

Analiza wybranych cech na poziomie fenotypowym i molekularnym u ekotypów *Poa pratensis* (Poaceae) w aspekcie ich przydatności hodowlanej*

MAGDALENA SZENEJKO

SZENEJKO, M. 2013. The analysis of selected traits in *Poa pratensis* (Poaceae) ecotypes at the phenotypic and molecular levels in the aspect of their breeding suitability. *Fragmenta Floristica et Geobotanica Polonica* 20(2): 199–216. Kraków. PL ISSN 1640-629X.

ABSTRACT: The study included 12 Kentucky bluegrass ecotypes from the areas of the Podlasie Province and the Lower Silesia Province and 2 reference cultivars being different in the form of their use ('Limousine' and 'Eska 46'). Using the Tukey's HSD test, statistically significant differences were demonstrated between the Kentucky bluegrass forms being examined referring to: germination capacity of seeds, number and length of vegetative shoot and width of leaf blade. From among 69 RAPD primers, 8 ones were selected and a total of 244 amplification products were obtained, among which a high level of polymorphism (88.9%) and specificity (32) was observed. The Dice genetic similarity matrix determined and the UPGMA dendrogram drawn based on it suggest that the ecotypes being evaluated were genetically similar to a large extent. The lowest degree of genetic relatedness in relation to all examined *Poa pratensis* forms showed the following ecotypes: dos01 468 and pod2 317. The obtained substantial values and stability of phenotypic traits being analysed suggest that these ecotypes can be potentially suitable for the breeding of fodder cultivars.

KEY WORDS: *Poa pratensis*, ecotypes, cultivars, phenotypic traits, RAPD analysis

M. Szenejko, Katedra Ekologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Szczeciński, ul. Wąska 13, 71-415 Szczecin, Polska; e-mail: magdalena.szenejko@univ.szczecin.pl

WSTĘP

Poa pratensis L. (wiechlina łąkowa) jest uważana za apofit (RUTKOWSKI 2002, 2007). Należy do najbardziej rozpowszechnionych gatunków traw łąkowych w polskiej florie, dla którego w ostatnich dziesięcioleciach odnotowuje się znaczny wzrost liczebności i zajmowanie nowych stanowisk, w tym również nieużytków (MIERNICKI 1953; KOZŁOWSKI & GOLIŃSKA 1999; ZARZYCKI i in. 2002; KRYSZAK 2004). Występuje pospolicie na przydrożach, rowach, pobrzeżach lasów, polanach leśnych, jak i nasypach, czy skarpach. W strefie

* Praca stanowi fragment rozprawy doktorskiej: SZENEJKO M. 2012. *Ocena zmienności fenotypowej i genomowej różnych form wiechliny łąkowej (*Poa pratensis* L.)*. Katedra Ekologii i Ochrony Środowiska WB, Uniwersytet Szczeciński, s. 152.

klimatu umiarkowanego jest znana jako ważna roślina uprawna. Do uprawy została wprowadzona w 1780 r. w Anglii, jako jedna z pierwszych traw pastewnych, wyselekcjonowanych z miejscowych populacji w okręgu Kent. Następnie w niedługim okresie czasu rozprzestrzeniła się na całą Europę i zaczęła odgrywać jedną z wiodących ról na użytkach zielonych Starego Kontynentu (MIERNICKI 1953; RUTKOWSKA 1984).

W Polsce *Poa pratensis* jest użytkowana wielokierunkowo. Sprawdza się jako trawa gazonowa przeznaczona na różnego rodzaju trawniki, w tym: ozdobne, parkowe, sportowe oraz ekologiczne (RUTKOWSKA & HEMPEL 1986; KOZŁOWSKI i in. 2000; DOMAŃSKI 2002; MARTYNIAK 2003; GRABOWSKI i in. 2006a; GRABOWSKI i in. 2006b; GRABOWSKI i in. 2006c; PROŃCZUK M. & PROŃCZUK S. 2006, 2008; PROŃCZUK S. & PROŃCZUK M. 2006). Ponadto jest uznawana za jeden z cenniejszych gatunków traw pastewnych, stosowanych jako komponent w mieszankach łąkowych i pastwiskowych (DOMAŃSKI 2005; DOMAŃSKI & STUCZYŃSKA 2009).

Obecnie spośród 20 gatunków traw, wpisanych na listę krajowego rejestru odmian COBORU, trzy należą do *Poa*: *P. nemoralis* L. (wiechlina gajowa), *P. trivialis* L. (wiechlina zwyczajna) i *P. pratensis*. Dla dwóch pierwszych gatunków na LISTĘ ODMIAN ROŚLIN ROLNICZYCH... (2012) wpisano tylko po jednej odmianie (odpowiednio 'Pinokio' i 'Havana'), podczas gdy dla *P. pratensis* aż 29. Wśród nich dominują gazonowe (23), apomiktyczne odmiany jednoklonowe (25), pochodzące z zagranicznych hodowli (19). Większość polskich odmian zostało wyhodowanych jako ogólnoużytkowe i sportowe. Wyselekcjonowano je głównie z ekotypów, pochodzących z naturalnych siedlisk (KASZUBA & OSTROWSKA 1994; ŻUREK i in. 2001; CZEMBOR 2002; MARTYNIAK 2003; GOLIŃSKI & WALEROWSKA 2007; SZENEJKO i in. 2009).

Przy wstępnej weryfikacji form wyjściowych do kreowania nowych odmian pomocne mogą być techniki molekularne oparte na systemach markerowych. Pozwalają one na rozróżnienie cech powstających z oddziaływania środowiska od tych wynikających ze struktury genomu. Czynniki środowiska mogą maskować różnice genetyczne (MICHALIK 1994). Molekularne systemy markerów umożliwiają ocenę zróżnicowania genetycznego w dowolnej populacji roślinnej, jak i pomiędzy oddalonymi jednostkami systematycznymi we wszystkich stadiach wzrostu i rozwoju rośliny, niezależnie od warunków środowiska (BRODA i in. 2008). Może mieć to istotne znaczenie dla gatunków roślin, u których istnieje trudność w uzyskaniu dużej zmienności genetycznej w materiale wyjściowym. Do takich roślin należy, między innymi *Poa pratensis*, gatunek fakultatywnie apomiktyczny, u którego istnieje problem zawężonej zmienności odnośnie do cech użytkowych (MULLER 1964; VAN DIJK 1971; FELSENSTEIN 1974; RUEBENBAUER & MÜLLER 1985; PAMILO i in. 1987; CZEMBOR 2002; GOLIŃSKI & WALEROWSKA 2007).

