

Błażej Springer, Andrzej Wojciechowski

Akademia Rolnicza im. A. Cieszkowskiego w Poznaniu, Katedra Genetyki i Hodowli Roślin

Ocena możliwości wyeliminowania barier prezygotycznych w krzyżowaniach oddalonych trzech gatunków z rodzaju *Brassica*

The assessment of overcoming prezygotic barrier in interspecific crosses of three species from *Brassica* genus

Słowa kluczowe: *Brassica*, krzyżowanie oddalone, bariery prezygotyczne

W realizowanych badaniach określono możliwości wyeliminowania barier prezygotycznych w krzyżowaniach oddalonych u *Brassica*. Wykonano krzyżowania zwrotne między trzema gatunkami: *B. hirta* (gorczyca biała), *B. oleracea* var. *botrytis* (brokuł) i *B. napus* var. *oleifera* (rzepak). Wykorzystano dwie formy jare i dwie ozime rzepaku. Bariery prezygotyczne próbowano wyeliminować poprzez zastosowanie kilku sposobów zapylania po skróceniu słupka. Jako kontrolne zapylenie zastosowano zapylanie na znamię słupka. Obserwacje kiełkowania ziaren pyłku i wnikania łagiewek pyłkowych przeprowadzono przy użyciu mikroskopu fluorescencyjnego. Stwierdzono zróżnicowaną zdolność kiełkowania łagiewek pyłkowych u poszczególnych kombinacji krzyżówkowych w zależności od sposobu zapylania.

Key words: *Brassica*, wide hybridization, pre-zygotic barriers

In the present paper the possibility of overcoming the incompatibility barriers in wide hybridization of *Brassica* species has been estimated. Three species of *Brassica* genus were used for diallel crossing. These were: *B. oleracea* var. *botrytis* (broccoli), *B. hirta*, and two winter and two spring cultivars of *B. napus* var. *oleifera* (oilseed rape). The assessment was made by applying fluorescent microscopy technique. The observations of pollen grains germination and pollen tubes penetration were made in pistils of female component of interspecific crosses. Several ways of pollination were applied, i.e. pollination on stigma, pollination on style after removing the stigma, pollination on manually shortened style and pollination on an ovule of pistil after the removing of style.

The applied pollination ways have presented different ability of pollen tubes penetration in particular cross combinations. Generally, better pollen germination and penetration of pollen tubes were observed in a cross combination where *B. napus* was used as a pistil parent. Better pollen germination after pollination on style without stigma in several crosses was observed. The penetration of pollen tubes into ovules was observed only in this particular way of pollination.

Wstęp

Rzepak (*Brassica napus* var. *oleifera*) jako podstawowa roślina oleista klimatu umiarkowanego poddawany jest ciągłemu ulepszaniu na drodze hodowli. Programy hodowlane rzepaku, oprócz ciągłego podnoszenia wartości gospodarczej

i plonu nasion ukierunkowane są na ulepszanie cech jakościowych, jak np. wprowadzenie odmian żółtonasiennych, wprowadzenie cechy samoniezgodności, czy modyfikacje składu kwasów tłuszczowych.

Zmienność genetyczna w obrębie gatunku *Brassica napus* jest ograniczona. Jednym ze sposobów zwiększania zmienności u rzepaku jest krzyżowanie oddalone. Potencjalnym źródłem wartościowych cech, których introgresja do rzepaku jest pożądana są dzikie gatunki *Brassica*. Jednak w przypadku krzyżowań oddalonych dość często występują bariery uniemożliwiające otrzymanie mieszańców. Niezgodność międzygatunkowa jest określana jako proces występujący po zapyleniu, który uniemożliwia powstanie mieszańcowej zygoty łączącej genomy dwóch płodnych form (Nettancourt i in. 1974). Lewis i Crowe (1958) podają, że uwarunkowania i sposób przejawiania się mechanizmów międzygatunkowej niezgodności zlokalizowanych w szyjce są takie same w przypadku niezgodności gametofitycznej, jak i sporofitycznej.

