysteina	78,83 abc	1,026 de	1,154 de	31,50 ef	50,11 b-f	5,13 b-f	13,26 b	53,24 d-g
TYTANIT	72,76 a-d	1,051 abc	1,141 de	33,37 a-d	51,36 a-e	5,56 a-e	9,61 c	70,36 bc
GA ₃	68,69 b-e	1,039 b-e	1,147 de	32,50 b-f	48,49 f	8,14 ab	10,84 bc	71, 21 b
Putrescyna	88,55 a	1,048 a-d	1,220 de	34,02 ab	52,06 a-d	3,80 def	9,93 c	67,47 bcd
II termin								
Kontrola	45,28 fg	1,035 b-e	1,799 ab	33,53 abc	50,98 a-f	4,71 c-f	10,60 bc	44,66 efg
NAA	41,62 g	1,051 abc	2,058 a	33,37 a-d	51,45 a-e	5,39 a-f	9,51 c	60,87 b-e
BAP	53,47 efg	1,021 e	1,717abc	32,39 b-f	53,34 a	2,87 ef	10,97 bc	42,12 fg
NaCl	45,87 fg	1,039 b-e	1,731 ab	31,34 f	48,61 f	8,44 a	11,44 bc	43,60 fg
ASAHI SL	53,66 efg	1,036 b-e	1,491acd	33,48 abc	51,68 a-e	4,13 c-f	10,13 c	45,55 efg
Cysteina	46,44 fg	1,044 b-e	1,978 a	32,35 b-f	50,10 b-f	7,33 abc	9,90 c	56, 05 c-g
TYTANIT	56,83 d-g	1,032 cde	1,662abc	31,86 c-f	52,51abc	3,29 def	12,05 bc	40,21 g
GA ₃	51,34 efg	1,042 b-e	1,663abc	31,71 def	50,48 b-f	2,63 ef	15,17 a	42,20 fg
Putrescyna	47,20 fg	1,039 b-e	1,702bc	32,50 b-f	51,19 a-e	6,16 a-d	9,82 c	47,81 efg

Tabela 7. Zawartość [mg/cm³] pozostałych cukrów w nektarze rodu PA13 pod wpływem działania biostymulatorów aplikowanych na początku kwitnienia (I termin) i w fazie pełnego kwitnienia (II termin). Średnie (n=5) zaznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie (wielokrotny test Duncana; p<0,05).

Stymulator	Inozytol	Kestoza	Nystoza	Maltoza
termin I				
Kontrola	0,271 a-d	6,36 b	0,187 b	0,595 ab
NAA	0,277 abc	6,70 ab	0,0 e	0,625 ab
BAP	0,260 b-e	5,80 b	0,162 a	0,531 ab
NaCl	0,293 ab	6,05 b	0,197 ab	0,551 ab
ASAHI SL	0,263 bcd	5,38 b	0,170 b	0,602 ab
Cysteina	0,260 b-e	6,01 b	0,179 ab	0,582 ab
TYTANIT	0,211 de	5,38 b	0,081 d	0,560 ab
GA ₃	0,258 b-e	5,28 b	0,138 c	0,545 ab
Putrescyna	0,259 b-e	6,22 b	0,262 a	0,556 ab
Kontrola	0,260 b-e	7,12 ab	0,231 a	0,581 ab
NAA	0,251 b-e	5,36 b	0,217 ab	0,599 ab
BAP	0,265 bcd	5,81 b	0,197 ab	0,630 ab
NaCl	0,236 b-e	5,53 b	0,0 e	0,621 ab
ASAHI SL	0,254 b-e	5,42 b	0,0 e	0,605 ab
Cysteina	0,202 e	5,95 b	0,0 e	0,468 b
TYTANIT	0,325 a	8,26 a	0,033 d	0,596 ab
GA ₃	0,255 b-e	5,73 b	0,039 d	0,628 ab
Putrescyna	0,225 cde	5,39 b	0,178 b	0,695 a

Tabela 8. Zawartość [mg/cm³] pozostałych cukrów w nektarze rodu PA14 pod wpływem działania biostymulatorów aplikowanych na początku kwitnienia (I termin) i w fazie pełnego kwitnienia (II termin). Średnie (n=5) zaznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie (wielokrotny test Duncana; p<0,05).