Celem badań było dokonanie oceny zmienności fenotypowej, w tym: cech morfologicznych i wielkości plonu masy nadziemnej oraz polimorfizmu RAPD wybranych ekotypów *Poa pratensis*. Ponadto podjęto próbę wytypowania, w oparciu o wykorzystane w pracy odmiany wzorcowe: 'Limousine' i 'Eskę 46', ekotypów o najkorzystniejszym układzie badanych cech pod kątem użytkowania pastewnego lub trawnikowo-rekreacyjnego.

MATERIAŁ I METODY

Badania prowadzono w latach 2007–2009. Objęto nimi 12 ekotypów *Poa pratensis* pochodzących z terenów Podlasia (pod) i Dolnego Śląska (dos) oraz 2 odmiany wzorcowe różniące się formą użytkowania: gazonową 'Limousine' i pastewną 'Eskę 46'. Wykorzystano do badań materiał nasienny wiechliny łąkowej pochodzący z kolekcji Ogrodu Botanicznego IHAR (Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin) w Bydgoszczy, ze zbiorów: w 2005 r. (ekotypy) oraz w 2003 r. (odmiany).

Analizy cech fenotypowych, w tym: cech morfologicznych oraz wielkości plonu masy nadziemnej dokonano m.in. w oparciu o doświadczenie wazonowe, w warunkach laboratoryjnych, w latach 2007 i 2008, od kwietnia do czerwca. Dla każdej formy zastosowano 3 powtórzenia, a więc każdego roku wykorzystano 42 wazonny. W ciągu dwóch lat przebadano łącznie 504 rośliny *Poa pratensis* (po 36 roślin dla każdej formy), będących w początkowym okresie rozwoju wegetatywnego.

Dokonano pomiarów biometrycznych 7 cech morfologicznych: wysokości rośliny (WYS), liczby pędów wegetatywnych na roślinie (Lpw), długości pędu wegetatywnego rośliny (DŁpw), liczby liści na roślinie (LI), długości (DŁbl) i szerokości (SZbl) blaszki liściowej oraz wielkości powierzchni asymilacyjnej blaszki liściowej rośliny (A). Przy ocenie plonu masy nadziemnej badanych ekotypów *Poa pratensis* uwzględniono, między innymi stopień produktywności ich roślin, czyli średnią wielkość zielonej (Pzm) i suchej masy (Psm), uzyskaną w trakcie 3 miesięcy badań (g/roślinę). Ponadto w warunkach laboratoryjnych, dwukrotnie w latach 2007–2008, dokonano oceny zdolności kiełkowania ziarniaków (ZK) *P. pratensis* (ISTA 1999). Ustalono również wartość wskaźnika MGT (ELLIS & ROBERTS 1978), czyli średniego czasu potrzebnego na wykiełkowanie pojedynczego nasiona. O stabilności i wyrównaniu wyżej wymienionych cech wnioskowano na podstawie wartości współczynnika zmienności (CV). Dla badanych ekotypów wiechliny łąkowej obliczono również najmniejszą istotną różnicę (NIR_{0,05}), wykorzystując metodę T (test HSD Tukeya) oraz wartości współczynnika korelacji liniowej Pearsona (r ; $p < 0,05$).

Oceny polimorfizmu genetycznego dokonano na podstawie metody RAPD-PCR (WILLIAMS i in. 1990, zmodyfikowane). DNA izolowano przy użyciu zestawu Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega). Spośród 69 starterów, wstępnie przetestowanych na 5 genotypach do analizy RAPD wybrano 8, generujące najbardziej stabilne i polimorficzne produkty amplifikacji. W skład mieszaniny reakcyjnej o objętości 25,0 μ l wchodziły: 1x bufor do reakcji PCR z Mg^{2+} (Novazym), 1,5 mM $MgCl_2$, 1,0 μ M startera, 0,2 mM dNTP, 1,25 U REDAllegro *Taq* Polimerazy (Novazym) oraz 250 ng DNA. Reakcje amplifikacji prowadzono dla 2 prób DNA z każdego genotypu, w 2 powtórzeniach według profilu termicznego, za RAJASEKAR i in. (2005). Uzyskane produkty amplifikacji rozdzielano na 2,0% żelu agarozowym z dodatkiem bromku etydyny (5 μ g/ml; Sigma-Aldrich) w buforze 1xTBE przez około 4–5 godzin przy napięciu 85 V. Do wizualizacji, dokumentacji i analizy otrzymanych wyników wykorzystano: zestaw Gel Doc™ XR i program Quantity One 4.6.5. firmy Bio-Rad. Określono wartości współczynnika podobieństwa genetycznego (S_i) zgodnie z formułą DICE'A (1945), za NEI i LI (1979) oraz wykreślono dendrogram UPGMA (SNEATH & SOKAL 1973) w oparciu o programy FreeTree oraz TreeView 1.6.6. (PAVLÍČEK i in. 1999; HAMPL i in. 2001).

WYNIKI I DYSKUSJA

Analiza fenotypowa

Większość badanych ekotypów wiechliny łąkowej różniło się istotnie między sobą pod względem cech fenotypowych a zwłaszcza: zdolności kiełkowania ziarniaków, a także liczby i długości pędu wegetatywnego oraz szerokości blaszki liściowej, co zostało potwierdzone statystycznie za pomocą testu HSD Tukeya (Tab. 1). Znaczne zróżnicowanie tych cech, a zwłaszcza zdolności krzewienia się roślin oraz szerokości liści uzyskali również PROŃCZUK M. & PROŃCZUK S. (2008) dokonując oceny przydatności odmian i ekotypów

Tabela 1. Zróżnicowanie badanych ekotypów *Poa pratensis* pod względem badanych cech fenotypowych
Table 1. Differentiation of the examined *Poa pratensis* ecotypes in respect of phenotypic traits being analysed

