|  |  |
| --- | --- |
|  |  |
| UR.jpg | Zakładka 1.jpg |

Uniwersytet Rolniczy im. H. Kołłątaja w Krakowie

Wydział Biotechnologii i Ogrodnictwa

Kierunek studiów: Ogrodnictwo

Specjalność: Ogrodnictwo z marketingiem

**Rafał Kobak**

Nr albumu: 57053

**Badania nad mikrorozmnażaniem gatunków ginących na przykładzie śnieżycy karpackiej i szachownicy kostkowatej.**

Kraków, 2018 rok

Spis treści

[1. WSTĘP 4](#_Toc530086030)

[2. PRZEGLĄD LITERATURY 5](#_Toc530086031)

[3. CHARAKTERYSTYKA GATUNKÓW 5](#_Toc530086032)

[3.1. Śnieżyca karpacka *Leucojum vernum var. carpaticum* 5](#_Toc530086033)

[3.1.1. Systematyka 5](#_Toc530086034)

[3.1.2. Morfologia 5](#_Toc530086035)

[3.1.3. Ekologia 5](#_Toc530086036)

[3.1.4. Występowanie 5](#_Toc530086037)

[3.2. Szachownica kostkowata *Fritillaria meleagris* 5](#_Toc530086038)

[3.2.1. Systematyka 5](#_Toc530086039)

[3.2.2. Morfologia 5](#_Toc530086040)

[3.2.3. Ekologia 5](#_Toc530086041)

[3.2.4. Występowanie 5](#_Toc530086042)

[4. RODZAJE KULTUR IN-VITRO 5](#_Toc530086043)

[5. METODYKA BADAŃ 5](#_Toc530086044)

[5.1. Laboratorium 5](#_Toc530086045)

[5.2. Śnieżyca karpacka *Leucojum vernum var. carpaticum* 5](#_Toc530086046)

[5.2.1. Materiał wyjściowy 5](#_Toc530086047)

[5.2.2. Zastosowane pożywki 5](#_Toc530086048)

[5.2.3. Rodzaje eksplantatów 5](#_Toc530086049)

[5.2.4. Metody odkażania 5](#_Toc530086050)

[5.2.5. Czas prowadzanie kultur 5](#_Toc530086051)

[5.3. Szachownica kostkowata *Fritillaria meleagris* 5](#_Toc530086052)

[5.3.1. Materiał wyjściowy 5](#_Toc530086053)

[5.3.2. Zastosowane pożywki 5](#_Toc530086054)

[5.3.3. Rodzaje eksplantatów 5](#_Toc530086055)

[5.3.4. Metody odkażania 5](#_Toc530086056)

[5.3.5. Czas prowadzanie kultur 5](#_Toc530086057)

[6. PRZEBIEG DOŚWIADCZENIA 6](#_Toc530086058)

[6.1. Śnieżyca karpacka 6](#_Toc530086059)

[6.1.1. Inicjacja kultur 6](#_Toc530086060)

[6.1.2. Rozwój eksplantatów 6](#_Toc530086061)

[6.1.3. Ilość uzyskanych mikrocebul 6](#_Toc530086062)

[6.1.4. Zakażania w kulturach 6](#_Toc530086063)

[6.2. Szachownica kostkowata 6](#_Toc530086064)

[6.2.1. Inicjacja kultur 6](#_Toc530086065)

[6.2.2. Rozwój eksplantatów 6](#_Toc530086066)

[6.2.3. Ilość uzyskanych mikrocebul 6](#_Toc530086067)

[6.2.4. Zakażania w kulturach 6](#_Toc530086068)

[7. PODSUMOWANIE WYNIKÓW 6](#_Toc530086069)

[7.1. Śnieżyca karpacka 6](#_Toc530086070)

[7.2. Szachownica kostkowata 6](#_Toc530086071)

[7.3. Porównanie obu gatunkó 6](#_Toc530086072)

[8. WNIOSKI I MOŻLIWOSCI ROZWOJU DOŚWIADZCENIA 6](#_Toc530086073)

[9. LITERATURA 8](#_Toc530086074)