Stymulator	Inozytol	Kestoza	Nystoza	Maltoza
termin I				
Kontrola	0,388 a	7,59 bc	0,053 cd	0,649 b-e
NAA	0,370 a	8,21 b	0,141 bcd	0,582 cde
BAP	0,287 bc	6,98 bcd	0,063 cd	0,569 cde
NaCl	0,320 b	9,95 a	0,395 a	0,856 a
ASAHI SL	0,216 def	4,89 efg	0,090 cd	0,685 bcd
Cysteina	0,215 def	6,56 cde	0,0 d	0,501 e
TYTANIT	0,215 def	6,15 c-f	0,066 cd	0,581 cde
GA ₃	0,236 c-f	7,05 bcd	0,029 cd	0,672 bcd
Putrescyna	0,251 c-f	6,00 def	0,129 bcd	0,701 bc
termin II				
Kontrola	0,223 def	4,16 gh	0,080 cd	0,578 cde
NAA	0,268 cde	5,11 e-h	0,327 ab	0,664 bcd
BAP	0,232 c-f	4,05 h	0,164 bcd	0,575 cde
NaCl	0,247 c-f	4,43 gh	0,099 bcd	0,610 b-e
ASAHI SL	0,207 ef	4,06 h	0,259 abc	0,594 cde
Cysteina	0,259 c-e	4,69 efg	0,197 a-d	0,758 ab
TYTANIT	0,201 f	4,29 gh	0,108 bcd	0,534 de
GA ₃	0,256 c-f	5,65 d-g	0,0 d	0,495 e
Putrescyna	0,212 ef	4,13 gh	0,149 bcd	0,529 de

Tabela 9. Porównanie parametrów nektarowania rodów PA13 i PA14 w dwóch terminach analiz: na początku kwitnienia (I termin) i w pełni kwitnienia (II termin). W tabeli przedstawiono wyniki będące sumą dla wszystkich traktowań (kontrola i wpływ stosowanych stymulatorów). Na czerwono zaznaczono dane różniące się istotnie dla danego rodu ($p < 0,05$).

Parametry	PA 13		PA 14	
	I termin	II termin	I termin	II termin
Masa nektaru [mg/50 kwiatów]	88,82	64,15	76,14	50,90
Objętość nektaru [μ l/50 kwiatów]	85,27	61,78	72,87	49,07
Gęstość nektaru [g/cm ³]	1,042	1,031	1,046	1,037
Inozytol [mg/cm ³]	0,261	0,252	0,277	0,234
Glicerol [mg/cm ³]	1,199	1,724	1,194	1,758
Glukoza [mg/cm ³]	16,24	12,39	23,26	15,29
Fruktoza [mg/cm ³]	26,64	21,31	35,09	24,01
Sacharoza [mg/cm ³]	1,297	1,379	3,525	2,446
Maltoza [mg/cm ³]	0,572	0,602	0,593	0,644
Kestoza [mg/cm ³]	5,91	6,06	7,04	4,51
Nystoza [mg/cm ³]	1,053	0,099	0,101	0,154
Suma cukrów [mg/cm ³]	50,78	42,35	69,70	47,01
Suma fruktanów [mg/cm ³]	6,48	6,66	7,69	5,10

Wnioski

1. Obfitość nektarowania jest większa na początku kwitnienia badanych rodów gryki. Zawartość większości cukrów jest wyższa w początkowej fazie kwitnienia, niż w fazie pełnego kwitnienia.
2. Głównymi składnikami nektaru obu rodów gryki zwyczajnej jest fruktoza i glukoza.
3. Na zwiększenie obfitości nektarowania badanych rodów wpływają putrescyna, ASAHI i Tytanit. Suma cukrów natomiast zwiększa się pod wpływem Tytanitu i NAA.