Formy Forms	ZK (%)	CV (%)	MGT (dni)	CV (%)	WYS (cm)	CV (%)	Lpw (cm)	CV (%)	CV (%)	CV (%)	Ll (cm)	CV (%)	DŁbl (cm)	CV (%)	SZbl (cm)	CV (%)	A (cm ²)	CV (%)	Pzm (%)	CV (%)	Psm (%)	CV (%)
dos01 010	28,4*	30,7	23,3*	7,6	18,2	13,9	2,5*	25,0	4,3*	15,2	10,7	23,4	13,7	20,2	0,19*	16,1	1,9*	8,7	0,56	11,6	0,16	20,2
dos01 157	51,8	48,7	21,6*	3,4	16,7*	19,2	2,9	20,5	4,6	17,7	12,8*	13,4	11,9*	9,3	0,23	14,1	2,2	37,7	0,55	26,1	0,15	18,0
dos01 256	34,0*	17,0	21,1	3,8	18,3	22,0	2,4*	25,8	5,1*	10,7	8,9*	23,9	13,3	21,9	0,22	7,8	2,3	26,7	0,55	18,9	0,16	11,9
dos01 333	71,9*	22,8	21,5*	7,0	17,6	12,8	3,3*	14,6	5,0*	9,8	13,7*	16,7	12,7	16,4	0,26*	13,6	2,9*	21,3	0,68*	20,5	0,19	23,8
dos01 405	49,7*	36,3	20,9	3,7	21,1*	12,9	4,2*	14,2	5,0*	19,5	11,6	20,1	15,8*	15,0	0,18*	8,0	2,2	19,5	0,54	11,2	0,15	30,6
dos01 468	60,7	13,7	21,8*	5,1	18,4	6,5	2,3*	27,4	5,2*	16,4	8,6*	30,7	13,2	8,1	0,24*	6,8	2,6*	16,0	0,62	16,8	0,17	39,1
pod02 172	74,7*	14,4	19,0*	0,1	17,8	13,8	2,4*	33,5	4,5	8,1	11,1	13,2	13,2	15,2	0,19*	7,9	2,2	19,1	0,50	15,6	0,15	21,3
pod02 215	69,0*	44,3	19,4*	1,1	19,5*	7,0	3,0	17,1	4,9*	13,9	10,3	19,0	14,4*	11,1	0,25*	5,4	2,6*	11,5	0,69*	11,0	0,20	8,0
pod02 231	29,0*	12,8	18,5*	0,5	18,8	9,1	2,4*	20,4	4,2*	10,2	8,7*	15,0	14,5*	12,1	0,19*	11,7	2,3	12,7	0,47*	15,2	0,12	16,8
pod02 267	60,4	42,0	19,8	1,5	16,1*	14,5	3,0	20,6	4,8	9,2	13,8*	19,3	11,3*	18,8	0,20*	11,9	1,9*	22,1	0,59	9,7	0,15	21,3
pod02 293	52,3	18,4	19,7	0,5	17,8	9,7	2,1*	15,9	4,9*	11,6	8,7*	21,5	14,8*	11,3	0,23	9,8	2,5	19,4	0,53	26,1	0,15	28,7
pod02 317	63,7*	16,6	20,3	1,6	17,6	12,2	2,9	10,2	5,0*	11,1	11,2	17,7	13,6	10,6	0,25*	6,3	2,8*	12,2	0,69*	10,3	0,19	11,3
'Limousine'	69,5*	15,6	19,5	3,1	14,1*	7,9	3,8*	23,4	3,2*	14,5	12,8*	23,1	11,3*	9,9	0,21	2,9	1,7*	8,7	0,57	7,7	0,14	14,1
'Easka 46'	69,0*	17,3	19,5	1,3	19,4*	19,4	2,6	24,0	4,9*	29,2	11,7	25,8	14,4*	16,8	0,21	10,4	2,6*	13,6	0,55	14,6	0,16	7,1
Średnia Mean	56,0	25,0	20,4	3,6	17,9	13,0	2,9	21,1	4,6	14,6	11,1	20,5	13,4	14,0	0,22	9,3	2,3	17,4	0,58	15,1	0,16	18,9
NIR _{0,05}	11,1	1,7	1,9	0,6	0,6	0,5	2,3	1,5	0,02	0,3	0,17	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1

Objaśnienia: ZK – zdolność kiełkowania; MGT – czas kiełkowania; WYS – wysokość rośliny; Lpw – liczba pędów wegetatywnych; DŁpw – długość pędu wegetatywnego; Ll – liczba liści; DŁbl – długość blaszki liściowej; SZbl – szerokość blaszki liściowej; A – powierzchnia blaszki liściowej; Pzm – plon zmielonej masy (g/rośliny); Psm – plon suchej masy (g s.m./rośliny); CV – współczynnik zmienności (%); * istotnie różne ($\alpha=0,05$)

Explanations: ZK – germination capacity; MGT – time of germination; WYS – plant height; Lpw – number of vegetative shoots; DŁpw – length of vegetative shoot; Ll – number of leaves; DŁbl – leaf blade length; SZbl – leaf blade width; A – leaf blade area; Pzm – yield of green matter (g/plant); Psm – yield of dry matter (DM g/plant); CV – variation coefficient; * – significantly different ($\alpha=0,05$)

Poa pratensis na trawniki ekstensywne. Autorzy wykazali, iż w pierwszym roku badań największe różnice między określonymi genotypami dotyczą właśnie tych parametrów. Inne cechy mogą ujawniać się dopiero w latach następnych.

Pod względem wielkości plonu masy nadziemnej oceniane obiekty wiechliny łąkowej nie były tak zróżnicowane (Tab. 1). Można to tłumaczyć tym, iż w trzech pierwszych latach użytkowania różnice w plonowaniu pomiędzy różnymi formami wiechliny łąkowej są nieznaczne. Dla odmian pastewnych mieszczą się w przedziale od 3,0% ('Eska 46' i 'Harfa') do 8,0% ('Skiz' i 'Eska 46') (DOMAŃSKI & STUCZYŃSKA 2009). W niniejszej pracy różnica w zawartości suchej masy pomiędzy odmianami wzorcowymi, w trakcie dwóch lat badań, była również niewielka i wynosiła około 4,0%. Podobne zróżnicowanie materiału roślinnego u *Poa pratensis* wykazały wyniki badań innych autorów, np.: MARTYNIAKA i ŻYŁKI (1997) oraz SZENEJKO (2007, 2009, 2010).

Najbardziej wyrównaną cechą morfologiczną, dla której uzyskano najniższą wartość współczynnika zmienności okazała się szerokość blaszki liściowej (9,5%) (Tab. 1). Warto podkreślić, iż przy próbach oceny i porównania zmienności populacji pod względem różnych cech szczególną rolę przypisuje się miarom rozproszenia (dyspersji), spośród których najczęściej stosowany jest współczynnik zmienności (ŁOMNICKI 1999). Jego wartość nie jest uzależniona od jednostek, w których dokonuje się pomiarów i jest ona zazwyczaj większa niż 10%. Wartość mniejsza niż 10% sugeruje niewielką zmienność danej populacji i oznacza znaczny stopień odziedziczalności badanej cechy (TARKOWSKI 1974). Pozwala to wnioskować, iż szerokość blaszki liściowej to cecha w znacznym stopniu uwarunkowana genetycznie. Adekwatnie do wcześniejszych wyników badań (SZENEJKO 2007, 2009) ziarniaki ocenianych form *Poa pratensis* wykazywały niską wartość zdolności kiełkowania (56,0%) i potrzebowały około 20 dni na wykiełkowanie (Tab. 1). Dla porównania według danych z literatury średni czas kiełkowania pojedynczego ziarniaka wiechliny łąkowej mieści się w zakresie 20–24 dni (HARKOT & CZARNECKI 1997; HARKOT i in. 2006; SZENEJKO 2007, 2009). Największą liczbę skiełkowanych nasion uzyskaną po 28 dniach od ich wysiania odnotowano dla 2 ekotypów: dos01 333 (72,0%) oraz pod02 172 (75,0%).