# WSTĘP

Cześć gatunków objętych ochroną prawną w Polsce, występuje jedynie na kilku stanowiskach. Istnieje więc ryzyko że przypadku zniszczenia tych stanowisk np. poprzez osuszenie wilgotnych łąk, gatunki takie mogą zniknąć z krajowej flory. Wraz z rozwojem technik in-vitro pojawiła się możliwość masowego rozmnażania roślin z pojedynczych osobników. Mikrorozmnażanie o którym mowa może być bardzo efektywną formą rozmnażania wegetatywnego, jednakże procedury są często specyficzne dla konkretnych gatunków i wymagają indywidualnego opracowania. Dzięki optymalizacji tych procedur możliwe stanie się masowe rozmnożenie zagrożonych gatunków przypadku wystąpienia nagłej potrzeby - zniszczenia stanowiska naturalnego czy też konieczności zaspokojenia potrzeb rynku.

Celem pracy są badania nad mikrorozmnażaniem dwóch gatunków roślin cebulowych będących w Polsce pod ochroną prawną, śnieżycy karpackiej *Leucojum vernum var. carpathicum* Sims (ochrona częściowa) oraz szachownicy kostkowatej *Fritillaria meleagris* L. (ochrona ścisła). Oba gatunki są roślinami występującymi na mokrych i żyznych łąkach. Istnieje kilka sposobów mikrorozmnażania roślin, w niniejszej pracy użyta zostanie metoda organogenezy bezpośredniej to jest powstawania pąków przybyszowych bezpośrednio w tkankach eksplantatu. Największy nacisk będzie położony na zbadanie wpływu rodzaju eksplantatu na współczynnik rozmnażania. Wykorzystane w doświadczeniu rodzaje eskplantatów to fragmenty blaszki liściowej, łuski spichrzowej cebuli, piętki oraz płatka korony - jedynie w przypadku szachownicy kostkowatej. Rośliny będące źródłem eksplantatów zostaną pozyskane z środowiska naturalnego za zgodą odpowiednich organów. Skład pożywki będzie bazował na istniejących publikacjach naukowych dotyczących obu gatunków. W razie potrzeby opisane pożywki czy metody odkażania będą modyfikowane. Kultury będą prowadzone na pożywkach stałych w szalkach petriego w laboratorium zakładu genetyki, hodowli roślin i biotechnologii wydziału ogrodniczego oraz zostaną zakończone w momencie otrzymania mikrocebul, będących materiałem rozmnożeniowym w przypadku roślin cebulowych. Dodatkowo w ramach pracy zbadane zostaną wpływ położenia eksplantatu w pożywce na ilość zregenerowanych roślin oraz wpływ różnych metod odkażania na ilość zakażeń w kulturach.

Rzadkość występowania badanych gatunków roślin może być spowodowana niską efektywnością rozmnażania tych gatunków naturze. Jedną z przyczyn takiego stanu rzeczy może być niska żywotność pyłku. W celu sprawdzenia tej tezy zbadana zostanie żywotność pyłku dla obu gatunków. Z trzech kwiatów każdego gatunku zostanie pobrany pyłek i za pomocą dwóch barwników zostanie oceniony stosunek pyłku żywego do martwego.

# PRZEGLĄD LITERATURY

# CHARAKTERYSTYKA GATUNKÓW

## Śnieżyca karpacka *Leucojum vernum var. carpaticum*

### Systematyka

### Morfologia

### Ekologia

### Występowanie

## Szachownica kostkowata *Fritillaria meleagris*

### Systematyka

### Morfologia

### Ekologia

### Występowanie

# RODZAJE KULTUR IN-VITRO

# METODYKA BADAŃ

## Laboratorium

/autoklaw, użyte wysażenie (wagi, mieszadłą etc.), pomieszczenia, komora do pracy, pomieszczenie wzrostowe/