2c. Ocena wpływu różnych stymulatorów na parametry plonu badanych rodów gryki: liczbę i masę nasion uzyskanych z jednej rośliny gryki, liczbę niewypełnionych nasion oraz masę tysiąca nasion.

W przypadku rodu PA13 termin oprysku stymulatorami nie miał wpływu na liczbę nasion pustych i pełnych zebranych z jednej rośliny, masę nasion pełnych oraz masę tysiąca nasion (Tabela 11). Termin oprysku miał natomiast wpływ na powyższe parametry w przypadku rodu PA14 (Tabela 12). Oprysk w I terminie zwiększył liczbę nasion pustych i pełnych zebranych z jednej rośliny oraz masę nasion pełnych. Masa 1000 nasion natomiast nie zależała od terminu aplikacji stymulatorów.

Najwięcej pełnych nasion rodu PA13 zebrano po zastosowaniu BAP w I terminie i putrescyny w II terminie. Najwięcej pustych nasion odnotowano po zastosowaniu NAA w I terminie i GA₃ w II terminie, a najmniej po oprysku cysteiną w I terminie i ASAHI w II terminie. Stymulatory zwiększające liczbę pełnych nasion i zmniejszające liczbę pustych nasion jednocześnie wpływały na ich masę. Nie obserwowano natomiast wpływu stymulatorów na masę 1000 nasion.

W przypadku rodu PA14 najwięcej dojrzałych nasion w przeliczeniu na pojedynczą roślinę zebrano po oprysku Tytanitem w I terminie, pustych nasion było najwięcej po traktowaniu NaCl i Tytanitem w I terminie i GA₃ w II terminie. Wynik ten wskazuje na dodatni wpływ Tytanitu na sam proces zapłodnienia, aczkolwiek później część nasion nie zostaje wypełniona asymilatami. Masa pełnych nasion też była większa po zastosowaniu Tytanitu i putrescyny w I terminie oraz GA₃ w II terminie. Masa 1000 nasion, podobnie jak w przypadku PA13 nie zmieniała się pod wpływem biostymulatorów, zwłaszcza w po zastosowaniu stymulatorów w pełni kwitnienia.

W Tabeli 13 i 14 przedstawiono współczynniki korelacji liniowej ($p < 0,05$) pomiędzy liczbą kwiatów, liczbą nasion, aborcją kwiatów i masą nasion uzyskanych z jednej rośliny rodu PA13 i PA14. Dla obu rodów wykazano istotną zależność pomiędzy liczbą pustych nasion i pełnych nasion, oraz pomiędzy liczbą kwiatów i ich stopniem aborcji. Dla PA14 dodatkowo znaleziono ujemną korelację pomiędzy aborcją kwiatów a liczbą pustych i pełnych nasion. W przypadku tego rodu wykryto również istotną ujemną korelację pomiędzy liczbą kwiatów, a liczbą pustych nasion.

Tabela 11. Liczba nasion i masa nasion [g] uzyskanych z jednej roślin gryki rodu PA13 oraz masa tysiąca nasion [g] pod wpływem różnych stymulatorów wzrostu zastosowanych na początku fazy kwitnienia (termin I), oraz w pełnej fazie kwitnienia (termin II). Średnie ($n=20$) w obrębie jednej kolumny zaznaczone tą samą literą nie różnią się statystycznie (wielokrotny test Duncana; $p < 0,05$).

