

Grant badawczo-rozwojowy R 12 06 103

Wykorzystanie mieszańców międzygatunkowych otrzymanych przez krzyżowanie wierzby z topolą (*Salix X Populus*) do zwiększenia wydajności biomasy i odporności na suszę Uniwersytet im. A. Mickiewicza w Poznaniu

Zadania badawcze

1. Otrzymanie zarodków mieszańcowych. Analiza embriologiczna. Potwierdzenie mieszańcowości
2. Mikrorozmnażanie roślin mieszańcowych. Poliploidyacja najcenniejszych roślin. Potwierdzenie poliploidalności
3. Uprawa polowa, ocena wartości energetycznej
4. Uzyskanie izolatów jednozarodnikowych rdzy *Melampsora larici-epitea* z porażonych okazów wierzby i topoli z zachodnich i wschodnich terenów Polski i oznaczenie ich przynależności do gatunków i ras
5. Identyfikacja gaunków i ras rdzy porażających klony mieszańcowe w warunkach kontrolowanych

Konieczność szerokiego wprowadzania wierzby wiciowej do upraw plantacyjnych przeznaczonych na biomasę, stawia przed hodowcami ważne zadanie otrzymania wydajnych, szybko rosnących roślin, odpornych na choroby i niekorzystne warunki atmosferyczne. Połączenie genomu dwóch gatunków o walorach energetycznych; szybko rosnącej wierzby z genomem masywnej topoli, w celu uzyskania form mieszańcowych, reprezentujących wymienione cechy, zasługuje na uwagę. Narzędziem umożliwiającym uzyskanie takich form jest krzyżowanie oddalone z wykorzystaniem metody *in vitro*.

W wyniku prac wykonanych w ramach projektu otrzymano formy mieszańcowe, które zweryfikowano metodami cytologicznymi (cytometria przepływowa) i molekularnymi (PCR, RAPD, STR). Na podstawie przeprowadzonych doświadczeń *in vitro* oraz analizy biologii kwitnienia komponentów krzyżowania zoptymalizowano zapylenie (godz. ranne 9-11.00, świeży pyłek); określono termin izolacji zarodków (21-28 dpz i wskazano optymalny skład pożywki dla rozwoju zarodków mieszańcowych (1/2MS z dod. hydrolizatu kazeiny, mleczka kokosowego, sacharozy). W każdym sezonie wegetacyjnym (luty- maj 2007, 2008, 2009, 2010) z zapylanych 200 tysięcy słupków, izolowano ok. 8 000 niedojrzałych zarodków, które wykładano na pożywkę. Stwierdzono, że przyczyną niskiego współczynnika konwersji zarodków mieszańcowych w siewki były zaburzenia rozwojowe bielma oraz brak homologii chromosomów. Dalsze ubytki stanu liczebnego następowały podczas wzrostu i ukorzeniania siewek.

Obok hybrydyzacji (*Salix x Populus*) szansą na zwiększenie biomasy była poliploidyacja wybranych klonów *Salix viminalis*. Poliploidyacji podlegały zarodki na pożywce MS (Murashige i Skoog, 1962) z dodatkiem kolchicyny 0,025 i 0,050% lub trifluraliny 0,1% czy pronamidu 0,3% (KERB). Analiza cytometryczna wykazała, że po 48h ekspozycji na działanie substancji c-mitotycznej uzyskano tetraploidy ($4n=76$), przy czym najskuteczniej działała kolchicyna, dla której współczynnik poliploidyacji wynosił 12%. Podwojenie genomu nastąpiło tylko u zarodków *S. viminalis* otrzymanych w krzyżowaniu klonu 46 z klonami 14 i 72, co wskazuje na istotną rolę genotypu w procesie poliploidyacji. Aby zwiększyć liczbę roślin poliploidalnych i mieszańcowych dostosowano metodę mikrorozmnażania przez sadzonki węzłowe do potrzeb wierzby (pożywka 1/2 WPM, bez hormonów, z dodatkiem węgla aktywowanego)

Ścisłe doświadczenie porównawcze przeprowadzone w Stacji Doświadczalnej Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Bałdach k/Olsztyna na materiale pobranym z 76 roślin mieszańcowych wysadzonych w sezonie 2007 na poletko w OB UAM w Poznaniu wyodrębniły z grupy mieszańców rośliny o parametrach plonu wyższych niż pozostałe. Ich plonowanie nie przewyższało jednak plonów odmian wzorcowych: wysokość pędów wysokoplennych mieszańców wynosiła 3.90- 4.50 (średnia 3.66 m); średnica pędów 19.6 – 23.5 (średnia 20,5cm); liczba pędów z rośliny 8,71 – 10,75 (średnia 8,03 szt.); masa pędów z rośliny 4.02 – 5.90 (średnia 3,70 kg). Analiza dynamiki wzrostu mieszańców wykazała, że rośliny w pierwszym roku uprawy poniosły największe nakłady na wzrost wydłużeniowy, kosztem rozkrzewiania; w drugim roku rośliny intensywnie się rozkrzewiały, natomiast w trzecim roku wegetacji przyrastały na wysokość i wytwarzały nowe pędy. Przeprowadzone analizy wartości opałowej biomasy mieszańców wykazały, że ciepło spalania trzyletniej biomasy badanych genotypów było stosunkowo wysokie i wyrównane (średnia 19,5 MJ kg⁻¹ s.m.). Natomiast wartość opałowa biomasy różnicowała badane genotypy, wynosząc od 9,14 do 10,28 MJ kg⁻¹ s.m. (średnia 9,73 MJ kg⁻¹ s.m.). Inną, ważną cechą biomasy mieszańców była niska zawartość popiołów, która wynosiła od 1,09 do 1,12% s.m. oraz dobra jakość popiołu pozostałego po spalaniu. Zawartość pierwiastków w suchej masie mieszańców nie wykazywała znaczącego zróżnicowania.

Na podstawie wyników doświadczenia uprawowego stwierdzono, że wartość plonu biomasy mieszańców dorównywała pod względem wielu parametrów plonom odmian wzorcowych, co przemawia za tym, że można będzie wyselekcjonować z form mieszańcowych nowe odmiany. Dla roślin o parametrach plonu wyższych niż pozostałe założono doświadczenie określające ich tolerancję na niedobór wody. W teście wazonowym nie stwierdzono podwyższonej tolerancji mieszańców *Salix X Populus* na niedobór wody.

Na podstawie testów inokulacyjnych z wykorzystaniem standardowych 20 genotypów oraz form mieszańcowych wierzby wykazano, że w Polsce występuje głównie gatunek rdzy wierzbowej *Melampsora larici-epitea*, odbywającej fazę generatywną na roślinach modrzewia. Obecność tej fazy skutkowałą tworzeniem licznych patotypów oraz form patogena. Stwierdzono, że w obrębie rdzy występowało 9 patotypów (w przypadku podziału genotypów testowych na na kategorie – podatne/odporne). Patotypy te występowały z podobną częstością w Polsce Zachodniej i Wschodniej. Analiza molekularna wykazała, że sekwencja fragmentu ITS badanych izolatów była identyczna z opublikowana w bazie NCBI. Jednakże na podstawie testów RAPD z wykorzystaniem 23 starterów z serii OPC, OPG, OPJ oraz OPL (Genosys-Operon) stwierdzono znaczny polimorfizm badanych izolatów.

Kontakt : elzbieta.zenkteler@amu.edu.pl