

DŁUGOŚĆ APARATÓW SZPARKOWYCH U CZTERECH CYTOTYPÓW *Phleum* Z KOLEKCJI NOWOZELANDZKIEJ

*Andrzej Joachimiak*¹, *Joanna Kłos*², *Adam Kula*², *Alan Stewart*³

¹Zakład Cytologii i Embriologii Roślin, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

²Katedra Hodowli Roślin i Nasiennictwa,
Akademia Rolnicza im. H. Kołłątaja w Krakowie

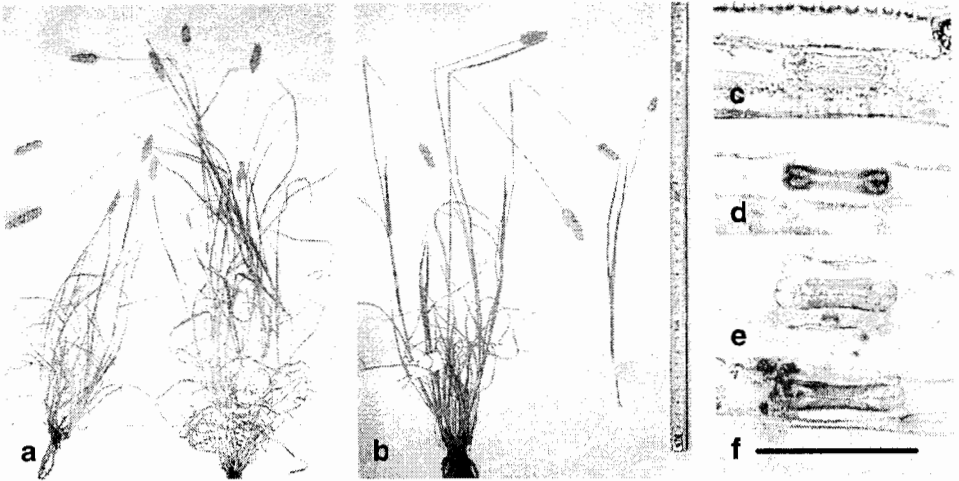
³Stacja Pyne Gould Guinness Ltd., Christchurch, Nowa Zelandia

Wstęp

Tymotka łąkowa *Phleum pratense* s.l. jest jedną z najważniejszych na świecie traw hodowlanych. W samych Stanach Zjednoczonych wyróżnia się ponad 150 odmian, z których większość należy do heksaploidalnego ($2n = 6x = 42$) gatunku *P. pratense* L. Oprócz cytotypów heksaploidalnych wyróżnia się w obrębie tego złożonego kompleksu jeszcze cytotypy diploidalne ($2n = 2x = 14$), zaliczane najczęściej do osobnego taksonu *P. nodosum* L. (= *P. bertolonii* DC.) oraz cytotypy tetraploidalne ($2n = 4x = 28$) i oktoploidalne ($2n = 8x = 56$).

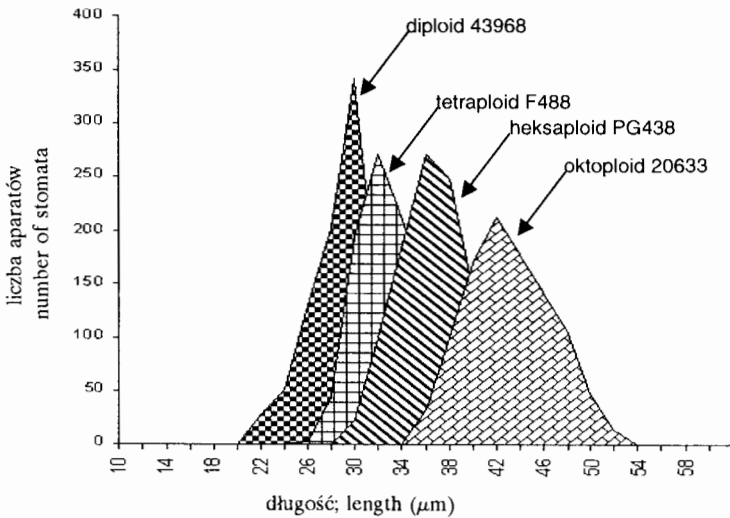
Do form diploidalnych tymotki łąkowej hodowcy nie przywiązywali przez długi czas większego znaczenia. Jedyne w Wielkiej Brytanii i w krajach skandynawskich hodowane są jako trawy gazonowe, dopracowano się tam też nielicznych diploidalnych odmian komercyjnych [FALKOWSKI 1982]. Jeśli chodzi o cytotypy tetraploidalne i oktoploidalne, to wiadomości na ich temat są jedynie fragmentaryczne. Wiadomo, że rosną w krajach śródziemnomorskich w naturalnych stanowiskach oraz że granice ich zasięgów mogą przynajmniej po części pokrywać się z zasięgami pozostałych gatunków należących do sekcji *Phleum* [CENCI i in. 1984]. Istnieją dwa zasadnicze powody słabego poznania tych form: są one przypuszczalnie stosunkowo rzadkie, ponadto brak dobrych kryteriów morfologicznych umożliwiających ich odróżnienie. W literaturze podaje się czasem, że mogą różnić się wielkością, lecz szczegółowe badania nie potwierdzają tej tezy [CENCI i in. 1984; CASLER 2001], tak więc w praktyce kryterium to nie znajduje zastosowania (rys. 1a, 1b).