Stymulator	Liczba dojrzałych nasion		Liczba pustych nasion		Masa nasion		Masa 1000 nasion	
	I termin	II termin	I termin	II termin	I termin	II termin	I termin	II termin
Kontrola	127,2ab	126,5 b	28,3 b	24,9 c	3,65 ab	3,29 b	28,34 a	26,11 a
BAP	153,8 a	123,6 b	36,1 a	25,1 c	3,36 b	4,29 a	27,94 a	27,19 a
NAA	135,0ab	121,2 b	39,7 a	26,1 c	3,63 ab	3,50 b	27,01 a	28,66 a
GA ₃	112,1 b	124,3 b	25,4 b	51,3 a	3,21 b	3,27 bc	28,60 a	26,52 a
Cysteina	112,0 b	116,2 b	18,1 c	25,2 c	3,14 b	3,18 c	28,27 a	27,68 a
NaCl	127,1ab	123,6 b	23,6 bc	30,2 b	3,73 ab	3,46 b	29,10 a	28,50 a
ASAHI	147,8ab	112,2 b	24,6 b	18,3 d	4,28 a	3,18 c	28,35 a	27,96 a
Tytanit	118,6 b	127,2 b	22,9 bc	33,4 b	3,06 bc	3,47 b	25,69 a	27,32 a
Putrescyna	104,8 b	154,4 a	25,7 b	35,2 b	2,87 c	4,29 a	27,47 a	27,98 a

Tabela 12. Liczba nasion i masa nasion [g] uzyskanych z jednej rośliny gryki rodu PA14 oraz masa tysiąca nasion [g] pod wpływem różnych stymulatorów wzrostu zastosowanych na początku fazy kwitnienia (termin I), oraz w pełnej fazie kwitnienia (termin II). Średnie (n=20) w obrębie jednej kolumny zaznaczone tą samą literą nie różnią się statystycznie (wielokrotny test Duncana; $p < 0,05$).

Stymulator	Liczba dojrzałych nasion		Liczba pustych nasion		Masa pełnych nasion		Masa 1000 nasion	
	I termin	II termin	I termin	II termin	I termin	II termin	I termin	II termin
Kontrola	126,2 b	91,8 b	31,7 a	14,6 b	3,73 b	2,64 b	28,65 b	29,03 a
BAP	124,8 b	111,4 a	32,6 a	15,2 b	3,71 b	3,28 a	29,35 b	29,36 a
NAA	129,0 b	98,8 ab	16,7 c	17,3 b	3,92 ab	2,92 ab	31,12 ab	29,74 a
GA3	56,2 d	115,4 a	15,3 c	28,0 a	1,55 c	3,43 a	27,57 b	28,99 a
Cysteina	111,0 c	113,0 a	23,5 b	20,3 ab	3,47 b	3,33 a	31,00 ab	29,69 a
NaCl	115,1 c	100,4 a	36,0 a	12,5 b	3,72 b	2,99 ab	33,63 a	29,55 a
ASAHI	103,9 c	95,9 ab	23,2 b	17,7 b	2,82 bc	2,70 b	27,31 b	28,83 a
Tytanit	162,7 a	102,6 a	29,1 a	27,3 a	4,49 a	3,04 ab	27,37 b	29,45 a
Putrescyna	133,4 b	113,3 a	24,3 b	17,9 b	3,98 ab	3,34 a	30,45 ab	29,88 a

Tabela 13. Współczynniki korelacji liniowej ($p < 0,05$) pomiędzy liczbą kwiatów, liczbą nasion, aborcją kwiatów i masą nasion uzyskanych z jednej rośliny rodu PA13. Kolorem czerwonym zaznaczono istotne zależności.

	Średnia	liczba kwiatów	liczba nasion pełnych	liczba nasion pustych	%aborcji
liczba kwiatów	618,3778	1,000000	-0,047125	-0,057926	0,923126
liczba nasion pełnych	125,9778	-0,047125	1,000000	0,563496	-0,341285
liczba nasion pustych	34,1000	-0,057926	0,563496	1,000000	-0,161796
%aborcji	77,7867	0,923126	-0,341285	-0,161796	1,000000

Tabela 14. Współczynniki korelacji liniowej ($p < 0,05$) pomiędzy liczbą kwiatów, liczbą nasion, aborcją kwiatów i masą nasion uzyskanych z jednej rośliny rodu PA14.