Jak ujawniły wyniki analizy fenotypowej większość roślin badanych obiektów wiechliny łąkowej charakteryzowało się niską zdolnością krzewienia (średnio 3,0 pędy vegetatywne/roślinę) i słabym ulistnieniem (średnio 11,0 liści/roślinę). Istotnie najlepiej krzewiły się rośliny: ekotypu dos01 405 oraz odmiany 'Limousine', wykształcając średnio po 4,0 pędy vegetatywne. Wśród najlepiej ulistnionych form znalazły się zaś: dos01 333 i pod02 267 (średnio 14,0 liści/roślinę) oraz dos01 157 i odmiana gazonowa (średnio 13,0 liści/roślinę).

Ekotypy w porównaniu do odmian wzorcowych ('Limousine' i 'Eski 46') wykazywały istotnie statystycznie niższą wartość zdolności kiełkowania ziarniaków oraz wykształcały wyraźnie dłuższe pędy vegetatywne (Tab. 2). Zaobserwowano również znaczną różnicę w szybkości kiełkowania ziarniaków w zależności od pochodzenia badanych ekotypów, co przełożyło się na średnią wartość wskaźnika MGT. Nasiona obiektów z Podlasia kiełkowały z około 3-dniowym (19,5 dni) wyprzedzeniem w stosunku do ekotypów dolnośląskich (21,7 dni). Różnica ta jest prawdopodobnie spowodowana odmiennymi warunkami siedliskowymi panującymi w tych województwach, a zwłaszcza rozkładem średnich temperatur

Tabela 2. Porównanie średnich wartości badanych cech dla ekotypów i odmian wzorcowych *Poa pratensis*
Table 2. Comparison of the mean values of analysed traits for *Poa pratensis* ecotypes and reference cultivars

Formy Forms	ZK (%)	CV (%)	MGT (dni)	CV (%)	WYS (cm)	CV (%)	Lpw (cm)	CV (%)	DŁpw (cm)	CV (%)	Ll (cm)	CV (%)	DŁbl (cm)	CV (%)	SZbl (cm)	CV (%)	A (cm ²)	CV (%)	Pzm (%)	CV (%)	Psm (%)	CV (%)
Ekotypy – Ecotypes	53,8*	26,5	20,6	3,8	18,2	12,8	2,8	20,4	4,8*	12,8	10,8	13,5	13,5	14,2	0,22	10,0	2,4	18,9	0,58	16,1	0,16	20,9
dos	49,4	28,2	21,7*	6,8	18,4	14,6	2,9	21,3	4,9	14,9	11,1	21,4	13,4	15,2	0,22	11,1	2,3	21,7	0,58	17,5	0,16	23,9
pod	58,2	24,8	19,5*	0,9	17,9	11,1	2,6	19,6	4,7	10,7	10,6	17,6	13,6	13,2	0,22	8,8	2,4	16,2	0,58	14,7	0,16	17,9
Odmiany – Cultivars	69,3*	16,5	19,5	2,2	16,7	13,7	3,2	23,7	4,0*	21,9	12,3	24,5	12,8	13,4	0,21	6,7	2,2	11,2	0,56	11,1	0,15	10,6
‘Limousine’	69,5	15,6	19,5	3,1	14,1*	7,9	3,8	23,4	3,2*	14,5	12,8	23,1	11,3*	9,9	0,21	2,9	1,7*	8,7	0,57	7,7	0,14	14,1
‘Eska 46’	69,0	17,3	19,5	1,3	19,4*	19,4	2,6	24,0	4,9*	29,2	11,7	25,8	14,4*	16,8	0,21	10,4	2,6*	13,6	0,55	14,6	0,16	7,1

Objaśnienia: dos – ekotypy dolnośląskie; pod – ekotypy podlaskie; ZK – zdolność kiełkowania; MGT – czas kiełkowania; WYS – wysokość rośliny; Lpw – liczba pędów wegetatywnych; DŁpw – długość pędu wegetatywnego; Ll – liczba liści; DŁbl – długość blaszki liściowej; SZbl – szerokość blaszki liściowej (cm); A – powierzchnia blaszki liściowej; Pzm – plon zmielonej masy (g/roślinę); Psm – plon suchej masy (g s.m./roślinę); CV – współczynnik zmienności (%);* – istotnie różne ($\alpha=0,05$)

Explanations: dos – ecotypes from the Lower Silesia Province; pod – ecotypes from the Podlasie Province; ZK – germination capacity; MGT – time of germination; WYS – plant height; Lpw – number of vegetative shoots; DŁpw – length of vegetative shoot; Ll – number of leaves; DŁbl – leaf blade length; SZbl – leaf blade width; A – leaf blade area; Pzm – yield of green matter (g/plant); Psm – yield of dry matter (DM g/plant); CV – variation coefficient; * – significantly different ($\alpha=0,05$)

powietrza i sumą opadów atmosferycznych, czyli najważniejszych czynników modyfikujących jakość materiału siewnego (LITYŃSKI 1982; GRZESIK i in. 1998; GÓRNIK & GRZESIK 1998; BORAWSKA-JARMOŁOWICZ 2006).