Jedną z napotykaných trudności są tzw. bariery prezygotyczne (Bednarska 1994). Bariery prezygotyczne polegają na uniemożliwieniu kiełkowania niezgodnego pyłku na znamieniu rośliny matecznej. Bariery prezygotyczne można niekiedy ominąć stosując inne sposoby zapylenia (Bednarska 1994, Michalik 1996, Wojciechowski i in. 2002).

Celem niniejszej pracy była ocena skuteczności różnych sposobów zapylenia w krzyżowaniach diallelicznych *B. oleracea* var. *botrytis*, *B. hirta* oraz *B. napus* var. *oleifera*.

Material i metody

W krzyżowaniach oddalonych użyto rośliny z gatunków: *B. oleracea* var. *botrytis* (brokuł), *B. hirta* (gorczyca biała) oraz *B. napus* var. *oleifera* (rzepak). Z gatunku *B. napus* były to dwie formy ozime (odmiana LEO oraz ród MAH 1690) oraz dwie odmiany jare (Stellar i White Flower). Na materiale tym wykonano krzyżowanie w niepełnym układzie diallelicznym (nie krzyżowano ze sobą odmian ozimych i jarych *B. napus*). Obserwacje kiełkowania ziaren pyłku (ZP) i wnikania łagiewek pyłkowych (ŁP) w poszczególne części słupka wykonano przy użyciu mikroskopu fluorescencyjnego. Zastosowano cztery warianty zapylenia: A — na znamię słupka, B — na szyjkę w miejscu odcięcia znamienia, C — na szyjkę odciętą w połowie, D — na załącznię. W każdej kombinacji krzyżówkowej analizowano 6 słupków.

Intensywność kiełkowania łagiewek pyłkowych oceniano w przyjętej 5-stopniowej skali, gdzie 0 — brak łagiewek, 4 — łagiewki bardzo liczne, 1–3 — wartości pośrednie. Uśrednione wyniki zamieszczono w tabeli 1.

Wyniki

W krzyżowaniu diallelicznym *B. napus*, *B. oleracea*, *B. hirta* obserwowano różny stopień zgodności krzyżowej w zależności od kierunku krzyżowania, wariantu zapylenia i krzyżowanych gatunków (tab. 1).

Krzyżowanie *B. napus* × *B. oleracea*

Zapylenie form ozimych rzepaku

Po naniesieniu pyłku *B. oleracea* na znamiona form ozimych *B. napus* obserwowano intensywne kiełkowanie ZP już po 24 godzinach od zapylenia: 2,3 — MAH; 3,0 — Leo (tab. 1). Łagiewki nie wnikały jednak jeszcze do dalszych części słupka. Po 48 godzinach od zapylenia w tych kombinacjach krzyżówkowych intensywność kiełkowania ziaren pyłku na znamieniu była już nieco mniejsza: 2,0 — MAH; 1,8 — Leo (tab. 1), ale obserwowano dość liczne ŁP w szyjce słupka, a nieliczne z nich u odmiany Leo (0,2) docierały do załąźni.

Nieco mniej ziaren pyłku kiełkowało po naniesieniu pyłku na słupek pozabawiony znamienia. W tej kombinacji po 48 godzinach od zapylenia obserwowano już tylko nieliczne kiełkujące ZP.

W kolejnym wariacie — ZP nanoszone na szyjkę słupka odciętą w połowie — słabe kiełkowanie zanotowano po 24 i 48 godzinach tylko w przypadku, gdy jako formę mateczną użyto odmianę LEO rzepaku ozimego (0,5 — po 24 h i 0,3 po 48 h). Nie obserwowano tu wnikania ŁP do załąźni, zarówno po 24, jak i 48 godzinach od zapylenia.

Po naniesieniu pyłku *B. oleracea* na załąźnię form ozimych *B. napus* w miejscu uprzednio usuniętego słupka obserwowano aktywność jedynie pojedynczych ziaren pyłku (0,5 MAH i 0,2 Leo). Kiełkujące z nich łagiewki nie docierały do załąźni. Po 48 godzinach ilość kiełkujących ZP w tej kombinacji była podobna (0,3 — Leo, 0,2 — MAH), a łagiewki również nie wnikały do dalszych części słupka.