	Średnia	liczba kwiatów	liczba nasion pełnych	liczba nasion pustych	%aborcji
liczba kwiatów	612,4556	1,000000	-0,162189	-0,517263	0,817365
liczba nasion pełnych	111,3833	-0,162189	1,000000	0,524697	-0,556409
liczba nasion pustych	22,4000	-0,517263	0,524697	1,000000	-0,621983
%aborcji	79,4060	0,817365	-0,556409	-0,621983	1,000000

Wnioski

1. Liczba i masa nasion produkowanych na jednej roślinie obu odmian jest większa po zastosowaniu stymulatorów na początku kwitnienia, ale tylko w przypadku rodu PA14.
2. Badane rody wykazały różną wrażliwość na zastosowane stymulatory: najlepsze efekty w stymulowaniu zawiązywania nasion oraz uzyskiwaniu ich masy w przypadku rodu PA13 daje putrescyna i BAP, natomiast w przypadku rodu PA14 Tytanit.

Wnioski końcowe

1. Rozwój pyłku u obu rodów PA13 i PA14 przebiega prawidłowo. Jedynie w pełnej fazie kwitnienia pyłek rodu PA14 wykazuje niższą żywotność. Stymulatory nie zmieniają żywotności pyłku obu rodów z wyjątkiem NaCl, który istotnie degeneruje część pyłku rodu PA14 w obu terminach kwitnienia.
2. Na roślinach W obu rodach występują kwiaty typu Thrum i Pin, jednakże występuje silna dysproporcja pomiędzy frekwencją obu typów kwiatów. Ta dysproporcja jest prawdopodobnie główną przyczyną niskiego stopnia zapłodnienia kwiatów.
3. Woreczki zalążkowe roślin kontrolnych oraz traktowanych różnymi stymulatorami obu badanych rodów degenerują w jednakowym stopniu (około 30-40%) albo w wyniku braku zapłodnienia, albo pod wpływem wysokiej temperatury w okresie kwitnienia.
4. Oba rody gryki reagują specyficznie na zastosowane stymulatory.
5. Największa produkcja kwiatów i ich aborcja u obu rodów odmian występuje w roślinach traktowanych stymulatorami w II terminie.
6. Pomiedzy intensywnością kwitnienia i aborcją istnieje silna dodatnia korelacja.
7. Tytanit i putrescyna zmniejszają liczbę odrzuconych kwiatów i zwiększają liczbę zapłodnionych kwiatów, co jest związane ze zwiększoną liczbą nasion pełnych i pustych.
8. Rody gryki PA13 i PA14 charakteryzują się większą produktywnością kwiatów w stosunku do odmiany Kora i Panda, i jednocześnie większym odsetkiem kwiatów odrzucanych.

9. Obfitość nektarowania jest większa na początku kwitnienia badanych rodów gryki. Zawartość większości cukrów jest wyższa w początkowej fazie kwitnienia, niż w fazie pełnego kwitnienia.
10. Głównymi składnikami nektaru obu rodów gryki zwyczajnej jest fruktoza i glukoza.
11. Na zwiększenie obfitości nektarowania badanych rodów wpływają putrescyna, ASAHI SL i Tytanit, co znajduje odzwierciedlenie w zwiększeniu plonu nasion.
12. Pomiedzy liczbą wyprodukowanych kwiatów przez rośliny obu badanych rodów gryki a liczbą uzyskanych pełnych nasion nie ma istotnej korelacji. Istnieje natomiast w przypadku rodu PA14 korelacja pomiędzy stopniem aborcji kwiatów a liczbą pełnych nasion i masą nasion uzyskanych z jednej rośliny.
13. Skuteczność działania stymulatorów na parametry plonu roślin rodu PA14 jest większa, gdy substancje te są stosowane na początku kwitnienia. Najlepsze efekty w stymulowaniu zawiązywania nasion oraz zwiększenia ich masy daje BAP i putrescyna w przypadku rodu PA13 oraz Tytanit w przypadku rodu PA14.
14. Słabe plonowanie gryki jest spowodowane oprócz heterostylii najprawdopodobniej silną konkurencją o asymilaty pomiędzy nowopowstającymi kwiatami w ciągu całego okresu wegetacji, a zawiązującymi się zarodkami i nasionami. Ponadto wydaje się, że podaż asymilatów jest zbyt mała, aby wypełnić wszystkie zawiązane nasiona.

