

ANALYSIS OF APEX ORGANOGENESIS IN SELECTED *T. AESTIVUM* GENOTYPES WITH DIFFERENT SPIKE MORPHOTYPE

ANALÝZA ORGANOGENEZE VZROSTNÉHO VRCHOLU U *T. AESTIVUM* VYBRANÝCH GENOTYPŮ S ROZDÍLNÝM MORFOTYPEM KLASU

Ullmannová K.¹⁾, Bednář J.¹⁾, Martinek P.²⁾

¹⁾Ústav biologie rostlin, AF MZLU v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika,

²⁾ZVÚ Kroměříž, s.r.o., Havlíčkova 2787, 767 01 Kroměříž, Česká republika.

E-mail: xullman0@node.mendelu.cz, bednar@node.mendelu.cz, martinek@vukrom.cz

ABSTRACT

Our objective was to evaluate the differences in apex formation between two wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes that differ in spike morphotype. The check cv. Sulamit with normal spike structure (NS) and the line KM 823-4-01 with multirow spike (MRS) were studied in two growing seasons. MRS is characteristic of supernumerary spikelets (SS) that arise in groups from individual nodes of spike rachis in vertical and, at the same time, in horizontal position. The spikelets are sessile and mostly with no indication of spike branching. The highest number of spikelets can develop in clusters in a lower third of the spike. In the central and upper parts, there are usually three or more spikelets. In the terminal part of the spike, double or single spikelets develop similarly to the standard spike. The line KM 823-4-01 was developed by hybridisation of standard wheat (NS) with a spike branching source, Ra-1 (provided from VIR Sankt Petersburg) at the Agricultural Research Institute Kroměříž, Ltd. The morphotypes without any indications of spike branching were found in hybrid populations and designated MRS. These were used for crosses with common cultivars. The increased spikelet number enables MRS to produce a higher number of grains per spike, and thus higher spike productivity. Apices were gradually taken for analyses. The first differences in the development of the apex between NS and MRS genotypes were observed at the beginning of the V stage of microphenological development according to Kuperman (1974). Since this stage, apparent formation of bases of secondary spikelets was found in the MRS morphotype.

Keywords: *Triticum aestivum*, spike morphotype, apex, MRS

ABSTRAKT

Cílem práce bylo detailně zhodnotit rozdíly v utváření vegetačního vrcholu mezi dvěma genotypy pšenice (*Triticum aestivum* L.) lišícími se morfotypem klasu. Hodnocení bylo provedeno ve dvou vegetačních obdobích u kontrolní odrůdy Sulamit s normální strukturou klasu (NS) a linie KM 823-4-01 s mnohořadým klasem (multirow spike - MRS). MRS se vyznačuje nadpočetnými klásky (supernumerary spikelets - SS), které vyrůstají ve skupinách z jednotlivých nodů klasového vřetene ve vertikální a současně i v horizontální pozici. Klásky

vyrůstají přisedle většinou bez náznaku větvení klasu. Nejvyšší počet klásků se může vytvářet ve shlicích v dolní třetině klasu. Ve střední i v horní části vyrůstají obvykle tři nebo více klásků. Ve vrcholové části klasu vyrůstají dvojklásky nebo jednotlivé klásky jako u běžného klasu. Linie KM 823-4-01 byla vyšlechtěna v Zemědělském výzkumném ústavu Kroměříž, s.r.o. křížením standardní pšenice s NS se zdrojem větvenatosti klasu Ra1 (získán z VIR Sankt Petersburg). V potomstvech křížení byly nalezeny morfotypy bez náznaku větvení klasu, které byly označeny MRS. Ty byly dál šlechtitelsky využity ke křížení s běžnými odrůdami. Zvýšený počet klásků MRS umožňuje dosahovat vyššího počtu zrn klasu a tím i vyšší produktivity klasu Pro analýzy byly prováděny postupné odběry vegetačních vrcholů. První rozdíly v utváření vzrostného vrcholu mezi genotypy NS a MRS byly pozorovány na počátku V. etapy mikrofenologického vývoje pšenice dle Kupermanové (1974). Od této etapy byla pozorována u morfotypu MRS zřetelná tvorba základů sekundárních klásků

Klíčová slova: *Triticum aestivum*, morfotyp klasu, vzrostný vrchol, MRS.