Jak podkreślają RUTKOWSKA i in. (1999) poznanie cech morfologiczno-biologicznych u traw pozwala, między innymi na ocenę ich przydatności do sposobu wykorzystania i użytkowania. W zależności od kierunku użytkowania przyszłych odmian: gazonowego lub pastewnego z przeznaczeniem na łąki, bądź pastwiska, stosowane są różne kryteria ich oceny i odmienne preferencje co do pożądanych cech morfologicznych. Trawy gazonowe powinny charakteryzować się powolnym wzrostem, niewielką wysokością roślin, dobrym rozkrzewieniem i ulistnieniem oraz delikatnymi, wąskimi liśćmi. Należy nadmienić, iż wśród odmian *Poa pratensis* zróżnicowanie delikatności i szerokości ulistnienia jest szczególnie mocno zaznaczone (ponad 40%) (DOMAŃSKI 2002). Odmiany pastewne powinny zaś wyróżniać się bujnym, szybkim wzrostem, dobrym plonowaniem oraz dużą powierzchnią asymilacyjną blaszek liściowych. Jednakże w zależności od ich ostatecznego przeznaczenia – na łąki lub pastwiska, stosowane są różne wymagania odnośnie do wysokości roślin. Odmiany na łąki, w przeciwieństwie do tych przeznaczonych na pastwiska, powinny być wyższe i posiadać dłuższe pędy vegetatywne. W obu specjalizacjach hodowlanych ważne jest obfite ulistnienie i rozkrzewienie roślin (TARKOWSKI 1974; FALKOWSKI i in. 1997; ŻYŁKA & PROŃCZUK 1998; MARTYNIAK 2003; DOMAŃSKI 2005; SZENEJKO i in. 2009; SZENEJKO 2010). W niniejszej pracy wykorzystano 2 odmiany wiechliny łąkowej ('Limousine' i 'Eskę 46'), które potraktowano jako wzorce przy ocenie badanych ekotypów. Różniły się one istotnie między sobą pod względem większości analizowanych cech morfologicznych oraz ich stabilności (Tab. 2). 'Limousine' wyróżniała się większym wyrównaniem badanych cech, a zwłaszcza: wysokości roślin, długości pędu vegetatywnego i blaszki liściowej oraz średniej wielkości powierzchni asymilacyjnej blaszki liściowej. Może to świadczyć o bardziej restrykcyjnej selekcji materiałów hodowlanych w procesie kreacji odmian gazonowych w porównaniu do tych przeznaczonych na pastwiska i łąki, co jest zgodne z wcześniejszymi spostrzeżeniami GOLIŃSKIEGO i WALEROWSKIEJ (2007). Zauważono, iż rośliny odmiany trawnikowej były średnio o 5,0 cm niższe w porównaniu do 'Eski 46' oraz posiadały istotnie krótsze pędy vegetatywne. Ponadto wykształcały krótsze, średnio o 3,0 cm blaszki liściowe o wyraźnie mniejszej powierzchni asymilacyjnej. Istotne różnice w średnich wartościach wyżej wymienionych cech morfologicznych pomiędzy odmianami wiechliny łąkowej potwierdzili również inni autorzy, co wynika z odmiennych kierunków użytkowania tych form (ROGAŁSKI i in. 2007; FILIP i in. 2009; SZENEJKO 2010).

Wśród badanych form *Poa pratensis* znalazły się ekotypy dorównujące, bądź przewyższające pod względem średnich wartości cech morfologicznych, odmiany wzorcowe. Tylko jeden ekotyp z Podlasia (pod02 267) uzyskał wartości zbliżone do odmiany trawnikowej 'Limousine' (Tab. 1). Pod względem takich cech, jak wysokość rośliny oraz długość blaszki liściowej dorównywał on wzorcowi gazonowemu. Podobnie jak on wyróżniał się najlepszym ulistnieniem oraz stosunkowo wąskimi blaszkami liściowymi o niewielkiej wartości ich powierzchni asymilacyjnej. Jednakże w porównaniu do 'Limousine' wykazywał większą zmienność analizowanych cech, z wyjątkiem średniej liczby i długości pędów vegetatywnych. Wytypowano również 5 ekotypów wyróżniających się najkorzystniejszym

układem i stabilnością badanych cech morfologicznych, wskazujących na możliwość wykorzystania ich w pracach hodowlanych w kierunku użytkowania pastewnego: dos01 333, dos01 405, dos01 468 oraz pod02 215, pod02 317. Okazały się one bardziej wyrównane w stosunku do 'Eski 46', co potwierdziły niższe wartości współczynnika zmienności. Wśród nich na szczególną uwagę zasługują ekotyp dolnośląski dos01 333 oraz 2 formy z Podlasia (pod02 215 i pod02 317). Ich osobniki wyróżniały się dobrym rozkrzewieniem (3,1 pędy vegetatywne/roślinę), długimi pędami vegetatywnymi (5,0 cm) oraz posiadały jedno z najszerszych blaszek liściowych (0,253 cm) o dużej powierzchni asymilacyjnej (2,8 cm²). Zostały one również korzystnie ocenione pod względem zdolności kiełkowania ziarniaków. Znaczne wartości tych cech sugerują, iż wyżej omawiane ekotypy mogą być przydatne do hodowli odmian łąkowych. Ponadto ich osobniki wyróżniały się największym plonem zielonej masy, której wielkość i jakość stanowi bardzo ważny kierunek hodowli traw (TARKOWSKI 1974). Trawy wysokie, dostarczające obfitej masy roślinnej pożądane są zwłaszcza na łąkach kośnych, dających co najmniej dwa pokosy w sezonie vegetacyjnym (DOMAŃSKI 2005). Wśród 5 form, wytypowanych do użytkowania pastewnego, znalazł się również ekotyp dos01 468. Pod względem wyrównania badanych cech przewyższał on odmianę pastewną 'Eskę 46', z wyjątkiem: średniej liczby pędów vegetatywnych i liści na roślinie, dla których uzyskał najniższe wartości.

Wielkość powierzchni asymilacyjnej blaszek liściowych okazała się istotnie skorelowana z ich szerokością ($r=0,724$) oraz plonem zielonej ($r=0,579$) i suchej masy ($r=0,671$) (Tab. 3). Dodatnią i istotną współzależność pomiędzy tymi cechami potwierdziły spostrzeżenia i wyniki prac KOZŁOWSKIEGO i GOLIŃSKIEGO (1993), KRYSZAK i in. (2003) lub SZENEJKO

Tabela 3. Korelacje pomiędzy średnimi wartościami badanymi cech *Poa pratensis*

Table 3. Correlation between mean values of the examined traits of *Poa pratensis*

Cechy – Traits	ZK	WYS	Lpw	DŁpw	Ll	DŁbl	SZbl	A	Pzm	Psm
ZK (%)	1									
WYS (cm)	-0,238	1								
Lpw/roślinę	0,282	-0,060	1							
DŁpw (cm)	0,024	0,622*	-0,249	1						
Ll/roślinę	0,487	-0,437	0,657*	-0,233	1					
DŁpw (cm)	-0,273	0,887*	-0,101	0,416	-0,577*	1				
SZbl (cm)	0,427	-0,127	-0,125	0,406	0,042	-0,199	1			
A (cm ²)	0,319	0,462	-0,186	0,698*	-0,206	0,404	0,724*	1		
Pzm (g/roślinę)	0,481	-0,043	0,258	0,331	0,266	-0,161	0,814*	0,579*	1	
Psm (g s.m./roślinę)	0,493	0,223	0,102	0,499	0,118	0,082	0,763*	0,671*	0,900*	1

Objaśnienia: ZK – zdolność kiełkowania; WYS – wysokość rośliny; Lpw – liczba pędów vegetatywnych; DŁpw – długość pędu vegetatywnego; Ll – liczba liści; DŁbl – długość blaszki liściowej; SZbl – szerokość blaszki liściowej (cm); A – powierzchnia blaszki liściowej; Pzm – plon zielonej masy (g/roślinę); Psm – plon suchej masy (g s.m./roślinę); * istotnie różne ($\alpha=0,05$)

