

ELŻBIETA MALUSZYŃSKA

Zakład Nasiennictwa i Nasionoznawstwa

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, Radzików

Stabilność zabarwienia ziarna i pochewki liściowej pszenżyta ozimego w kolejnych latach rozmnożeń

Stability of grain and coleoptile color in winter tritcale in the successive years of propagation

Badano zabarwienie ziarna pod wpływem fenolu i zabarwienie koleoptyla trzech kolejnych generacji pszenżyta ozimego odmian Bogo i Presto reprodukowanych w trzech punktach badawczych (Lublin, Olsztyn, Sandomierz). Doświadczenie prowadzono w latach 1997–2000 z zachowaniem izolacji przestrzennej. Jako kontrolę wysiewano co roku materiał wyjściowy z przechowalni długoterminowej. Nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy kontrolą i reprodukcją dla obu cech, ale zaznaczyły się różnice pomiędzy latami zbioru. Badany materiał odmiany Bogo i odmiany Presto nie różnił się od wzorców pod względem reakcji fenolazowej i zabarwienia koleoptyla, jedynie zabarwienie koleoptyla u odmiany Presto było nieco słabsze niż wzorca.

Słowa kluczowe: OWT, reakcja fenolazowa, pszenżyto ozime, zabarwienie koleoptyla, ziarniak

Phenol reaction of winter tritcale and colour of the coleoptile were investigated according to DUS methodics. Three generations of varieties Bogo and Presto and a control (initial material sown every year) were obtained at three different locations. The result obtained indicated that the phenol reaction and colour of coleoptile depended on the year of harvest. No significant differences between a control and reproduction were found. Varieties Bogo and Presto did not differ significantly from the standards in the examined characters. Only the colour of the coleoptile of var. Presto was lower than that of the standard.

Key words: colour of the coleoptile, DUS, kernel, phenol reaction, winter tritcale

WSTĘP

Wśród wielu cech ocenianych w badaniach OWT dla zbóż znajdują się takie cechy jak zabarwienie ziarna pod wpływem roztworu fenolu oraz zabarwienie koleoptyla (COBORU, 1996). Zgodnie z Międzynarodowymi Przepisami Oceny Nasion ISTA (2004) oraz przepisami AOSA (1988) test fenolowy jest używany także do weryfikacji tożsamości odmianowej na nasionach. Ponadto bywa stosowany do szybkiego odróżniania niektórych odmian ryżu, wyki, wiechliny łąkowej, jęczmienia, owsa, pszenżyta i życicy (Handbook

ISTA, 1993). Obecnie istnieją także inne metody służące weryfikacji odmianowej, jak metody spektrofotometryczne lub cyfrowej analizy obrazu, jednak dotychczas nie zostały one włączone do wymaganych badań w OWT (Majumdar i Jayas 2000, Wiwart i Korona 1998). Międzynarodowe Przepisy Oceny Nasion (2004) zalecają również weryfikację odmianową pszenicy i jęczmienia metodą elektroforezy w żelu poliakrylamidowym. Hodowcy zbóż, w tym pszenżyta, przed zgłoszeniem odmiany są zobowiązani badać jej wyrównanie pod względem zabarwienia ziarna w roztworze fenolu i zabarwienia koleoptyla. W literaturze krajowej znajduje się tylko jedno opracowanie dotyczące tego zagadnienia u pszenżyta (Trzciński, 1987). Brakuje opracowań omawiających zmienność tych cech i ich trwałość podczas reprodukcji odmiany.

Celem badań była ocena trzech pokoleń pszenżyta ozimego uprawianych w różnych warunkach środowiska pod względem zabarwienia ziarna w roztworze fenolu i zabarwienia pochwki liściowej.