Zainteresowanie różnymi, nie tylko heksaploidalnymi cytotypami *P. pratense* systematyczne wzrasta w ostatnich latach. Są one poddawane intensywnym zabiegom hodowlanym w różnych ośrodkach na całym świecie [CASLER 2001]. Nasze wcześniejsze badania wykazały, że formy di- i heksaploidalne *P. pratense* różnią się długością aparatów szparkowych [JOACHIMIAK, GRABOWSKA-JOACHIMIAK 2000], możliwa staje się więc ich identyfikacja bez uciekania się do uciążliwej i czasem trudnej do przeprowadzenia analizy cytologicznej lub cytometrycznej, mającej na celu bezpośrednie określenie stopnia ploidalności.



Rys. 1. (a, b) Okazy zielnikowe dwóch cytotypów *Phleum pratense* s.l.: (a) diploida 43968 - $2n = 14$ i (b) tetraploida 58702 - $2n = 28$, (c-f) Aparaty szparkowe: c) diploid 43968 - $2n = 14$, d) tetraploid F488 - $2n = 28$, e) heksaploid PG438 - $2n = 42$, f) oktoploid 20633 - $2n = 56$. Podziółka: $50 \mu\text{m}$

Fig. 1. (a, b) Herbarial specimens of *Phleum pratense* s.l.: (a) diploid 43968 - $2n = 14$ (b) tetraploid 58702 - $2n = 28$, (c-f) Stomata of: c) diploid 43968 - $2n = 14$, d) tetraploid F488 - $2n = 28$, e) hexaploid - PG438, f) octoploid 20633 - $2n = 56$. Scale: $50 \mu\text{m}$



Rys. 2. Histogram pokazujący zróżnicowanie długości aparatów szparkowych u czterech cytotypów *Phleum pratense* s.l.

Fig. 2. Histogram showing differentiation of stomatal cell length in the four cytotypes of *Phleum pratense* s.l.

W prezentowanej pracy starano się wykazać, iż poprzez analizę tej cechy można rozróżnić również pozostałe cytotypy złożonego kompleksu *P. pratense* s.l. Należy dodać, że próby praktycznego rozróżniania cytotypów o różnych stopniach ploidalności na podstawie długości aparatów szparkowych były podejmowane już wielokrotnie zarówno w stosunku do gatunków użytkowych, jak i dziko rosnących [SPECKMAN i in. 1965; SANTEN, CASLER 1986; BORRINO, POWELL 1988; MISHRA 1997].