ÚVOD

Z morfologického hlediska lze rozlišovat klas standardní a nestandardní. Určitou systematickou klasifikaci podloženou genetickými studii se pokusili vytvořit Pennell a Halloran (1983), Smoček (1987) a Huang a Yen (1988). Smočkovu klasifikaci modifikoval a obohatil o nové klasifikační skupiny Martinek (1993), který zpracoval klasifikační systém morfotypů klasu u *T.aestivum* do skupin podle uspořádání klásků na klasovém vřetenu s ohledem na rozdíly ve způsobu genetického založení hodnocených vlastností. Téměř veškeré šlechtitelské úsilí bylo a je soustředěno pouze na využití *T. aestivum* se standardním klasem. Zvyšování produktivity klasu vyžaduje nalezení a využití vhodných výchozích zdrojů s geneticky podmíněným zvětšeným počtem klásků, kvítků a zrn v klasu. Jejich tvorbou a studiem se u pšenice zabývala řada autorů (Millet (1983), Foltýn (1984), Pennell a Halloran (1984), Huang a Yen (1988), Denčić, Borojević (1992), Martinek, Nesvadba (1994). Zvyšování úložné kapacity klasu je jedním z limitujících faktorů ovlivňujících tvorbu zrna. Cílem práce bylo detailně zhodnotit rozdíly v utváření vegetačního vrcholu mezi dvěma genotypy pšenice (*Triticum aestivum*) lišícími se morfotypem klasu. Práce je zaměřena na mikroorganogenezi vzrostného vrcholu nestandardního morfotypu klasů – multirow spike (MRS). Daný morfotyp se vyznačuje mnohokláskovostí (z jednotlivých nodů klasového vřetene vyrůstá větší počet klásků), která může vést k potencionálnímu zvýšení produktivity klasu. Právě proto je třeba se dané problematice více věnovat.

MATERIÁL A METODIKA

Materiál

Hodnocení rozdílů mikroorganogeneze vzrostého vrcholu bylo provedeno u dvou morfotypů: NS – standardní morfotyp *T. aestivum*, MRS – mnohořadý klas *T. aestivum*



Rostlinný materiál NS (normal spike)

Normální (standardní) struktura klasu (NS) je charakteristická tím, že z jednotlivých nodů klasového větene vyrůstá jen jeden klásek. Takovéto uspořádání klasů má převážná většina současně pěstovaných odrůd pšenice (obr. 1). Standardní morfotyp byl zastoupen hexaploidní *T. aestivum* odrůda SULAMIT. Vznikla z křížení odrůd Hana x Zdar x Alidos, registrace odrůdy v roce 2000.

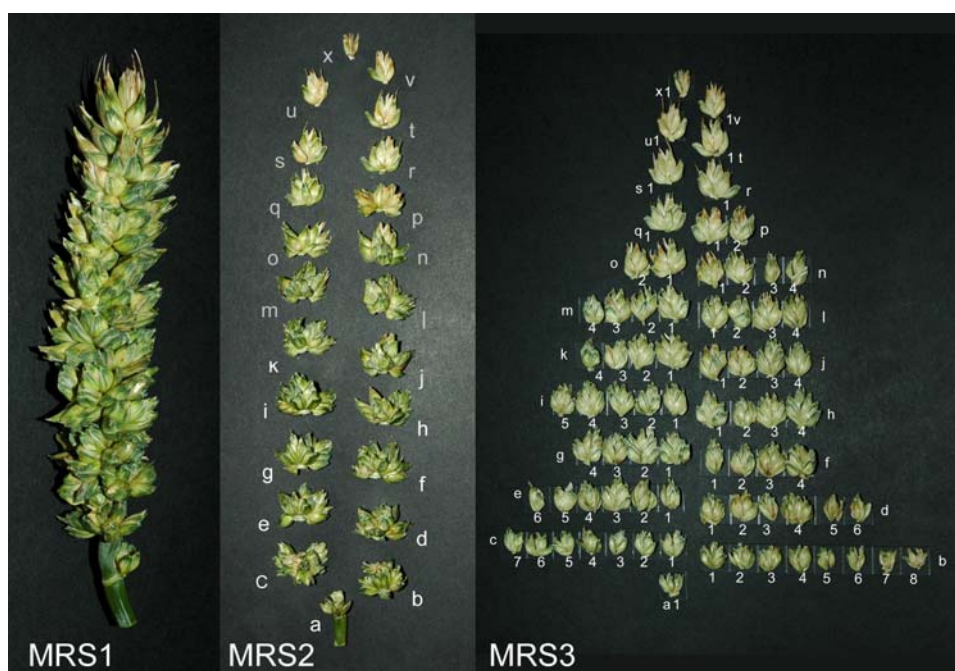
Rostlinný materiál MRS (multirow spike)