Explanations: ZK – germination capacity; WYS – plant height; Lpw – number of vegetative shoots; DŁpw – length of vegetative shoot; Ll – number of leaves; DŁbl – leaf blade length; Ll – number of leaves; SZbl – leaf blade width; A – leaf blade area; Pzm – yield of green matter (g/plant); Psm – yield of dry matter (DM g/plant); * – significantly different ($\alpha=0,05$)

(2010). Warto dodać, iż gatunki należące do rodzaju *Poa*, a zwłaszcza: wiechlina łąkowa, *P. palustris* L., *P. trivialis* L. lub *P. annua* L. posiadają drobne blaszki liściowe, a zatem dysponują niewielką ich powierzchnią asymilacyjną (KOZŁOWSKI & GOLIŃSKI 1993). Jej wartość dla roślin wiechliny łąkowej została oceniona na 6,2 cm². Jak wykazano w niniejszej pracy, rośliny badanych form wiechliny łąkowej wykształcały blaszki liściowe o mniejszej powierzchni (2,3 cm²), niż podawana przez wyżej cytowanych badaczy. Należy jednak zauważyć, że była ona wynikiem uśrednienia pomiarów z całego okresu badań i dotyczyła wszystkich blaszek liściowych na pędzie wegetatywnym, łącznie z suchymi, a nie ograniczała się do pomiaru jednego liścia, jak w pracy KOZŁOWSKIEGO i GOLIŃSKIEGO (1993). Niewielką wartość tej cechy dla roślin *Poa pratensis*, mieszczącą się w zakresie od 1,9 do 3,3 cm² uzyskali również inni autorzy (KOZŁOWSKI i in. 2003; FILIP i in. 2009; SZENEJKO 2010). W pracy, w ślad za SZENEJKO i MAJTKOWSKIM (2008) oraz SZENEJKO (2010), wykazano występowanie istotnej, dodatniej korelacji pomiędzy: wielkością powierzchni asymilacyjnej blaszki liściowej a długością pędu wegetatywnego ($r=0,698$), wysokością roślin a długością pędu wegetatywnego ($r=0,622$) i długością blaszek liściowych ($r=0,887$) oraz pomiędzy stopniem rozkrzewienia roślin a ich ulistnieniem ($r=0,657$ (Tab. 3). Ulistnienie zaś, jak podkreślają FALKOWSKI i in. (1997), decyduje o wielkości zbieranego plonu, ze względu na występowanie dodatniej korelacji pomiędzy masą blaszki liściowej a wielkością wytwarzanego plonu runi.

Ocena polimorfizmu RAPD

W wyniku przeprowadzonej analizy RAPD uzyskano szereg produktów amplifikacji, wśród których stwierdzono wysoki poziom polimorfizmu i specyficzność dla badanych form wiechliny łąkowej (Tab. 4). Spośród 69 starterów, wstępnie przetestowanych na 5 genotypach do analizy RAPD wybrano 8. W ich obecności uzyskano łącznie aż 244 produkty amplifikacji w zakresie od 213 (dla C06) do 2971 par zasad (dla P08). Średnio pojedynczy starter generował około 31 prążków o długości 246,1–1750,4 pz. Dla porównania średnia liczba produktów amplifikacji, jaką uzyskuje się standardowo w wyniku analizy RAPD wynosi od kilku do kilkunastu (GOLIŃSKA i in. 2008). Największą liczbę produktów amplifikacji, bo powyżej 30, udało się uzyskać przy wykorzystaniu starterów M14 (36), C16 (35), F05 (32) oraz G19 (31).

Analiza uzyskanych obrazów elektroforetycznych pozwoliła na zidentyfikowanie 217 polimorficznych produktów amplifikacji. Znaczny ich udział (88,9%) w ogólnej liczbie wygenerowanych prążków nie odbiega od wyników otrzymanych przez innych autorów (JOHNSON i in. 2002; RAJASEKAR i in. 2005; FILIP i in. 2009; SZENEJKO i in. 2009). Potwierdza jednocześnie opinię, iż różne formy wiechliny łąkowej cechuje duży poziom polimorfizmu prążkowego, oceniany na ponad 80%.

Wybrane do analiz startery inicjowały syntezę 32 specyficznych dla badanych form *Poa pratensis* produktów amplifikacji w zakresie wielkości od 319 pz dla ekotypu dos01 405 w obecności startera G19 do 2971 pz dla dos01 468 w reakcji z P08 (Tab. 3 i 4). Pojedynczy starter generował średnio 4 unikatowe prążki, różnicujące badane formy wiechliny łąkowej. Największą ich liczbę, bo 7 produktów, wygenerowano w reakcji ze starterem C06.

Tabela 4. Sekwencje starterów RAPD i charakterystyka produktów amplifikacji po włączeniu ich do reakcji PCR
Table 4. Sequences of RAPD primers and characteristic of amplification products of their PCR reactions

Starter Primer	Sekwencja Sequence 5' – 3'	Produkty amplifikacji Amplification products			P (%)	Zakres wielkości (pz) Size range (bp)		Unikatowe produkty Unique products		
		Ogółem – Total	m	p		min.	max.	Ogółem – Total	e	o
B08	GTCCACACGG	28	1	27	96	221	1498	2	2	0
C06	GAACGGACTC	29	3	26	90	213	1378	7	7	0
C08	TGGACCGGTG	28	5	23	82	215	1563	3	3	0
C16	CACACTCCAG	35	5	30	86	307	1656	4	3	1
F05	CCGAATCCC	32	5	27	84	321	1574	3	3	0
G19	GTCAGGGCAA	31	2	29	94	221	1912	5	5	0
M14	AGGGTCGTTC	36	3	33	92	250	1451	2	2	0
P08	ACATCGCCCA	25	3	22	88	221	2971	6	6	0
Suma – Sum		244	27	217		–		32	31	1
Średnia/starter Mean/primer		30,5	3,4	27,1	88,9	246,1	1750,4	4	3,9	0,1

Objaśnienia: m – liczba produktów monomorficznych; p – liczba produktów polimorficznych; P – frekwencja prążków polimorficznych; e – ekotypy; o – odmiany

Explanations: m – number of monomorphic products; p – number of polymorphic products; P – polymorphic bands frequency; e – ecotypes, o – cultivars