Materiał i metody

Przedmiotem badań były cztery cytotypy tymotki łąkowej *Phleum pratense* s.l. o zróżnicowanych stopniach ploidalności, pochodzące z obszaru Morza Śródziemnego, jedyne go obszaru, gdzie stwierdzono ich współwystępowanie w warunkach naturalnych. Diploid ($2n = 14$: linia nr 43968) pochodził z Portugalii, trzy tetraploidy ($2n = 28$: F488, 58702 i H677) wywodziły się kolejno z Hiszpanii, Francji i Włoch, heksaploid ($2n = 42$: PG438) oraz oktoploid ($2n = 56$: 20633) pochodziły z Włoch. Stopień ploidalności wszystkich badanych linii potwierdzony był przez nas bezpośrednio na podstawie badań cytologicznych [KULA i in. 2002]. Analizowane formy poddane zostały programowi hodowlanemu w stacji doświadczalnej Pyne Gould Guinness Ltd w Nowej Zelandii, mającemu na celu wyprowadzenie nowych odmian komercyjnych. Pomiarów długości aparatów szparkowych dokonano na skrawkach epidermy pobranych ze środkowej części trzeciego liścia u wyrosniętych roślin, hodowanych przez nas w wyrównanych warunkach.

Do pomiarów wykorzystano system analizy obrazu Lucia G połączony poprzez kamerę CCD (Panasonic) z mikroskopem Eclipse E800 (Nikon). Dla każdej linii wykonano pomiary aparatów szparkowych z 10 roślin (po 100 aparatów szparkowych).

Wyniki i dyskusja

Średnia długość aparatów szparkowych zwiększała się wraz ze wzrostem stopnia ploidalności. I tak średnia długość aparatów szparkowych dla cytotypu diploidalnego wynosiła około $28 \mu\text{m}$, dla tetraploidalnego $32 \mu\text{m}$, heksaploidalnego zaś $35 \mu\text{m}$. U oktoploidów średnia długość aparatów wynosiła $42 \mu\text{m}$ (rys. 1c–f). Zaobserwowane różnice w średnich długościach aparatów szparkowych okazały się statystycznie istotne (tab. 1), choć zakresy zmienności tej cechy w znacznej mierze zachodziły na siebie (rys. 2).

Jak wykazano, wszystkie badane cytotypy tymotki łąkowej wykazują różnice w długości aparatów szparkowych. Ich praktyczne rozróżnianie na tej pośredniej drodze wydaje się więc możliwe, co z powodu braku innych sprawdzonych kryteriów morfologicznych może być istotne tak w praktyce hodowlanej, jak i we wstępnej selekcji materiału uzyskanego ze stanowisk naturalnych. Metoda jest prosta, szybka i nie wymaga użycia wysokiej klasy aparatury, może być bowiem z powodzeniem stosowana nawet z użyciem okularu pomiarowego.

Tabela 1; Table 1

Analiza statystyczna długości aparatów szparkowych u czterech cytotypów
Phleum pratense s.l.
 Statistical analysis of stomatal cell length in the four cytotypes of *Phleum pratense* s.l.

Cytotypy Cytotypes	Średnia długość aparatów szparkowych i odchylenie standardowe Average stomatal cell length and standard deviation (μm)	Wynik testu Duncana (przy $P = 0,05$) Duncan's test result (at $P = 0.05$)
Diploid 43968 ($2n = 14$)	$28,34 \pm 3,21$	d*
Tetraploid F488 ($2n = 28$)	$32,49 \pm 3,33$	c
Heksaploid PG438 ($2n = 42$)	$35,38 \pm 2,69$	b
Oktoploid 20633 ($2n = 56$)	$42,16 \pm 3,62$	a

* – różne litery wskazują, że różnice pomiędzy średnimi są statystycznie istotne; different letter designations indicate that compared means are significantly different

Wnioski

Przeprowadzona analiza długości aparatów szparkowych pozwoliła odróżnić di-, tetra-, heksa- i oktoploidalne cytotypy tymotki łąkowej hodowane w wyrównanych warunkach. Zastosowana metoda okazała się szybka i mniej uciążliwa od określania liczb chromosomów w tkankach merystematycznych.

Ponieważ wzrost średniej długości aparatów szparkowych wiąże się najwyraźniej ze wzrostem stopnia ploidalności, można wnioskować, że mamy tu do czynienia z tzw. efektem nukleotypowym, zdefiniowanym przez BENNETTA [1987] jako wpływ samej ilości DNA (bez względu na jego zawartość informacyjną) na fenotyp, szczególnie zaś na wielkość komórek.