MATERIAŁ I METODY

Materiałem do badań były odmiany Bogo i Presto reprodukowane w trzech punktach badawczych (Lublin, Olsztyn, Sandomierz) przez trzy kolejne lata. Doświadczenie prowadzono w latach 1998–2000 z zachowaniem izolacji przestrzennej (100 m) od innych upraw pszenżyta i żyta. Jako kontrolę wysiewano co roku materiał wyjściowy z przechowalni długoterminowej.

Ocenę zabarwienia ziarna pod wpływem fenolu oraz zabarwienia antocyjanem pochwki liściowej przeprowadzono według metodyki OWT dla pszenżyta (COBORU, 1996). Każdą analizę przeprowadzono w czterech powtórzeniach. Jako odmianę porównawczą do badań włączono odmianę Clercal, której ziarniaki barwią się w stopniu 7 (silne), a zabarwienie koleoptyla wynosi 9 (bardzo silne) w skali 9-stopniowej.

Obliczenia statystyczne wykonano w pakiecie SAS metodą analizy wariancji dla zabarwienia ziarna pod wpływem fenolu i zabarwienia koleoptyla dla każdej z odmian, gdzie lata traktowano jako badany czynnik, a miejscowości jako powtórzenia (bloki). Dla porównania z wzorcem wyznaczono przedziały ufności dla wartości średniej z uwzględnieniem wariancji błędu z analizy wariancji nieobciążonej wpływem badanych czynników.

WYNIKI

Zabarwienie ziarna pod wpływem fenolu u odmiany Bogo zgodnie z opisem w COBORU powinno wynosić 7 (silne). W ciągu 3 lat badań stwierdzono istotne zróżnicowanie wyników ($F_{emp} = 15,3^{**}$). Wystąpiły różnice w zabarwieniu ziarna z poszczególnych lat zbioru (rys. 1). Ciemniejsze zabarwienie obserwowano zwłaszcza w ziarnie zebranym w II roku badań (tab. 1). Porównanie przedziału ufności dla wartości średniej (od 6,9 do 8,1) z wzorcem wykazało, że badany materiał odmiany Bogo nie różnił się od wzorca. Analogiczna sytuacja wystąpiła w I i III roku, gdyż wartość wzorca mieściła się w przedziale ufności. W przeprowadzonych badaniach stwierdzono, że odmiana Bogo

nie wykazywała istotnych różnic pomiędzy kontrolą i reprodukcją (tab. 2). Średnia wartość analizowanej cechy dla kontroli i reprodukcji była jednakowa i wynosiła 7,5, pomimo że w niektórych miejscowościach były widoczne różnice pomiędzy kombinacjami (rys. 1).

Tabela 1

Zabarwienie ziarna pod wpływem fenolu badanych odmian i ich wzorce
Phenol reaction of kernels of investigated varieties and their standards

Odmiana Variety	Rok Year	Średnia Mean	Przedział ufności dla średniej Confidence interval for mean		Wzorzec Standard
			od — from	do — to	
Bogo		7,5	6,9	8,1	7
	I	6,8	5,9	7,5	
	II	8,4	7,6	9,2	
	III	7,4	6,6	8,2	
Presto		2,6	1,4	3,7	1 lub/or 3
	I	3,3	1,8	4,8	
	II	2,7	1,2	4,2	
	III	1,8	0,2	3,3	

W odmianie Presto zabarwienie ziarna pod wpływem fenolu zgodnie z wzorcem powinno wynosić 1 lub 3, czyli brak zabarwienia lub bardzo słabe do słabego. Uzyskane wyniki tej odmiany wskazały wysoce istotny wpływ roku zbioru ($F_{\text{emp.}} = 7,23^{**}$). Jednocześnie nie obserwowano różnicy intensywności zabarwienia w reakcji fenolazowej pomiędzy kontrolą i reprodukcją (tab. 2).