Zapylenie form jarych rzepaku

Kiełkowanie ZP na znamieniu było nieco intensywniejsze niż u form ozimych. Po 24 godzinach od zapylenia, w przeciwieństwie do form ozimych, stwierdzono wnikanie ŁP do szyjki słupka, ale było ono jeszcze słabe (0,5 — White Flower; 0,3 — Stellar). Wzmoczone wnikanie łagiewek do szyjki słupka obserwowano dopiero po 48 godzinach od zapylenia (1,2 — White Flower; 1,0 — Stellar). U formy White Flower nieliczne ŁP dotarły również do załąźni.

W wariacie B zapylenia intensywność kiełkowania ŁP była nieco niższa niż w wariacie A, jednakże już po 24 godzinach od zapylenia pojedyncze łagiewki docierały do załąźni (0,2 — White Flower; 0,2 Stellar). Podobną ilość łagiewek w załąźni obserwowano po 48 godzinach od zapylenia.

Tabela 1

Wnikanie łągiełek pyłkowych do poszczególnych części słupka w krzyżowaniach zwrotnych trzech gatunków *Brassica* przy czterech sposobach zapylenia — *Penetration of a particular part of style by pollen tubes in reciprocal crosses of three Brassica species in four ways of pollination*

Czas po zapyleniu Time after pollination [h]	Kombinacja krzyżowania, wariant zapylenia, obecność LP w poszczególnych częściach słupka <i>Cross combination, way of pollination, penetration of pollen tubes</i>															
	A				B				C				D			
	Z	S	ZA	WN	Z	S	ZA	WN	Z	S	ZA	WN	Z	S	ZA	WN
	<i>B. napus</i> (MAH 1690) × <i>B. oleracea</i> ozime															
24	2,3	0,0	0,0	0,0	X	1,5	0,0	0,0	X	0,0	0,0	0,0	X	X	0,5	0,0
48	2,0	1,8	0,0	0,0	X	0,2	0,5	0,0	X	0,0	0,0	0,0	X	X	0,3	0,0
	<i>B. napus</i> (LEO) × <i>B. oleracea</i> ozime															
24	3,0	0,0	0,0	0,0	X	2,2	0,0	0,0	X	0,5	0,0	0,0	X	X	0,2	0,0
48	1,8	1,0	0,2	0,0	X	0,3	0,8	0,0	X	0,3	0,0	0,0	X	X	0,2	0,0
	<i>B. napus</i> (White Flower) × <i>B. oleracea</i> jare															
24	3,2	0,5	0,0	0,0	X	2,1	0,2	0,0	X	1,0	0,0	0,0	X	X	0,7	0
48	1,5	1,2	0,8	0	X	0,8	0,3	0,0	X	1,0	0,0	0,0	X	X	0,2	0
	<i>B. napus</i> (Stellar) × <i>B. oleracea</i> jare															
24	3,5	0,3	0,0	0,0	X	1,5	0,2	0,0	X	0,8	0,0	0,0	X	X	0,2	0,0
48	2,1	1,0	0,0	0,0	X	0,2	0,2	0,0	X	0,5	0,0	0,0	X	X	0,0	0,0
	<i>B. napus</i> (MAH 1690) × <i>B. hirta</i> ozime															
24	2,1	0,0	0,0	0,0	X	0,3	0,0	0,0	X	0,0	0,0	0,0	X	X	0,0	0,0
48	0,8	0,2	0,0	0,0	X	0,5	0,3	0,0	X	0,0	0,0	0,0	X	X	0,0	0,0
	<i>B. napus</i> (LEO) × <i>B. hirta</i> ozime															
24	2,5	0,8	0,0	0,0	X	1,0	0,0	0,0	X	0,5	0,0	0,0	X	X	0,2	0,0
48	1,0	0,3	0,0	0,0	X	1,5	0,2	0,0	X	0,8	0,3	0,0	X	X	0,2	0,0
	<i>B. napus</i> (White Flower) × <i>B. hirta</i> jare															
24	2,5	0,0	0,0	0,0	X	1,8	0,2	0,0	X	0,0	0,0	0,0	X	X	0,0	0,0
48	2,0	0,8	0,0	0,0	X	1,2	0,3	0,0	X	0,0	0,0	0,0	X	X	0,0	0,0
	<i>B. napus</i> (Stellar) × <i>B. hirta</i> jare															
24	2,2	0,0	0,0	0,0	X	0,2	0,0	0,0	X	0,0	0,0	0,0	X	X	0,0	0,0
48	2,0	0,5	0,0	0,0	X	0,2	0,2	0,0	X	0,0	0,0	0,0	X	X	0,0	0,0
	<i>B. hirta</i> × <i>B. oleracea</i>															
24	0,0	0,0	0,0	0,0	X	0,0	0,0	0,0	X	0,0	0,0	0,0	X	X	0,0	0,0
48	1,2	0,5	0,0	0,0	X	0,2	0,0	0,0	X	0,2	0,0	0,0	X	X	0,0	0,0