Morfotyp MRS se vyznačuje nadpočetnými klásky (supernumerary spikelets - SS), které vyrůstají ve

Obr. 1 Morfotyp NS a MRS

skupinách z jednotlivých nodů klasového větene ve vertikální a současně i v horizontální pozici. Klásky vyrůstají přisedle většinou bez náznaku větvení klasu. Nejvyšší počet klásků se vyskytuje na bázi klasového větene ve shlucích (5 – 8) a směrem k apikální části klasového větene jejich počet klesá (obr. 1, 2). Zdrojem recesivně podmíněné mnohokláskovosti u mnohořadého klasu je hexaploidní *Triticum aestivum* RA1 získaný z VIR Sankt-Peterburg. Linie KM 823-4-01 byla vyšlechtěna v Zemědělském výzkumném ústavu Kroměříž, s.r.o..

Obr. 2 Analýza klasu MRS. MRS1) mnohořadý klas nacházející se dle Feekesovy makrofenologické stupnice ve fázi 11.2, MRS2) vypreparovaný klas, a – x = jednotlivé shluky klásků na nodu, MRS3) každý shluk klásku na nodu je dále rozdělen na jednotlivé klásky označené čísly



METODIKA

Osivo linie mnohořadého klasu KM 823-4-01 ozimé formy bylo vyseto v ZVÚ Kroměříž. Na počátku jarní vegetace byly odebrány reprezentativní rostliny i s půdovú a umístěny do vegetačních nádob, které byly přepraveny do vegetační klece v areálu MZLU v Brně. Od 4. fáze makrofenologického vývoje dle Feekese (cit. Zimolka et al., 2005) byl prováděn v pětidenních intervalech odběr rostlin k rozboru. Odebírány byly celé rostliny s následným výběrem hlavního stébla určeného k analýze. Z báze stébla byl extirpován pod binokulární lupou vyvíjející se vzrostný vrchol v různém stupni mikrofenologického vývoje. Poté byla prováděna fotodokumentace digitálním mikrofotografickým přístrojem Olympus (4,1 megapixelů, F 1,8), za použití preparační lupy Olympus SZH 10 a objektivu Olympus PLANAPO IX. Mikrofotografie byly uchovány na datovém mediu k dalšímu zpracování v programu Adobe Photoshop 7.0 CE a použity k popisu jednotlivých vývojových stádií a pozorování rozdílů mezi sledovanými morfotypy MRS a NS.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Popis a fotodokumentace jednotlivých stádií vývoje vzrostného vrcholu a analýza rozdílů utváření struktur vzrostného vrcholu byla provedena u dvou morfotypů: NS – klasický morfotyp *T. aestivum*, MRS – multirow spike – mnohořadý klas *T. aestivum*. Analýza vzrostných vrcholů byla prováděna ve dvou vegetačních obdobích od 4. do 10. fáze makrofenologického vývoje dle Feekese. V pětidenních intervalech bylo provedeno celkem 13 studií (pozorování).