Tabela 2

Reakcja fenolazowa i zabarwienie koleoptyla kontroli i reprodukcji odmian Bogo i Presto (średnie z 3 lat)
The phenol test and coleoptyle colour of control and reproduction of varieties Bogo and Presto (means for 3 years)

Badana cecha Investigated character	Stopień reprodukcji Degree of reproduction	Odmiana Variety	
		Bogo	Presto
Reakcja fenolazowa Phenol reaction	kontrola — control reprodukcja — reproduction	7,5 7,5	2,3 2,8
NIR — LSD		n.s.	n.s.
Zabarwienie koleoptyla Colour of the coleoptile	kontrola — control reprodukcja — reproduction	3,4 3,6	3,4 3,4
NIR — LSD		n.s.	n.s.

n.s. — Nieistotne
n.s. — Not significant

Analiza statystyczna wykazała, że najmniejsza istotna różnica według testu HSD wynosiła 0,7; wartość średnia dla reprodukcji 2,8, a dla kontroli 2,3. Za pomocą testu fenolowego w materiale z Olsztyna w I roku badań wykryto domieszkę innej odmiany (rys. 2). Domieszka uwidoczniła się na poletkach w następnym roku podczas wegetacji. W II roku było bardzo słabe zabarwienie ziarniaków pochodzących z kontroli w Olsztynie. Natomiast w III roku w każdej miejscowości wystąpiły różnice pomiędzy kontrolą i reprodukcją.

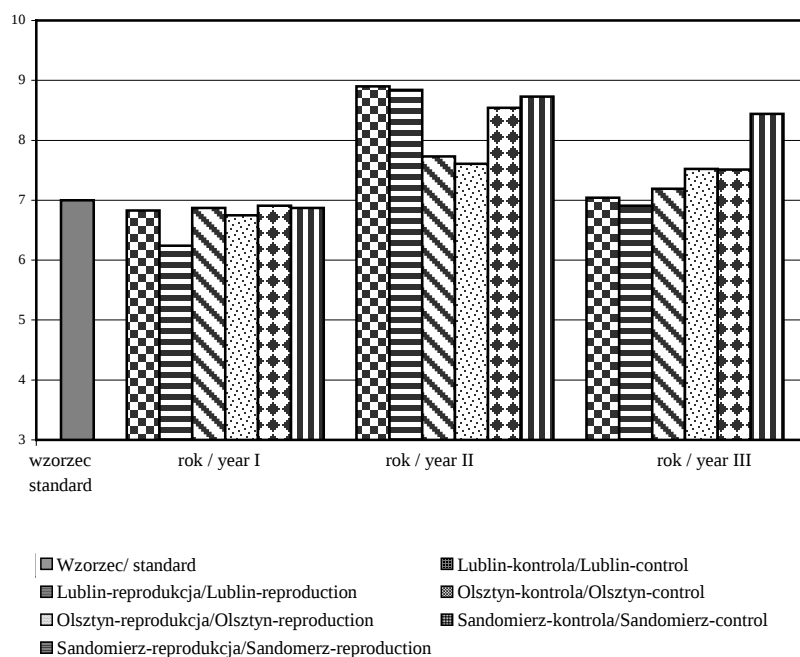
Porównano przedziały ufności dla wartości średniej z wzorcami odmiany i stwierdzono, że w III roku Presto nie różniło się od wartości 1, a w pozostałych latach od wartości 3 (tab. 1). Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że badany materiał nie różnił się wzorców, gdyż według COBORU u Presto są dwie wartości wzorca (1 i 3).