Spis literatury

- Adachi T. 1990. How to combine the reproductive system with biotechnology in order to overcome the breeding barrier in buckwheat. *Fagopyrum* 10: 7-11.
- Adachi T., Kawabata K., Matsuzaki N. 1983. Observation of pollen tube elongation, fertilization and ovule development in autogamous autotetraploid buckwheat. *Proc. 2nd Int. Symp. Buckwheat Miyazaki Buckwheat Research*: 103-113.
- Aufhammer W., Gotz I., Peter M. 1987. Yield performance of field bean (*Vicia faba* L.) in relation to interaction between inflorescence at different nodes. *Cambridge. J. Agric. Sci.* 108: 479-486.
- Björkman T., Samimy C., Pearson H. 1995a. Variation in pollen performance among plants of *Fagopyrum esculentum*. *Euphytica* 82: 235-240.
- Björkman T. 1995b. Gametophyte selection through pollen competition in buckwheat. *Current Advances in Buckwheat Research*: 443-451.
- Björkman T. 1995c. The effect of pollen load and pollen grain competition on fertilization success and progeny performance in *Fagopyrum esculentum*. *Euphytica* 83: 47-52.
- Cawoy V., Lutts S., Kinet J.-M. 2006. Osmotic stress seedling stage impairs reproductive development in buckwheat (*Fagopyrum esculentum*). *Physiologia Plantarum* 128: 689-700.
- 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: 1-9.
- Czyczyło-Mysza I., Dubert F. 2006. Wpływ egzogennej auksyny lub cytokininy, stosowanych w miejscu dakapitacji, na plonowanie roślin bobiku (*Vicia faba* L. *minor*). *Z. Probl. Post. Nauk Rol.*