Pozorování č. 1

Vzrostný vrchol obou morfotypů *T. aestivum* se nachází na počátku III. etapy organogeneze dle Kupermanové. V tomto stádiu vývoje se na vzrostném vrcholu nachází listové základy, jež prstencovitě objímají vzrostný vrchol. Tvoří se tedy větší počet listových základů. V tomto stádiu vývoje nebyly patrné rozdíly v utváření vzrostného vrcholu u obou morfotypů MRS a NS.

Pozorování č. 2

Vzrostný vrchol morfotypu klasu MRS i standardní morfotyp NS se nachází na konci III. etapy organogeneze dle Kupermanové. V literatuře se tato etapa označuje termínem double ridges – dvojité hrbolky. Tento stupeň vývoje je spojen s vysokou růstovou aktivitou. Listová primordia se nemohou rychlým růstem diferencovat. Pletivo mezi těmito nediferencovanými primordii roste a stane se kláskovými primordii. Fáze double ridges se dělí na tři podetapy: 1) listová primordia jsou větší než primordia klásková, 2) primordia listová a klásková jsou stejně velká, 3) vývoj listových primordií je potlačen ve prospěch kláskových primordií (Nátrová, Jokeš, 1992). Tato etapa organogeneze je hospodářsky důležitá, neboť se formuje

délka budoucího klasu. V tomto stádiu vývoje klasu nebyly pozorovány morfologické rozdíly mezi genotypem MRS a NS.

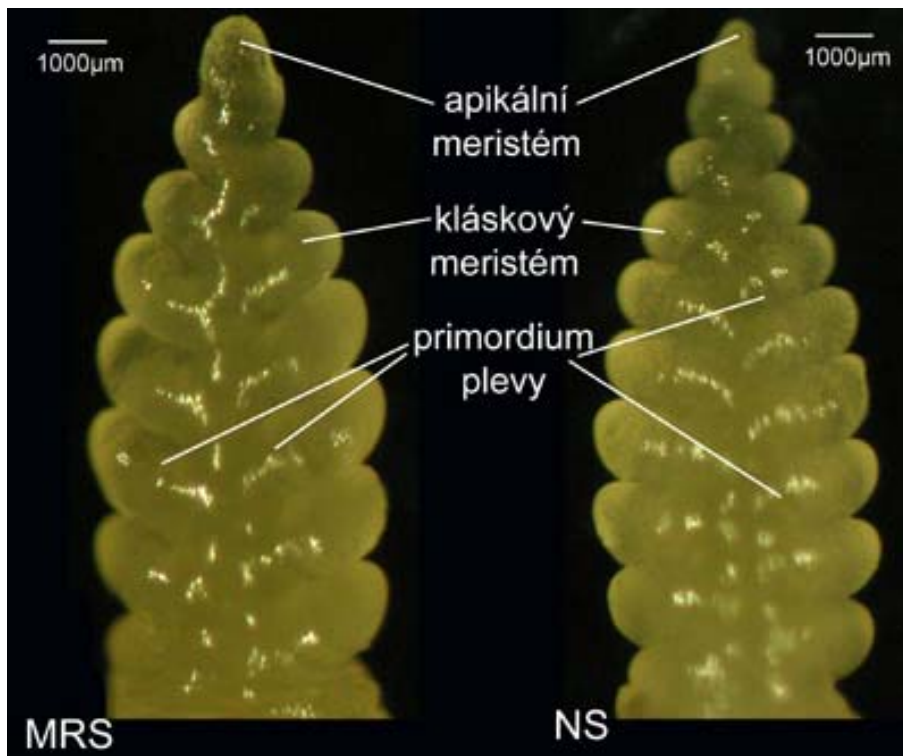
Pozorování č. 3

Na vzrostném vrcholu jsou patrné základy klásků, stádium odpovídá IV. etapě organogeneze klasů dle Kupermanové. Klásky jsou nediferencované. Vzrostný vrchol se zplošťuje a poznáváme v něm tvar budoucího klasu. Toto stádium není morfologicky rozdílné v utváření vzrostného vrcholu u námi sledovaných genotypů MRS a NS.