Tabela 3

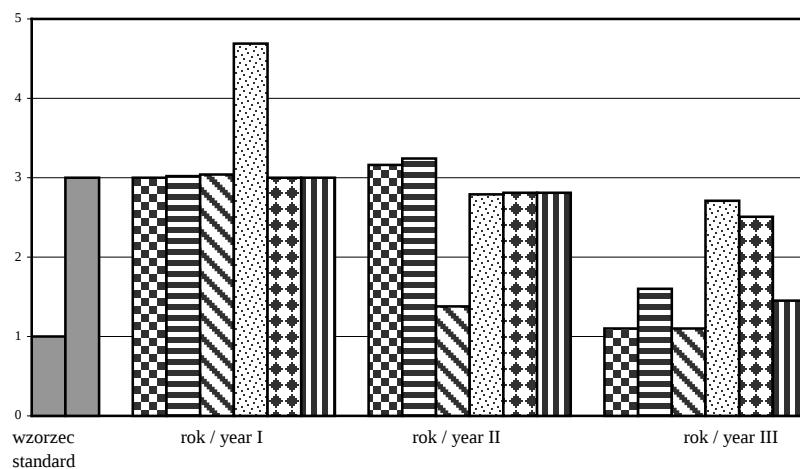
Zabarwienie pochewki liściowej badanych odmian i ich wzorce Colour of coleoptile of investigated varieties and their standard					
Odmiana Variety	Rok Year	Średnia Mean	Przedział ufności dla średniej Confidence interval for mean		Wzorzec Standard
			od — from	do — to	
Bogo		3,4	1,8	5,0	5
	I	2,7	0,6	4,8	sporadycznie — occasionally 1
	II	4,3	2,2	6,4	
	III	3,2	1,1	5,3	
Presto		3,5	2,6	4,4	5
	I	2,6	1,3	3,8	
	II	4,8	3,5	6,0	
	III	3,2	1,9	4,4	

Zabarwienie antocyjanem pochewki liściowej u odmiany Bogo różniło się istotnie w zależności od roku zbioru ($F_{\text{emp}} = 5,89^*$). W materiale zebranym w I i III roku zabarwienie koleoptyla było nieco słabsze niż wzorzec (rys. 3). Jednak porównanie z wzorcem przedziału ufności dla wartości średniej, która wynosiła 3,4 wykazało, że odmiana nie różni się od wzorca (tab. 3). Według COBORU wzorzec tej odmiany ma wartość 5, sporadycznie 1. W I roku przedział ufności dla średniej wynosił od 0,6 do 4,8, dlatego jako wzorzec należy przyjąć wartość 1, czyli przypadek sporadyczny. Analiza wariancji nie wykazała istotnych różnic tej cechy pomiędzy kontrolą i reprodukcją (tab. 2), chociaż w II i III roku obserwowano różnice w niektórych miejscowościach (rys. 3).

W badanym materiale odmiany Presto pochewki liściowe miały słabsze zabarwienie antocyjanem niż wzorzec (rys. 4). Pomimo, że w każdym roku obserwowano nieznaczne różnice pomiędzy kontrolą i reprodukcją w poszczególnych miejscowościach (rys. 4), to średnia dla każdej kombinacji wyniosła 3,4 (tab. 2). Analiza statystyczna wykazała istotne zróżnicowanie tylko pomiędzy latami zbioru ($F_{\text{emp}} = 18,4^{**}$). Średnia wartość badanej cechy u Presto wynosiła 3,5, natomiast przedział ufności dla średniej od 2,6 do 4,4 (tab. 3). Wartość wzorca nie mieściła się w przedziale ufności, gdyż badany materiał miał słabsze zabarwienie niż wzorzec. Podobna zależność wystąpiła w I i III roku badań. Na wynik w I roku mogła mieć wpływ domieszka innej odmiany.