- Dafni A. 1992. Pollination Ecology: A Practical Approach (Practical Approach Series). Oxford University Press. U.S.A.
- Filutowicz A., Kuźdowicz A. 1951. Mikrotechnika roślinna. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne. Warszawa.
- Gawrońska H., Przybysz A., Małecka-Przybysz M., Słowiński A. 2009. Wpływ biostymulatora Asahi SL na wzrost, sprawność aparatu fotosyntetycznego i plonowanie rzepaku ozimego w warunkach polowych. *Wiś Jutra* 6-7: 36-38
- Guan L.M., Adachi T. 1992. Reproductive deterioration in buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) under summer conditions. *Plant Breeding* 109: 304-312.
- Guan L.M., Adachi T. 1994. Ultrastructural changes of the mature embryo sac in buckwheat (*Fagopyrum aesculentum*) as a result of high temperature exposure. *Cytologia* 59: 237-248.
- Guan L.M., Adachi T. 1995. Ultrastructure change of organelle and cytoplasmic DNA deterioration during embryogenesis in *Fagopyrum esculentum*. *Current Advances in Buckwheat Research* 247-253.
- Guan L., Chen L., Adachi T. 2008. Ultrastructural studies of embryo abortion in buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) as a heat-stress. *Cytologia* 73: 371-379.
- Jabłoński B. 2003. Metodyka badań obfitości nektarowania kwiatów i oceny miododajności roślin. Oddział Pszczelnictwa Instytut Sadownictwa i Kwiaciarnictwa Skierniewice.
- Janeczko A., Oklešková J., Siwek A., Dziurka M., Pocięcha E., Kocurek M., Novák O. 2013. Endogenous progesterone and its cellular binding sites in wheat exposed to drought stress. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 138: 384–394
- Janeczko A., Biesaga-Kościelniak J., Oklešková J., Filek M., Dziurka M., Szarek-Łukaszewska G., Kościelniak J. 2010. 24-Epibrassinolide in wheat production: physiological activity and uptake. *Journal of Agronomy and Crop Science* 196: 311-321.
- Joachimiak A. 1994. Analiza kariotypu roślin. Uniwersytet Jagielloński. Instytut Botaniki. Kraków.
- Kwiatkowska M., Izmailow R. 2014. Ovules, female gametophytes and embryos are more sensitive to heavy metalpollution than anthers and pollen of *Cardaminopsis arenosa* (L.) Hayek (Brassicaceae), a member of Calamine flora. *Acta Biologica Cracoviensia series Botanica* 56 (1): 128-137.
- Matsui K., Tetsuka T., Nishio T., Hara T. 2003. Heteromorphic incompatibility retained in self-compatible plants produced by a cross between common and wild buckwheat. *New Phytologist* 159: 701–708.
- Matsui K., Nishio T., Tetsuka T. 2004. Genes outside the S supergene suppress S functions in buckwheat (*Fagopyrum esculentum*). *Annals of Botany* 94(6): 805-809.
- Młodzianowski F., Woźny A. 1990. Wykłady i ćwiczenia z biologii komórki roślinnej. Wydawnictwo Naukowe Uniwersytetu im. A. Mickiewicza w Poznaniu. 344.
- Mól R. 1988. Metody przejaśniania tkanek stosowane w embriologii roślin. *Wiadomości Botaniczne* 32: 201-208.
- Pasini F., Gardini S., Marazzan G.L., Caboni M.F. 2013. Buckwheat honeys: Screening of composition and properties. *Food Chem.* 141: 2802–2811.
- Patric J.W. 1987. Are hormones involved in assimilate transport? W: Hormone action in plant development. A Critical Appraisal. London. Butterworths (eds. Hoad G.V., Lenton J.R., Jackson M.B., Actin P.K.), pp. 175-187.

- Przybysz A., Gawrońska H., Gajc-Wolska J. 2014. Biological mode of action of nitrophenolates-based biostimulant: case study. *Frontiers in Plant Science* 5: 1-15.
- Przybysz A., Wrochna M., Słowiński A., Gawrońska H. 2010. Stimulatory effect of Asahi SL on selected plant species. *Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus* 9: 53-64.
- Ruszkowska B., Ruszkowski M. 1981. Gryka. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa.
- Saini H.S. 1997. Effects of water stress on male gametophyte development in plants. *Sexual Plant Reproduction* 10: 67-73.
- Shaikh N.Y., Guan L.M., Adachi T. 2001. Ultrastructural analyses on breeding barriers in post-fertilization of interspecific hybrids of buckwheat. The proceeding of the 8th ISB: 319-329.
- Singh R.J. 2003. *Plant Cytogenetics*. 2nd ed. CRC Press, Boca Raton.
- Taylor D.P., Obendorf R.L. 2001. Quantitative assessment of some factors limiting seed set in buckwheat. *Crop Science* 41: 1792-1799.
- Wojtacki M. 1998. *Produkty pszczele i przetwory miodowe*. PWRiL Warszawa.
- Woo S.H., Ohmoto T., Campbell C., Adachi T., Jong S.K. 2001. Pre- and post-fertilization to backcrossing in interspecific hybridization between *Fagopyrum esculentum* and *F. homotropicum* with *F. esculentum*. The proceeding of the 8th ISB: 450-455.
- Żur I., Klein M., Dubert F., Samek L., Waligórska H., Żuradzka I., Zawisławski E. 2003. Environmental factors and genotypic variation of self-incompatibility in *Brassica oleracea* L. var *capitata*, *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 45(1): 49-52.