Pozorování č. 4

Dané utváření klasu odpovídá V. a etapě dle Kupermanové. Kláskové meristémy se postupně diferencují do rozmanitých struktur. První diferenciací nastává ve vytvoření rýhy u báze jednotlivých klásků, což je základ budoucí plevy. V této fázi organogeneze nebyly pozorovány rozdíly v utváření klasu mezi morfotypy MRS a NS (obr. 3).

Obr. 3 Mikrofotografie vzrostných vrcholů (pozorování č. 4). MRS) mnohořadý klas, NS) standardní klas



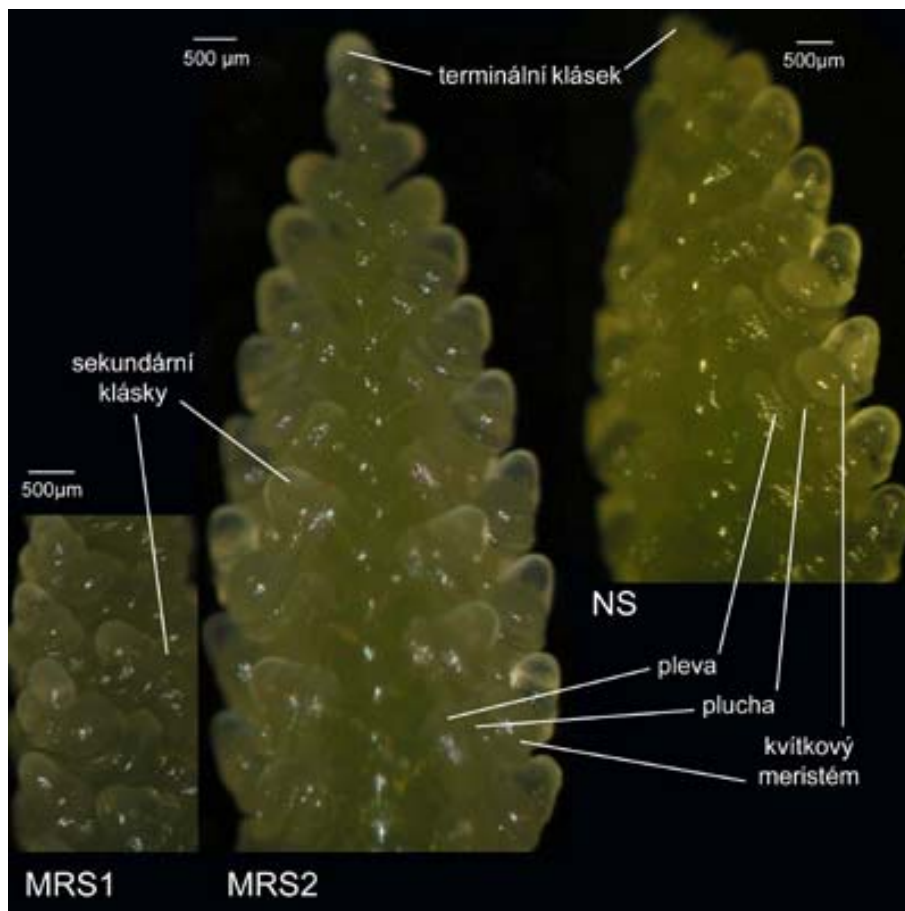
Pozorování č. 5

Vývoj klásku odpovídá počátku V.b etapě dle Kupermanové. Jsou zřetelně vidět základy plev a pluch a počínající diferenciaci kvítkových meristémů. Tato etapa organogeneze neproказuje rozdíly v utváření klasového větve mezi morfotypy MRS a NS.