## Śnieżyca karpacka *Leucojum vernum var. carpaticum*

### Materiał wyjściowy

### Zastosowane pożywki

### Rodzaje eksplantatów

### Metody odkażania

### Czas prowadzanie kultur

## Szachownica kostkowata *Fritillaria meleagris*

### Materiał wyjściowy

### Zastosowane pożywki

### Rodzaje eksplantatów

### Metody odkażania

### Czas prowadzanie kultur

# PRZEBIEG DOŚWIADCZENIA

## Śnieżyca karpacka

### Inicjacja kultur

### Rozwój eksplantatów

### Ilość uzyskanych mikrocebul

### Zakażania w kulturach

## Szachownica kostkowata

### Inicjacja kultur

### Rozwój eksplantatów

### Ilość uzyskanych mikrocebul

### Zakażania w kulturach

# PODSUMOWANIE WYNIKÓW

## Śnieżyca karpacka

## Szachownica kostkowata

## Porównanie obu gatunkó

# WNIOSKI I MOŻLIWOSCI ROZWOJU DOŚWIADZCENIA

Pomiar z dnia 20.04.2018

Tab. Ilość mikrocebul w dniu 20.04.2018 - Leucojum var carpaticu

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Termin założenia kultury** | **Numer szalki** | **Ilość eksplantatów z mikrocebulami** | **Numer eksplantatu** | **Ilość mikrocebul na esplantacie** |
| 09.03.2018 | P1 | 1 | 1 | 1 |
| P2 | 1 | 1 | 1 |
| P3 | 0 | - | - |
| P4 | 0 | - | - |
| P5 | 0 | - | - |
| Suma mikrocebul | 2 | | | |
| 16.03.2018 | P1 | 3 | 1 | 1 |
| 2 | 3 |
| 3 | 2 |
| P3 | 0 | - | - |
| P4 | 0 | - | - |
| P5 | 0 | - | - |
| P6 | 0 | - | - |
| P8 | 1 | 1 | 3 |
| P10 | 0 | - | - |
| Suma mikrocebul | 9 | | | |
| 23,03,2018 | P2 | 0 | - | - |
| P3 | 0 | - | - |
| P4 | 0 | - | - |
| P5 | 1 | 1 | 1 |
| P6 | 1 | 1 | 2 |
| Suma mikrocebul | 3 | | | |
| 06.04.2018 | P1 | 2 | 1 | 1 |
| 2 | 1 |
| P2 | 0 | - | - |
| P3 | 0 | - | - |
| P4 | 0 | - | - |
| P5 | 0 | - | - |
| P9 | 1 | 1 | 2 |
| Suma mikrocebul | 4 | | | |
| 16.04.2018 | P1 | 1 | 1 | 4 |
| P2 | 2 | 1 | 1 |
| 2 | 2 |
| P3 | 2 | 1 | 2 |
| 2 | 1 |
| Suma mikrocebul | 10 | | | |
| 20.04.2018 | P1 | 3 | 1 | 0 |
| 2 | 1 |
| 3 | 1 |
| P2 | 0 | - | - |
| Suma mikrocebul | 2 | | | |
| Suma | 30 | | | |

# LITERATURA

[1] – Stefan Malepszy, *Biotechnologia roślin*, KDC, Warszawa 2017.

[2] – Dariusz J. Michalczyk, *Wykłady i ćwiczenia z roślinnych kultur in-vitro,* Olsztyn, 2011*.*

<http://www.wbp.olsztyn.pl/~krist/skrypt/>

[3] – Zbigniew Mirek, Halina Piękoś-Mirkowa, *Czerwona Księga Karpat Polskich - Rośliny Naczyniowe*, Instytut Botaniki PAN, Kraków 2008

[4] – Y.P.S. Bajaj, Biotechnology in Agriculture and Forestry 40 Springer 1997,

N. Zagorska Micropropagation of Leucojum aestivum L.(Summer Snowflake)

[5] – Agata Ptak, *Leucojum aestivum L. in vitro bulbs induction*

*and acclimatization,* Agricultural University, Kraków, 2014

[6] – Marija Petrić, *Activity of antioxidant enzymes during induction of morphogenesis of*

*Fritillaria meleagris in bulb scale culture*, University of Belgrade, Belgrade, 2014

[7] – Marija Nikolić, *Effect of low temperature on rooting rate and carbohydrate content of Fritillaria meleagris bulbs formed in culture in vitro*, "Siniša Stanković" Institute for Biological Research, Belgrade, 2008

[8] – Suleyman Kizil, *Accelerated micropropagation of endemic Fritillaria*

*Aurea schott*, Ankara University, Ankara, 2016

[9] – D. S. Muraseva, *In Vitro Propagation and Conservation of Rare Species*

*Fritillaria meleagris L. from Floral Explants*, Central Siberian Botanical Garden, Novosibirsk, 2015