Część wyników została zaprezentowana w postaci referatu i streszczenia na międzynarodowej konferencji: 10th International Conference Plant Functioning under Environmental Stress. September 16-19, 2015, Cracow, Poland organizowana przez Instytut Fizjologii Roślin PAN w Krakowie.

Słomka A., Dubert F., Dziurka M., Kopeć P., Płazek A. Why enhanced production of the flowers treated with exogenous biostimulants is not correlated with higher seed set in common buckwheat (*Fagopyrum esculentum*)? – data from embryology. Book of Abstracts. 10th International Conference Plant Functioning under Environmental Stress. September 16-19, 2015, Cracow, Poland; str. 37.

Why enhanced production of the flowers treated with exogenous biostimulants is not correlated with higher seed set in common buckwheat (*Fagopyrum esculentum*)? – data from embryology

*A. Slomka, **F. Dubert, **M. Dziurka, ***P. Kopec, ***A. Płazek

*Department of Plant Cytology and Embryology, Jagiellonian University, 9 Gronostajowa, 30-387 Cracow, Poland

**The Franciszek Górski Institute of Plant Physiology, Polish Academy of Science, 21 Niezapominajek, 30-239 Cracow, Poland

***Department of Plant Physiology, University of Agriculture, 3 Podlužna, 30-239 Cracow, Poland
corresponding author: a.slomka@iphils.uj.edu.pl

Introduction: In *Fagopyrum esculentum* Moench (common buckwheat) inadequate number of flowers set seeds leading to lower yield than expected. To improve its productivity we used several plant growth biostimulants (PGB) whose positive effect on reproductive growth has earlier been proved (Khan et al. 2014).

Methods: The number of flowers and unripe seeds/plant were counted in two cultivars ('Kora' and 'Panda') treated with six PGB (50 mg dm⁻³ NAA, 100 mg dm⁻³ GA₃, 50 mg dm⁻³ BAP, 10 mg dm⁻³ NaCl, 290 mg dm⁻³ putrescine, 100 mg dm⁻³ cysteine) and two commercial products (0.3 cm³ dm⁻³ TYTANIT and 1 cm³ dm⁻³ ASAHI SL) four weeks since spraying. Embryological slides for ovule analysis were done with paraffin method and stained with Heidenhain's hematoxylin combined with alcian blue. Pollen viability (stainability) was assessed using Alexander dyes (Slomka et al. 2012). The number of ripe seeds/plant was counted after 3 months since sowing.

Results: Three (NAA, NaCl, TYTANIT) exogenously applied substances statistically enhanced flower production in 'Kora', while five of them (BAP, NAA, GA₃, cysteine, TYTANIT) influenced higher amount of unripe seeds production. In 'Panda' only after cysteine treatment plant produced higher number of flowers and no substance had positive effect on the number of unripe seeds. These were not correlated with ultimate higher seed set since flower abortion was even higher after treatments (68-84%, dependently on the substance) as compared to the control (63%) in 'Kora' and comparable (77-84% vs. 79%) in 'Panda'. Such low frequency of mature seed set was not due to reduced pollen viability as it was very high (> 98%). The degeneration of mature embryo sacs, mainly synergids, and early abortion of the embryos are responsible for that.

Conclusions: PGB and commercial products did not improved seed set by the decreasing the number of defective embryo sacs. The low productivity of buckwheat is due to long flowering period and competition for resources between flowers and seeds.

Acknowledgements: The study was financially supported by the Polish Ministry of Agriculture and Rural Development (project No. HORh 078/PB/34/14).

References:

- Khan A.S., Shaheen T., Malik A.U., Rajwana I.A., Ahmad S., Ahmad I. 2014. *Pakistan Journal of Botany* 46: 233-238.
Slomka A., Jędrzejczyk-Korycińska M., Rostański A., Karcz J., Kawalec P., Kuta E. 2012. *Environmental and Experimental Botany* 75: 204-211.