Sposoby zapylenia — *Pollination ways*

A — zapylenie na znamiona — *pollination on stigmas*

B — zapylenie na szyjkę po usunięciu znamienia — *pollination on style after removing of stigma*

C — zapylenie na szyjkę słupka skróconą o połowę — *pollination on manually shorten style*

D — zapylenie na zalążnię po usunięciu szyjki słupka — *pollination on ovary after removing of style*

Ciąg dalszy tabeli 1

Czas po zapyleniu Time after pollination [h]	Kombinacja krzyżowania, wariant zapylenia, obecność LP w poszczególnych częściach słupka Cross combination, way of pollination, penetration of pollen tubes															
	A				B				C				D			
	Z	S	ZA	WN	Z	S	ZA	WN	Z	S	ZA	WN	Z	S	ZA	WN
	<i>B. oleracea</i> × <i>B. napus</i> (MAH 1690) ozime															
24	2,5	0,0	0,0	0,0	X	2,8	0,2	0,0	X	0,0	0,0	0,0	X	X	0,0	0,0
48	2,8	1,2	0,0	0,0	X	3,0	0,0	0,0	X	0,0	0,0	0,0	X	X	0,0	0,0
	<i>B. oleracea</i> × <i>B. napus</i> (LEO) ozime															
24	2,0	2,7	0,0	0,0	X	2,5	0,3	0,0	X	0	0	0	X	X	0,0	0,0
48	2,2	2,5	0,0	0,0	X	2,2	0,2	0,0	X	0	0	0	X	X	0,0	0,0
	<i>B. oleracea</i> × <i>B. napus</i> (White Flower) jare															
24	1,2	0,2	0	0	X	0,5	0,0	0,0	X	0,0	0,0	0,0	X	X	0,0	0,0
48	2,5	1,5	0	0	X	1,6	0,5	0,2	X	0,0	0,0	0,0	X	X	0,0	0,0
	<i>B. oleracea</i> × <i>B. napus</i> (Stellar) jare															
24	2,0	0,7	0,0	0,0	X	0,2	0,2	0,0	X	0,0	0,0	0,0	X	X	0,0	0,0
48	2,5	1,5	1,0	0,0	X	0,3	0	0,2	X	0,0	0,0	0,0	X	X	0,0	0,0
	<i>B. hirta</i> × <i>B. napus</i> (MAH 1690) ozime															
24	1,0	0,0	0,0	0,0	X	0,0	0,0	0,0	X	0,0	0,0	0,0	X	X	0,0	0,0
48	0,5	0,0	0,0	0,0	X	0,0	0,0	0,0	X	0,0	0,0	0,0	X	X	0,0	0,0
	<i>B. hirta</i> × <i>B. napus</i> (LEO) ozime															
24	1,2	0,0	0,0	0,0	X	0,0	0,0	0,0	X	0,0	0,0	0,0	X	X	0,0	0,0
48	1,0	0,0	0,0	0,0	X	0,0	0,0	0,0	X	0,2	0,2	0,0	X	X	0,0	0,0
	<i>B. hirta</i> × <i>B. napus</i> (White Flower) jare															
24	1,3	0,2	0,0	0,0	X	0,0	0,0	0,0	X	0,0	0,0	0,0	X	X	0,0	0,0
48	1,5	0,0	0,0	0,0	X	0,0	0,0	0,0	X	0,0	0,0	0,0	X	X	0,0	0,0
	<i>B. hirta</i> × <i>B. napus</i> (Stellar) jare															
24	2,2	0,2	0,0	0,0	X	0,0	0,0	0,0	X	0,0	0,0	0,0	X	X	0,0	0,0
48	0,2	0,2	0,0	0,0	X	0,0	0,0	0,0	X	0,0	0,0	0,0	X	X	0,0	0,0
	<i>B. oleracea</i> × <i>B. hirta</i>															
24	0,5	0,0	0,0	0,0	X	0,8	0,2	0,0	X	1,5	0,0	0,0	X	X	0,5	0,0
48	1,5	0,8	0,2	0,0	X	0,2	1,5	0,0	X	0,3	0,0	0,0	X	X	0,0	0,0