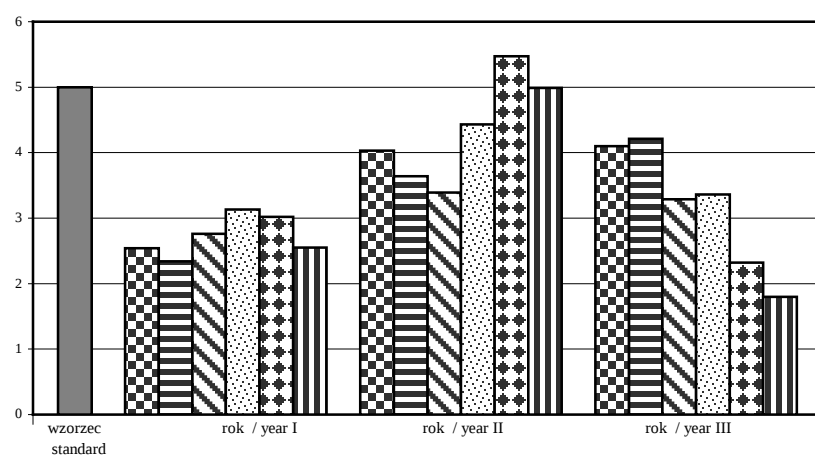


Rys. 1. Zabarwienie pod wpływem fenolu ziarna odmiany Bogo
Fig. 1. Phenol coloration of kernels variety Bogo



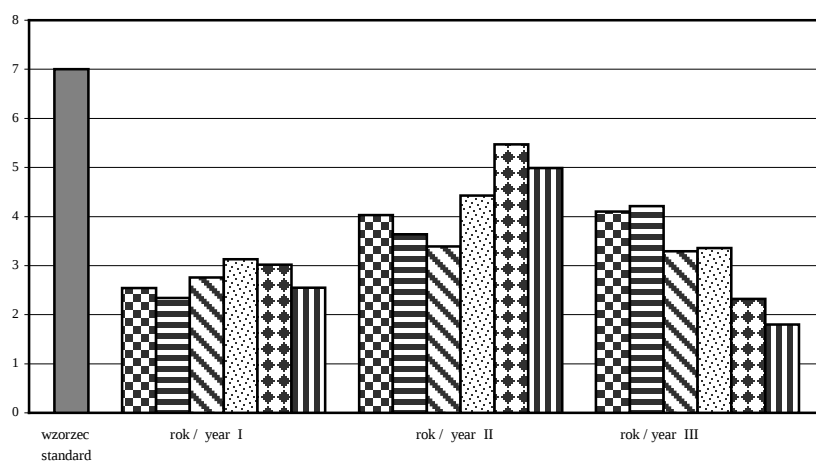
Legenda jak rys. 1
 Legend as for the fig. 1

Rys. 2. Zabarwienie pod wpływem fenolu ziarna odmiany Presto
Fig. 2. Phenol coloration of kernels variety Presto



Legenda jak w rys. 1
Legend as for the fig. 1

Rys. 3. Zabbarwienie pochewki liściowej w odmianie Bogo
Fig. 3. Coleoptile coloration of variety Bogo



Legenda jak w rys. 1
Legend as for the fig. 1

Rys. 4. Zabbarwienie pochewki liściowej w odmianie Presto
Fig. 4. Coleoptile coloration of variety Presto

DYSKUSJA

Zaobserwowano zróżnicowanie wyników pod względem ocenianych cech. Powodem rozbieżności wyników może być między innymi zbyt szeroka skala oceny od 1 do 9. Payne i Koszykowski (1983) przeprowadzili szereg doświadczeń w celu oceny czynników wpływających na wynik testu fenolowego. Autorzy proponowali tylko 2 lub 3 kategorie kolorystyczne. Jednak w przepisach dotyczących badania OWT zbóż jest 5 kategorii dla obu cech. Stężenie roztworu fenolu nie wpływa na wynik, gdyż reakcję barwną ziarniaka powodują pary z roztworu (Csala, 1972). Według AOSA (1988) za wytworzenie brązowego barwnika u pszenicy podczas testu fenolowego jest odpowiedzialny enzym oksydaza fenolowa. Banerjee i Chandra (1977) stwierdzili, że reakcja ta jest pod kontrolą tyrozinazy, która znajduje się w okrywie nasiennej.