Pozorování č. 6

V.b etapa organogeneze vzrostného vrcholu klasů dle Kupermanové. Vzrostný vrchol je diferencován na viditelné plevy, pluchy a základy květů. Utváření kvítků v kláscích probíhá v akropetálním směru (postupující od báze k vrcholu). V tomto stádiu vývoje klasu byly s určitostí pozorovány rozdíly u morfotypů MRS a NS. U morfotypu MRS byl pozorován nestandardní vývoj sekundárních klásků, jejich poloha byla v centripetálním (do středu směřujícím) směru k primárním kláskům. Sekundární klásky se nacházely spíše v bazální části vzrostného vrcholu ve stádiu diferencovaných základů plev a pluch.

Obr. 4. Mikrofotografie vzrostných vrcholů (pozorování č. 6). MRS1) Ukazuje laterální pohled na vzrostný vrchol, kde jsou zřetelně rozpoznatelné primární klásky a dva klásky sekundární v centripetálním směru. MRS2) Znáročňuje umístění primárních klásků v marginální (okrajové) oblasti a k nim v centripetálním směru čtyři klásky sekundární. NS) je zde vidět laterální pohled na klasické utváření klasu.



Pozorování č. 7

Utváření klasu morfotypu NS a primárních klásků morfotypu MRS odpovídá V.b etapě dle Kupermanové. Diferenciace kláskového meristému na polokulovité útvary – základy kvítku. U sekundárních klásků (MRS) se formují obalové vrstvy – pleva, plucha. Sekundární klásky se nacházejí v centripetálním směru ke kláskům primárním v bazální a centrální části klasu.

Pozorování č. 8

Stupeň organogeneze odpovídá V.c etapě dle Kupermanové u obou pozorovaných morfotypů. Klasický morfotyp klasů – NS a primární klásky morfotypu MRS se dále diferencují. V kvítcích se objevují tři polokulovité útvary, jež dají základ tyčinkám květu. Dále rostou květní obaly. U sekundárních klásků se utvářejí polokulovité útvary v akropetálním směru (u jednotlivých klásků), jež představují základy kvítku. Sekundární klásky v bazální části klasového větene jsou nejvíce vyvinuté.

Pozorování č. 9

Při porovnání stádia vývoje klasu sledovaného NS morfotypu a primárních klásků morfotypu MRS se stupnicí Kupermanové lze přiřadit tomuto stupni V.c. etapu mikrofenologického vývoje. Další diferenciaci kvítku charakterizuje objevení se polokulovitěho valu – základu budoucího pestíku centrálně mezi třemi základy tyčinek. Na terminálním klásku jsou viditelné kulovité základy kvítku.

Pozorování č. 10

V bazální a centrální části na klasovém větenu mnohořadého klasu se objevuje okolo 14 až 18 sekundárních klásků které, jsou v různém stupni vývoje dle umístění na klasovém větenu a době vzniku. Centrálně umístěné sekundární klásky jsou ve stádiu utváření květních orgánů – tyčinek, pestíku. Obaly u standardního morfotypu klasu i u primárních klásků klasu mnohořadého rostou a postupně překryjí celý diferencující se klásek. Stadium vývoje klasu lze zařadit do VI. etapy organogeneze dle Kupermanové.

Pozorování č. 11

Vývoj klasu obou morfotypů MRS (primární klásky) i NS odpovídá VI. mikrofenologické fázi podle Kupermanové. Dokončuje se vývoj pestíků a prašníků, dále pokračuje tvorba obalových složek klásku a kvítku.

Pozorování č. 12

Dokončuje se formování pohlavních orgánů – prašníků a pestíků. Rostou obalové vrstvy klásku. Toto stádium odpovídá počátku VII. etapy mikrofenologického vývoje klasového větene dle Kupermanové. Sekundární klásky se vývojově dostávají na stejnou úroveň jako klásky primární. V bazální části mnohořadého klasu se nacházejí shluky (7 – 11) primárních a sekundárních klásků.