Z — znamię — stigma

S — szyjka — style

ZA — zalążnia — ovary

WN — wnikiwanie do zalążka — penetration into ovule

W wariacie zapylania w połowie odciętej szyjki i bezpośrednio na załącznię (warianty C i D) obserwowano tylko nieliczne kiełkujące ŁP po 48 godzinach bez penetracji do dalszych części słupka (tab. 1).

Krzyżowanie *B. oleracea* × *B. napus*

Zapylenie pyłkiem odmian ozimych

W krzyżowaniach *B. oleracea* z formami ozimymi *B. napus* obserwowano kiełkowanie ZP tylko w wariacie A i B zapylania, przy czym intensywność ich kiełkowania była nieco wyższa w wariacie B. Po 48 godzinach kiełkowało zwykle nieco więcej ZP (tab. 1). Jednak po zapyleniu na znamię słupka ŁP docierały tylko do szyjki słupka. Natomiast w wariacie B obserwowano pojedyncze ŁP w załączni już po 24 godzinach od zapylenia (0,3 — po zapyleniu pyłkiem Leo, 0,2 — MAH), a także po 48 godzinach, ale tylko po zapyleniu pyłkiem odm. Leo (0,2).

Zapylenie pyłkiem odmian jarych

Podobną zależność jak przy krzyżowaniu z formami ozimymi obserwowano w krzyżowaniu *B. oleracea* z formami jarymi *B. napus*: ZP kiełkowały tylko w pierwszych dwóch wariantach, a intensywność kiełkowania ZP była tu wyższa po 48 niż po 24 godzinach od zapylenia (tab. 1). W wariacie B kiełkowało znacznie mniej ZP niż w wariacie A, ale była to jedyna kombinacja w całym eksperymencie, w której ŁP dotarły aż do załączków.

Krzyżowanie *B. hirta* × *B. napus*

Zapylenie pyłkiem *B. hirta*

W wariacie A obserwowano dość intensywne kiełkowanie ZP po 24 godzinach (tab. 1) i słabe wnikanie ŁP do szyjki prawie we wszystkich kombinacjach, ale dopiero po 48 godzinach od zapylenia. Jedynie u formy Leo ŁP zaobserwowano w szyjce słupka już po 24 godzinach. W wariacie B po 48 godzinach u wszystkich czterech form rzepaku (u White Flower również po 24 h) zaobserwowano wnikanie ŁP aż do załączni. W wariacie C zapylania jedyną kombinacją, gdzie ZP kiełkowały i wrastały do załączni była krzyżówka odm. Leo × *B. hirta*. Ponadto, jedynie w tej kombinacji krzyżowania obserwowano także kiełkowanie ZP nanoszonych na załącznię (wariant D).

Zapylenie *B. hirta* pyłkiem *B. napus*.