Zabarwienie ziarna pod wpływem fenolu może być cechą różnicującą odmiany i służyć szybkiemu ich odróżnieniu. Istnieją linie żyta (Waszak, inf. ustna), które różnią się od siebie tylko tą cechą i dlatego traktuje się je jako odrębne. Odmiany i rody pszenżyta badane w latach osiemdziesiątych przez Trzcíńskiego (1987) wykazywały małą jednolitość pod względem zabarwienia w roztworze fenolu i zabarwienia koleoptyla. Ponadto autor stwierdził, że niektóre rody pszenżyta miały zróżnicowany kolor koleoptyla, tzn. w każdej próbie występowały zarówno zielone jak i fioletowe pochewki liściowe, pomimo, że w teście fenolowym rody były jednolite. Zgodnie z opisem odmiany zabarwienie koleoptyla u odmiany Bogo powinno wynosić 5 (średnie), sporadycznie 1 (brak lub bardzo słabe). Wyniki uzyskane w I roku zbioru były zbliżone do wartości 1, czyli przypadku, który występuje sporadycznie u tej odmiany. Ziarniaki ze wszystkich miejscowości uzyskały w teście fenolowym wartości zbliżone do 1, czyli można przypuszczać, że warunki dojrzewania w roku 1998 spowodowały brak zabarwienia. Jest to zgodne z opinią Trzcíńskiego (1987), który twierdził, że na reakcję fenolazową ziarna mogą wpływać czynniki środowiska podczas formowania i dojrzewania nasion. W roku następnym wyniki były zbliżone do wartości 5, natomiast w III roku były poniżej 5. W każdym roku badań wynik kontroli był inny, co wskazuje, że na wartość cechy miały wpływ warunki pogodowe w danym roku, a nie kolejne rozmnożenie czyli reprodukcja (rys. 3).

Zgodnie z metodyką COBORU (1996) podczas oceny wizualnej analizowanych cech dopuszczalny błąd może wynosić 6%. Różnice pomiędzy uzyskanymi wynikami, a wzorcem mogły wynikać z subiektywnej oceny każdej z osób oceniających, gdyż inna osoba oceniała wzorzec, a inna doświadczenie (podczas 3 lat badań doświadczenie oceniała ta sama osoba).

W literaturze można spotkać doniesienia o próbach identyfikacji pszenicy za pomocą komputerowej analizy obrazu kształtu ziarniaków (Fornal i Kubiak, 1995) lub zabarwienia okrywy owocowo-nasiennej (Neumann i in., 1989). Jednak według Van der Burga i Van Zwola (1991) pszenica jest najczęstszym gatunkiem ocenianym przy użyciu testu fenolowego. Niemyski i Grzelak (1978) badali reakcję fenolazową i zabarwienie antocyjanowe koleoptyla w laboratoryjnej ocenie tożsamości nasion pszenicy ozimej. Autorzy za pomocą testu fenolowego ocenili 14 odmian pszenicy ozimej, a także użyteczność tej metody do wykrywania zamieszkań innymi odmianami. Zabarwienie

pochewek liściowych badanych pszenic zależało od intensywności oświetlenia podczas doświadczenia. Według metodyki OWT (1996) natężenie oświetlenia musi wynosić od 12000 do 15000 luxów w okresie 3–4 dni, gdy koleoptyl ma długość około 1 cm. Trzciniński (1987) badał także nasiona pszenicy i stwierdził dużą powtarzalność cechy i zgodność wyników dla zabarwienia pochewki liściowej u pszenicy i małą zgodność dla pszenżyta. Badane przez autora rody pszenżyta z 2 lat zbioru charakteryzowały się bardzo dużą zmiennością pod względem tej cechy. Prezentowane obecnie wyniki z 3 lat zbioru, szczególnie u odmiany Presto potwierdziły, że zabarwienie koleoptyla jest cechą, która może być zmienna w zależności od roku zbioru. Być może w opisie odmiany pszenżyta zabarwienie pochewki liściowej powinno być opisywane we wzorcu nie jedną liczbą, ale przedziałem „od do” lub tak jak u Bogo (5 sporadycznie 1), gdyż mogą wystąpić przypadki sporadyczne, co potwierdzono w niniejszych badaniach. W przyszłości do tego typu badań można włączyć metody pozwalające obiektywizować pomiar barwy np: metody spektrofotometryczne lub cyfrowej analizy obrazu.