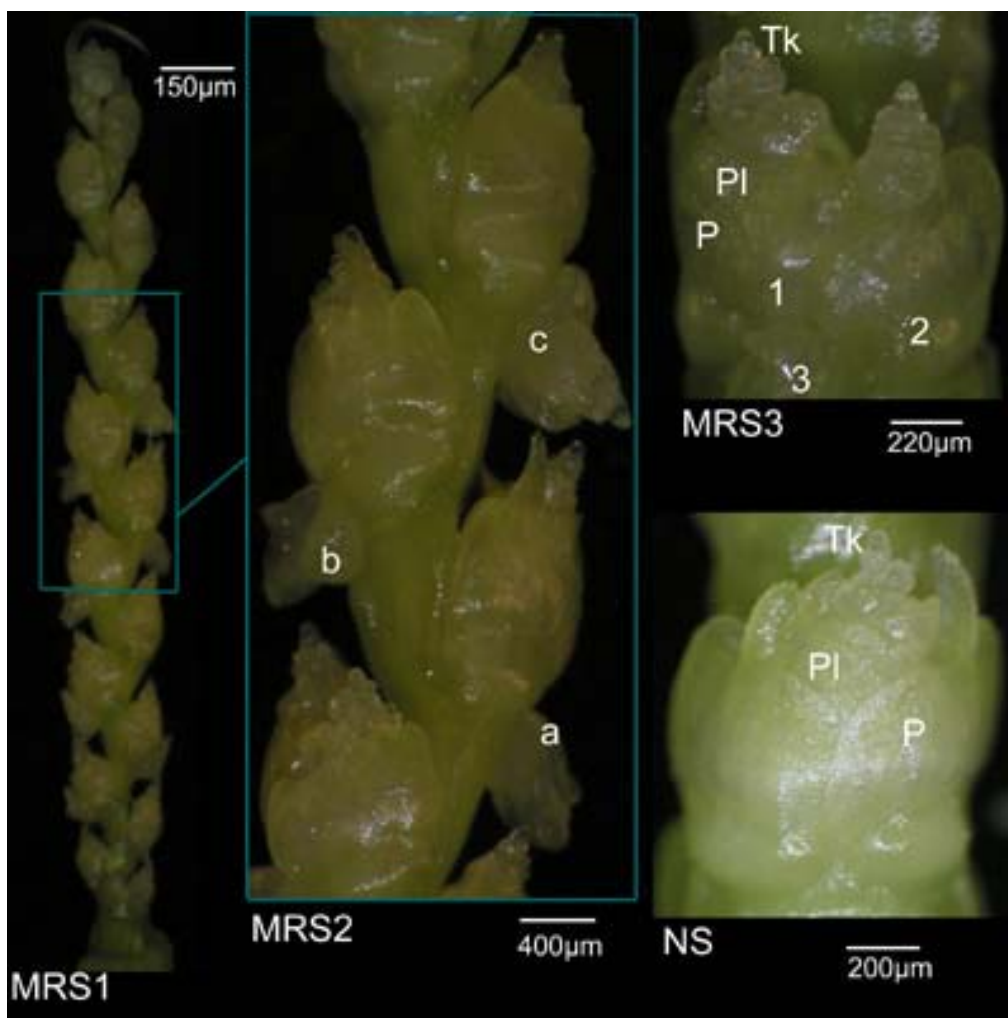
Pozorování č. 13

V tomto stádiu odpovídající VII. etapě dle Kupermanové se dokončují změny na pohlavních orgánech. Rostou květní obaly. Prodlužují se články klasového větene. I tato fáze stále ještě probíhá skryta v pochvě praporcového listu (obr. 5).

ZÁVĚR

Byl studován rozdíl v utváření vegetačního vrcholu pšenice *T. aestivum* s normálním (standardním) morfotypem klasu (NS) a mnohořadným klasem (MRS). Jako experimentální materiál byla použita odrůda Sulamit (morfotyp NS) a linie KM 823-4-01 (morfotyp MRS). První rozdíly v utváření vzrostného vrcholu mezi genotypy NS a MRS byly pozorovány v V.b etapy mikrofenologického vývoje pšenice dle Kupermanové (1974). Od této etapy byla pozorována u morfotypu MRS zřetelná tvorba základů sekundárních klásků. Za významné lze rovněž považovat detekci dvou typů sekundárních klásků. Sekundární klásky standardního přisednutí vedle klásku primárních (svým terminálním kvítkem směřují k apikální části vrcholu klasu) a druhým typem jsou klásky nestandardního přisednutí vedle klasu primárních (svým terminálním kvítkem směřují k bazální části vrcholu klasu nebo mají horizontální orientaci terminálního kvítku klásku).