Aż 31 unikatowych prążków odnotowano dla ekotypów. Spośród nich największą liczbę produktów o unikatowym składzie, bo aż 7 odnotowano dla ekotypu dolnośląskiego dos01 468 (Tab. 4). Mieściły się one w zakresie wielkości: od 470 pz w reakcji z starterem C06 do 2971 pz w obecności P08. Przy udziale starterów G19 i P08 wygenerowano produkty o podobnej wielkości (1800–1900 pz). Również dużą liczbę specyficznych prążków zidentyfikowano dla ekotypów dos01 010, pod02 172 oraz dos01 317 (po 4). Warto przypomnieć, iż ten ostatni wyróżnił się pod względem wartości badanych cech fenotypowych, ich układu oraz stabilności. W reakcji ze starterami: C06 i C16 otrzymano dla niego niskocząsteczkowe produkty amplifikacji o wielkości około 300 pz. Dla porównania dla ekotypu pod02 267, który jako jedyny dorównywał pod względem cech morfologicznych odmianie gazonowej, nie wykryto żadnego unikatowego produktu amplifikacji RAPD. Na tej podstawie można wnioskować, iż jest on najbardziej zbliżony do pozostałych badanych obiektów, a tym samym nie może być uznany za wartościowy materiał wyjściowy w procesie kreowania nowych odmian trawnikowych, gdyż nie zapewnia korzystnego źródła genów. W celu określenia podobieństwa genetycznego pomiędzy badanymi formami *Poa pratensis* zastosowano współczynnik Dice'a (Si). Średnia wartość Si, jaką uzyskano dla 14 badanych form wiechliny łąkowej, wyniosła około 0,7 (Tab. 5, 6). Świadczy ona o znacznym podobieństwie genetycznym ocenianych obiektów i jest zgodna z wynikami uzyskanymi przez innych autorów, np.: JOHNSONA i in. (2002) lub SZENEJKO i in. (2009). Jednocześnie potwierdza dotychczasowe opinie, dotyczące problemu zawężonej zmienności genetycznej w pojedynczych populacjach tego gatunku trawy (MULLER 1964; VAN DIJK 1971; FELSENSTEIN 1974; RUEBENBAUER & MÜLLER 1985; PAMILO i in. 1987; CZEMBOR

Tabela 5. Liczba i wielkość specyficznych produktów amplifikacji, różnicujących badane ekotypy i odmiany *Poa pratensis***Table 5.** Number and size of specific amplification products differing the examined *Poa pratensis* ecotypes and cultivars

Starter – Primer	Wielkość prążka (pz) Size band (bp)	dos01 010	dos01 157	dos01 256	dos01 333	dos01 405	dos01 468	pod02 172	pod02 215	pod02 231	pod02 267	pod02 293	pod02 317	'Limousine'	'Eska 46'	Suma – Sum
B08	1168	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
	1137	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
C06	1378	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	7
	1116	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
	885	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	507	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	470	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
	417	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
C08	333	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	3
	1105	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
	794	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
C16	624	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
	1017	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
	834	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	375	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
F05	345	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	3
	1333	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
	788	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
G19	656	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5
	1912	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
	1721	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
	797	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
	537	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
M14	319	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
	1894	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
P08	682	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6
	2971	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
	2582	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
	2360	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
	1862	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
	1198	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
Suma – Sum	586	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	32	

2002, GOLIŃSKI & WALEROWSKA 2007). Zakres wartości indeksów podobieństwa genetycznego był niewielki od 0,537 między ekotypami dos01 256 i pod02 215 do 0,768 dla dos01 333 i ekotypu pod02 267.

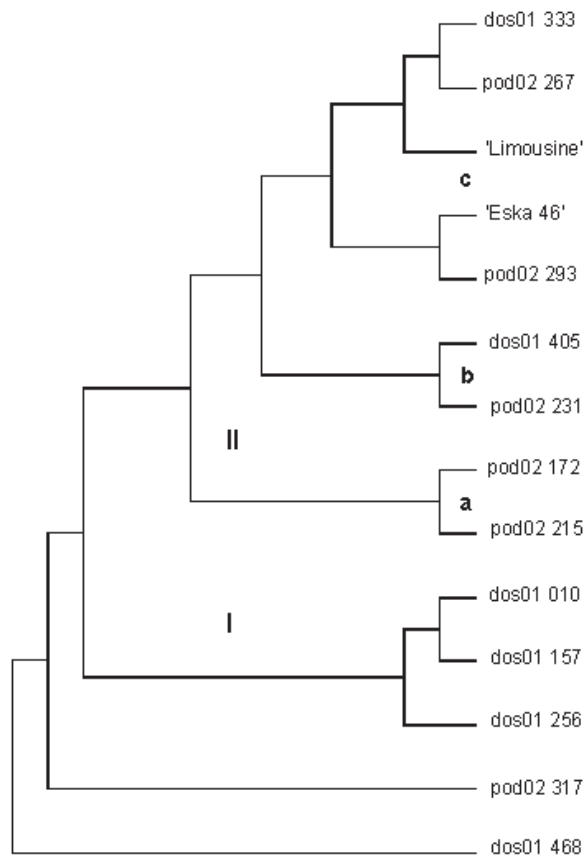
Zastosowana miara podobieństwa genetycznego posłużyła do wykreślenia diagramu drzewa według metody średnich połączeń nieważonych UPGMA, która pozwala na pogrupowanie badanych form na podstawie średnich podobieństw lub odległości między wszystkimi

Tabela 6. Współczynniki podobieństwa genetycznego Dice'a dla badanych form *Poa pratensis*
Table 6. Dice's genetic similarity coefficients of forms of *Poa pratensis* investigated

Formy Forms	dos01 010	dos01 157	dos01 256	dos01 333	dos01 405	dos01 468	pod02 172	pod02 215	pod02 231	pod02 267	pod02 293	pod02 317	'Limousine'	'Eska 46'
dos01 010	1													
dos01 157	0,700	1												
dos01 256	0,682	0,632	1											
dos01 333	0,655	0,689	0,679	1										
dos01 405	0,621	0,626	0,635	0,645	1									
dos01 468	0,590	0,548	0,574	0,630	0,578	1								
pod02 172	0,596	0,648	0,560	0,667	0,612	0,608	1							
pod02 215	0,585	0,627	0,537	0,667	0,571	0,550	0,673	1						
pod02 231	0,651	0,667	0,676	0,686	0,708	0,645	0,683	0,614	1					
pod02 267	0,654	0,670	0,640	0,768	0,663	0,657	0,706	0,708	0,746	1				
pod02 293	0,639	0,624	0,634	0,693	0,627	0,557	0,690	0,680	0,709	0,735	1			
pod02 317	0,637	0,605	0,604	0,660	0,551	0,577	0,610	0,638	0,620	0,612	0,625	1		
'Limousine'	0,640	0,691	0,645	0,709	0,621	0,582	0,642	0,670	0,688	0,739	0,676	0,646	1	
'Eska 46'	0,643	0,648	0,602	0,648	0,651	0,664	0,618	0,616	0,664	0,676	0,717	0,649	0,687	1