Krzyżowania zwrotne *B. napus* × *B. hirta* charakteryzowały się jednokierunkową niezgodnością. W kombinacjach, w których formą mateczną była *B. hirta* kiełkowanie ZP obserwowano jedynie na znamionach (wariant A). Było ono słabe zarówno po 24, jak i 48 godzinach od zapylenia. Pojedyncze ŁP odmian jarych: Stellar i White Flower docierały do szyjki słupka (tab. 1). Intensywność kiełkowania pyłku form jarych *B. napus* na znamionach *B. hirta* była nieznacznie wyższa

niż form ozimych. Stwierdzono, że ZP odmiany ozimej Leo — jako jedynej w tej części eksperymentu — wykazały skłonność do kiełkowania w wariancie C, tj. na załączni *B. hirta* pozbawionej słupka (tab. 1).

Krzyżowanie zwrotne *B. oleracea* × *B. hirta*

W krzyżowaniach *B. oleracea* × *B. hirta* pyłek wykazywał zdolność do kiełkowania we wszystkich czterech sposobach zapylania. Intensywność kiełkowania ZP (oprócz wariantu A) była wyższa po 24 niż po 48 godzinach. ŁP docierały najdalej do załączni w wariancie A i B zapylania.

W krzyżowaniach zwrotnych tych gatunków kiełkowanie ZP obserwowano tylko po 48 godzinach w wariantach zapylania A, B i C. Nieliczne ŁP w szyjce słupka stwierdzono tylko w wariancie A zapylania.

Dyskusja

U roślin okrytonasiennych gametofit żeński usytuowany jest w załączni, a łagiewka pyłkowa zanim dotrze do woreczka załączkowego musi pokonać długą drogę poprzez komórki sporofitu, tj. komórki znamienia i szyjki słupka. W krzyżowaniach oddalonych kiełkujące łagiewki pyłkowe napotyka na swej drodze bariery związane z występowaniem mechanizmów niezgodności międzygatunkowej, które w znacznym stopniu utrudniają otrzymanie roślin mieszańcowych (Zenkler 1984).

Wielu autorów (np. Sampson 1962, Rodkiewicz 1973, Bednarska 1994, Wojciechowski i in. 1996) gatunki z rodzaju *Brassica* zalicza do form o sporofitycznym systemie niezgodności. W tym systemie niezgodności procesy rozpoznania i odpowiedzi pomiędzy partnerami rozmnażania odbywają się na powierzchni znamienia. Rozpoznanie niezgodnego ziarna pyłku powoduje blokowanie procesów koniecznych do jego dalszego rozwoju. Przejawia się to słabszą adhezją pyłku do znamienia oraz brakiem pełnego uwodnienia pyłku, co jest konsekwencją zaburzeń w przepływie wody z brodawek znamienia do ziarna pyłku. Ostatecznie rozpoznanie niezgodnego pyłku indukuje tzw. odpowiedź kalozową. Polega ona na syntezie kalozy na wierzchołku kiełkującej łagiewki pyłkowej oraz w ścianie brodawki znamienia, z którym niezgodny pyłek był w bezpośrednim kontakcie.

Lewis i Crowe (1958), Sampson (1962) oraz Matzusawa (1983) podają, że charakterystyczną cechą sporofitycznego typu niezgodności, jest to, że dość często występuje ona jednokierunkowo. Często wzrost ŁP gatunków samozgodnych (SC) jest hamowany na znamieniu form samoniezgodnych (SI). Zależność tę obserwowano także w prezentowanej pracy. Na znamieniu samozgodnego *B. napus* obserwowano intensywniejsze kiełkowania ziaren pyłku i liczniejsze łagiewki pyłkowe niż u pozostałych gatunków użytych do krzyżowań.

Podobną zależność w krzyżowaniach oddalonych między gatunkami *Brassica* obserwowali m.in. Wojciechowski (1985) oraz Wojciechowski i in. (1996). Matzusa (1983) zauważył, że efektywność krzyżowań oddalonych u *Brassica* znacznie wzrastała, gdy jako komponentu matecznego użyto samozgodnych form *B. oleracea*.