POSUMOWANIE

Na podstawie trzyletnich badań 2 odmian pszenżyta ozimego można stwierdzić brak wpływu reprodukcji na analizowane cechy, a jedynie wpływ roku zbioru, czyli wpływ warunków meteorologicznych w trakcie wegetacji. Obie odmiany nie różniły się od swoich wzorców pod względem zabarwienia ziarna w roztworze fenolu. Odmiana Bogo nie różniła się od wzorca zabarwieniem antocyjanem pochewki liściowej, natomiast u Presto wystąpiło słabsze zabarwienie niż u wzorca podczas 2 lat badań.

LITERATURA

- Association of Official Seed Analysts. 1988. Rules for Testing Seeds (1990 revision). J. Seed Techn.: 1 — 126.
- COBORU 1996. Metodyka badania odrębności, wyrównania i trwałości (OWT) — pszenżyto (*X Triticosecale* Wittmack). COBORU, Słupia Wielka.
- Banerjee S. K., Chandra S. 1977. Modified phenol test for varietal identification of wheat seed. Seed Sci. & Technol. 5: 53 — 60.
- Csala M. V. 1972. The methodology and mechanism of the phenol reaction in cereals. Proc. Int. Seed Test. Ass. 37 (197) 3: 915 — 921.
- Fornal Ł., Kubiak A. 1995. Wykorzystanie komputerowej analizy obrazu do pomiaru cech geometrycznych i oceny wyrównania ziarna pszenicy. Prz. Zboż. Młyn. 39, 6: 22 — 25.
- Handbook of variety testing — rapid chemical identification techniques. 1993. ISTA, Zurich.
- Majumdar S., Jayas D. S. 2000. Classification of cereal grains using machine vision. II. Color models. Transactions of the ASAE 43 (6): 1677 — 1680.
- Międzynarodowe Przepisy Oceny Nasion — wersja polska 2004. Opracowanie IHAR ZNiN. Radzików.
- Neumann M. R., Sapirstein H. D., Schweddyk E., Bushuk W. 1989. Wheat grain colour analysis by digital image processing. II. Wheat class discrimination. J. Cereal. Sci. 3: 183 — 186.
- Niemyski K., Grzelak K. 1978. Reakcja fenolazowa, zabarwienie antocyjanowe koleoptyla, owłosienie pierwszego liścia jako cechy diagnostyczne w laboratoryjnej ocenie tożsamości nasion pszenicy ozimej. Biul. IHAR 133: 167 — 178.
- Payne R. C., Koszykowski T. J. 1983. An evaluation of the wheat seed phenol test. AOSA Newsletter, 50 (1): 54 — 60.

- Trzeciński T. 1987. Zastosowanie testu fenolowego oraz wskaźnika zabarwienia antocyjanowego pochwki liściowej do odróżniania odmian i rodów pszenicy (*Triticum aestivum* L.) i pszenżyta (*X Triticosecale* Wittm.). Biul. IHAR 163: 75 — 82.
- Van der Burg, W. J. Van Zwol, R. A. (1991). Rapid identification techniques used in laboratories of the International Seed Testing Association: a survey. Seed Sci. & Technol. 19: 687 — 700
- Wiwart M., Korona A. 1998. Application of colour image analysis of kernels in evaluation of the infection of triticale grown in different cultivation systems. Plant Breeding & Seed Science 42 (1):69 — 79.

PODZIĘKOWANIE

Składam podziękowanie Panu prof dr. hab. Szymonowi Dziambie, Panu dr. Jackowi Kwiatkowskiemu i Panu dr. Krzysztofowi Klimontowi za prowadzenie doświadczeń polowych (w ramach grantu nr 5 O6B 049 15 finansowanego przez KBN), których materiał badawczy został użyty w niniejszej pracy.