Literatura

- BENNETT M.D. 1987. *Variation in genomic form in plants and its ecological implications*. New Phytol. 106: 177–200.
- BORRINO E.M., POWELL W. 1988. *Stomatal guard cell length as an indicator of ploidy in microspore-derived plants of barley*. Genome 30: 158–160.
- CASLER M.D. 2001. *Patterns of variation in a collection of timothy accessions*. Crop Sci. 41: 1616–1624.
- CENCI C.A., PEGIATI M.T., FALISTOCCO E. 1984. *Phleum pratense (Gramineae): chromosomal and biometrical analysis of Italian populations*. Willdenowia 14: 343–353.
- FALKOWSKI M. 1982. *Trawy Polskie*. PWRiL, Warszawa: 565 ss.
- JOACHIMAK A., GRABOWSKA-JOACHIMIAK A. 2000. *Stomatal cell length and ploidy level in four taxa belonging to the Phleum sect. Phleum*. Acta Biol. Cracov. Ser. Bot. 42: 103–107.

KULA A., JOACHIMIĄK A., KŁOS J., STEWART A. 2002. *Udział heterochromatyny w budowie kariotypu sześciu linii Phleum z kolekcji z Nowej Zelandii*. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol. 488: 259–266.

MISHRA M.K. 1997. *Stomatal characteristics at different ploidy levels in Coffea L.* Ann. Bot. 80: 689–692.

SPECKMAN G.J., POST J., DIJKSTRA H. 1965. *The length of stomata as an indicator for polyploidy in rye-grasses*. Euphytica 14: 225–230.

SANTEN VAN E., CASLER M.D. 1986. *Evaluation of indirect ploidy indicators in Dactylis L. subspecies*. Crop Sci. 26: 848–852.

Słowa kluczowe: *Phleum pratense*, poliploidalność, cytotypy, aparaty szparkowe, efekt nukleotypowy

Streszczenie

W prezentowanej pracy przeanalizowano długość aparatów szparkowych u czterech cytotypów *Phleum pratense* s.l. tworzących szereg poliploidalny od di- do oktoploidalnego. Badane cytotypy pochodzą z obszaru Morza Śródziemnego i od kilku lat hodowane są przez jednego z autorów (Alana Stewarta) w stacji hodowlanej Pyne Gould Guinness Ltd w Nowej Zelandii.

W badanym szeregu poliploidalnym średnia długość aparatów szparkowych zwiększa się wraz ze wzrostem stopnia ploidalności, a różnice pomiędzy średnimi są statystycznie istotne. Analiza tej cechy umożliwiła identyfikację różnych cytotypów tymotki, co może mieć istotne znaczenie, ponieważ brak innych sprawdzonych kryteriów morfologicznych, które można byłoby zastosować w tym celu.

THE LENGTH OF STOMATAL CELLS IN FOUR CYTOTYPES OF *Phleum* FROM NEW ZEALAND COLLECTION

Andrzej Joachimiak¹, Joanna Kłos², Adam Kula², Alan Stewart³

¹ Department of Plant Cytology and Embryology, Institute of Botany, Jagiellonian University, Kraków

² Cyto genetics Group in the Department of Plant Breeding and Seed Science, Agricultural University, Kraków

³ Pyne Gould Guinness Ltd, P O Box 3100, Christchurch 8015, New Zealand

Key words: *Phleum pratense*, ploidy level, cytotypes, stomata, nucleotypic effect

Summary

Stomatal cell length was examined in four cytotypes of *Phleum pratense* s.l. (from di- to octoploid). The investigated cytotypes originated from the Mediterranean area and they have been bred for several years by one of the authors

(Alan Stewart) in the Breeding Station Pyne Gould Guinness in New Zealand.

In investigated material the length of stomatal cells increased together with an increase of ploidy level, and observed differences between the cytotypes proved to be statistically significant. The analysis of this feature enables to distinguish different *Phleum* cytotypes. It may be useful, because there are no other tested morphological criteria, which could be used for this purpose.

Dr hab. Andrzej **Joachimiak**
Zakład Cytologii i Embriologii Roślin
Uniwersytet Jagielloński
ul. Grodzka 52
31-044 KRAKÓW
e-mail: joachim@grodzki.phils.uj.edu.pl