Przeprowadzone warianty zapyleń krzyżowych między *B. napus*, *B. oleracea* i *B. hirta* wykazały, że pyłek posiada zdolność kiełkowania zarówno przy nanoszeniu go na znamię słupka, jak i na różne części słupka. Bednarska (1994) podaje, że zastosowanie zapylenia bezpośrednio na szyjkę słupka umożliwiło pokonanie bariery samoniezgodności u wielu gatunków. Natomiast Shivanna (1982) oraz Zenkteler (1984) podają, że technika nanoszenia pyłku na różne części słupka może być pomocna przy pokonywaniu barier niekrzyżowalności roślin. W prezentowanej pracy wzrost intensywności kiełkowania (penetracji) łagiewek obserwowano zwłaszcza w wariantcie, w którym pyłek był наносzony na szyjkę słupka w miejscu usuniętego znamienia. Jedynie w tym wariantcie eksperymentu łagiewki dotarły do zalążni. Brak tkanek znamienia spowodował, że ziarna niezgodnego pyłku nie zostały rozpoznane i odrzucone. Wydaje się więc możliwe ominięcie barier przegotycznych niezgodności krzyżowej u gatunków *Brassica* poprzez wykorzystanie tej techniki zapylenia.

Wnioski

1. W przeprowadzonych krzyżowaniach obserwowano zróżnicowaną zdolność kiełkowania łagiewek pyłkowych w zależności od kombinacji krzyżówkowej i sposobu zapylenia
2. Na ogół intensywniejszą penetrację łagiewek pyłkowych obserwowano w przypadku, gdy formą mateczną były samozgodne (SC) odmiany *B. napus*.
3. Spośród zastosowanych wariantów zapylenia największą efektywnością wnikania ŁP charakteryzowało się zapylenie na szyjkę słupka z odciętym znamieniem. W tym wariantcie jako jedynym obserwowano wnikanie ŁP do zalążków.

Literatura

- Bednarska E. 1994. Zarys embriologii roślin okrytonasiennych. Wydawnictwo Uniwersytetu Mikołaja Kopernika, Toruń, 167-169.
- Lewis D., Crowe L.K. 1958. Unilateral interspecific incompatibility in flowering plants. *Heredity*, 12: 233-256.

- Matsuzawa Y. 1983. Studies on interspecific hybridization in genus *Brassica*. II. Crossability in interspecific cross, *B. oleracea* L. × *B. campestris* L. Japan. J. Breeding, 33: 321-330.
- Michalik B. 1996. Zastosowanie metod biotechnologicznych w hodowli roślin. Praca zbiorowa. Drukrol s.c., Kraków, 170.
- Nettancourt D., de Devreux M., Laneri U., Cresti M., Pacini F., Serfati E. 1974. Genetical and ultra-structural aspects of self- and cross-incompatibility in interspecific hybrids between self compatible *Lycopersicon esculentum* and self-incompatible *Lycopersicon peruvianum*. Theor. Appl. Genet., 44: 278-288.
- Rodkiewicz B. 1973. Embriologia roślin kwiatowych. PWN, Warszawa.
- Shivanna K.R. 1982. Pollen-pistil interaction and control of fertilization. W: Johri B.M., Experimental Embryology of Vascular Plants. Springer Verlag, 131-174.
- Sampson D.R. 1962. Intergeneric pollen-stigma incompatibility in the *Cruciferae*. Can. J. Genet. Cytol., 4: 38-49.
- Wojciechowski A. 1985. Interspecific hybrids between *Brassica campestris* L. and *B. oleracea* L. I. Effectiveness of crossing, pollen tube growth, embryogenesis. Genetica Polonica, 26: 423-436.
- Wojciechowski A., Olejniczak J., Adamska E. 1996. Evaluation of crossability of *Cuphea lanceolata* and *C. viscosissima* based on pollen tube growth and seed set. J. Appl. Genet., 37: 277-284.
- Wojciechowski A., Springer B., Pieśkiewicz M., Maślankiewicz J. 2002. Przełamywanie barier prezygotycznych w krzyżowaniach oddalonych *Brassica*. Zesz. Problem. Post. Nauk Rolniczych, 488, cz. I: 127-134.
- Zenkter M. 1984. Hodowla zarodków. W: Hodowla komórek i tkanek roślinnych, PWN, 210-311.