Obr. 5 Mikrofotografie klasu a detailu klasu MRS a NS (pozorování č. 13) MRS1) Pohled na celý mnohořadý klas – multirow spike. MRS2) Detail části mnohořadého klasu. a,b,c jsou označeny sekundární klásky nestandardní polohy, neboť směřují svými terminálními kvítky k bázi klasu či horizontálně. Další sekundární klásky se nacházejí vždy přisedlé vedle klásku primárního směřující svým terminálním kláskem k apikálnímu vrcholu klasu. MRS3) Detail z centrální třetiny mnohořadého klasu. Na obrázku jsou patry z laterálního pohledu klásky, které se z čelního pohledu překrývají a tvoří dojem jednoho klásku. 1 – primární klásek, 2 – klásek sekundární standardní polohy (terminálním kvítkem směřující k vrcholu klasu), 3 – částečně viditelný sekundární klásek nestandardní polohy (směřující svým terminálním kvítkem k bázi klasu). Tk – terminální kvítek, P – pleva, Pl – plucha. NS) Detail klásku klasového větve standardního morfotypu klasu. Tk – terminální kvítek, P – pleva, Pl – plucha.



LITERATURA

- Martinek P., Bednář, J. (1998): Variabilita morfologické struktury klasu pšenice. *Obilnářské listy*,6(3):47-53.
- Denčić S., Borojević S. (1992): Harvest index and spike index in crosses between wheat genotypes with different spike architecture. *Plant Breeding*,: 151-158.
- Foltýn J., (1984): Uspořádání zrn na jednom článku klasového větene pšenice obecné. *Genetika a Šlechtění*, 20(1): 9-14.
- Huang, G., Yen C. (1988): Studies on the development of multiple spikelet per spike in wheat. *Proc. of the 7th Int. Wheat Genet. Symp. IPSR, Cambridge*,: 527-532.
- Martinek P., (1993): Genové zdroje pšenice s vyšší akumulací kapacitou klasu. Kandidátská disertační práce, Kroměříž,130s.
- Martinek P., Bednář, J. (1998): Variabilita morfologické struktury klasu pšenice. *Obilnářské listy*,6(3):47-53.
- Martinek P., Bednář J., Provazníková E., Kruličková K.(1996): Nový genový mnohokláskový zdroj ozimé pšenice (*Triticum aestivum* L.)s nestandardním uspořádáním klásků v klasu. *Sborník mezinárodní věd. konference, VŠP Nitra*,: 47-53.
- Martinek P., Nesvadba Z. (1994): Potencial use of gene resources with higher spike productivity for breeding winter wheat. *Annual report. Plant Genetic Resources, University of Agriculture in Nitra, Slovak Republic*,: 69-72.
- Millet E., (1983): Breeding for large number of spikelets per spike in wheat. *Proc. 6th Int. Wheat Genet Symp., Kyoto, Japan*,: 623-628.
- Nátrová Z., Jokeš M., (1992): Návrh stupnice s desetinným kódem pro hodnocení vývoje klasu pšenice. *Vysoká škola poľnohospodárska v Nitre*,: 27.
- Pennell A. L., Halloran G. M. (1983): Inheritance of supernumerary spikelet in wheat. *Euphytica*, 32: 763-776.
- Pennell A. L., Halloran G. M. (1984): Influence of time sowing, photoperiod and temperature on supernumerary spikelet expression in wheat (*Triticum*). *Can. J. Bot*, 62: 1678-1692.
- Smoček J., (1987): Fenokopie genů fertility klasu pšenice. *Rostlinná Výroba*, 33(5)b:529-537.
- Zimolka J. et al. (2005): Pšenice pěstování, hodnocení a užití zrna. *Profi Press*,188s.