możliwymi parami obiektów (DZWONKO 2007; MAŁDZY 2007). Wyodrębniono dwie grupy główne form (I-II), z czego około 64% (9) przydzielono do II skupienia (Ryc. 1). Świadczy to o znacznym pokrewieństwie genetycznym większości ocenianych form. W obrębie II skupienia wydzielono 3 mniejsze podgrupy (a-c). W dwóch pierwszych znalazły się po 2 ekotypy: pod02 215, pod02 172 oraz pod02 231 i dos01 405. Do podgrupy c przydzielono zaś obie odmiany wzorcowe oraz 2 ekotypy z Podlasia (pod02 293 i pod02 267) i obiekt dolnośląski (dos01 333). W I skupieniu głównym znalazły się tylko 3 ekotypy dolnośląskie (dos01 010, dos01 157, dos01 256). Najbardziej odstające okazały się ekotypy: pod02 317 i do02 468, których nie zaklasyfikowano do żadnej grupy. Ekotypy dos01 468 i pod02 317 można więc uznać za najbardziej odmienne genetycznie w porównaniu do pozostałych badanych obiektów wiechliny łąkowej. Fakt odmienności genetycznej w połączeniu z korzystnym układem cech morfologicznych, a w przypadku ekotypu pod02 317 również wysokiej wartości plonu masy nadziemnej, sugeruje możliwość wykorzystania tych form jako materiału wyjściowego w pracach hodowlanych wiechliny łąkowej.

W pracy JOHNSONA i in. (2002) dotyczącej charakterystyki molekularnej RAPD oraz cech plonotwórczych kolekcji USDA złożonej z 228 różnych form wiechliny łąkowej, wykazano również niewielką zmienność genetyczną. Wyżej cytowani badacze do analizy statystycznej uzyskanych wyników wykorzystali, między innymi hierarchiczną analizę skupień. Wykreślone, na podstawie współczynnika podobieństwa Dice'a oraz średnich wartości 17 analizowanych cech, dendrogramy UPGMA ujawniły niewielkie zróżnicowanie cech morfologicznych i plonotwórczych badanych obiektów oraz ich znaczne podobieństwo genetyczne. Większość badanych form wiechliny łąkowej (62%) znalazło się we wspólnej grupie obiektów pokrewnych pod względem genetycznym, co sugeruje, iż unikatowe genotypy miały niewielki udział w charakteryzowanej kolekcji.



Ryc. 1. Dendrogram podobieństwa genetycznego dla badanych form *Poa pratensis* (UPGMA)

Fig. 1. Dendrogram depicting genetic similarity of forms of *Poa pratensis* investigated (UPGMA)

WNIOSKI

– Badane ekotypy wiechliny łąkowej różniły się istotnie między sobą głównie pod względem: zdolności kiełkowania ziarniaków, liczby i długości pędów wegetatywnych oraz szerokości blaszki liściowej. Wśród cech morfologicznych dla tej ostatniej uzyskano najniższą wartość współczynnika zmienności (9,7%), co może świadczyć o jej dużym wyrównaniu i znacznym stopniu odziedziczalności.

– Po względem wielkości pozyskiwanego plonu masy nadziemnej, większość badanych ekotypów *Poa pratensis* nie różniła się istotnie między sobą. Wiąże się to z faktem, iż różnice w plonowaniu wśród form wiechliny łąkowej, w tym odmian pastewnych, ujawniają się dopiero po trzech latach ich użytkowania.

– Stwierdzono istotne różnice w szybkości kiełkowania ziarniaków w zależności od pochodzenia ekotypów, co przełożyło się na wartość wskaźnika MGT. Te z Podlasia kiełkowały z około 3-dniowym (19,5 dni) wyprzedzeniem w stosunku do ekotypów dolnośląskich (21,7 dni). Różnica ta jest prawdopodobnie spowodowana odmiennymi warunkami

siedliskowymi panującymi w tych województwach, a zwłaszcza: rozkładem średnich temperatur powietrza i sumą opadów atmosferycznych.

– Większość badanych ekotypów charakteryzowała się niską zdolnością krzewienia się roślin oraz słabym ich ulistnieniem. W porównaniu do odmian wzorcowych ('Limousine' i 'Eski 46') wykazywały istotnie statystycznie niższą wartość zdolności kiełkowania ziarniaków oraz wykształcały wyraźnie dłuższe pędy wegetatywne.

– Odmiany wzorcowe różniły się istotnie między sobą pod względem większości cech morfologicznych, co wiąże się z odmiennym sposobem ich użytkowania. Ponadto odmiana trawnikowa 'Limousine' wyróżniała się większą stabilnością badanych cech. Można to tłumaczyć bardziej restrykcyjną selekcją materiałów hodowlanych w procesie kreacji odmian trawnikowych.

– Najmniejszy stopień pokrewieństwa genetycznego w stosunku do wszystkich badanych form *Poa pratensis* wykazywały ekotypy dos01 468 i pod02 317. Potwierdziły to wartości indeksów Dice'a i wynik grupowania dendrogramu UPGMA. Ponadto reprezentowały one najbardziej unikatowe genotypy.

– Uzyskane znaczne wartości i stabilność analizowanych cech fenotypowych: długości pędu wegetatywnego, szerokości blaszek liściowych i wielkość ich powierzchni asymilacyjnej oraz skorelowanej z nimi wielkości plonu zielonej i suchej masy sugerują, iż ekotypy dos01 468, pod02 317 mogą być potencjalnie przydatne do hodowli odmian pastewnych.

LITERATURA

- BORAWSKA-JARMOŁOWICZ B. 2006. Zróżnicowanie fenologiczne odmian *Dactylis glomerata* wysianych w dwóch rozstawnych rzędów w 3-letnim okresie użytkowania. – Łąkarstwo w Polsce **9**: 19–32.
- BRODA Z., KURASIAK-POPOWSKA D., KOWALSKA A. & ĆWIKLIŃSKA A. 2008. Analiza podobieństwa genetycznego wybranych gatunków w rodzaju *Secale*. – Biul. IHAR **247**: 65–71.
- CZEMBOR E. 2002. Brunatna plamistość wiechliny łąkowej (*Drechslera poae* (Baudys) Shoemaker). Część II. Hodowla odpornościowa wiechliny łąkowej. – Biul. IHAR **223/224**: 223–236.
- DICE L. R. 1945. Measures of the amount of ecological association between species. – Ecology **26**: 297–302.
- DOMAŃSKI P. J. 2002. Gatunki i odmiany traw w mieszankach na trawniki i boiska sportowe. – Przegląd Naukowy: Inżynieria i Kształtowanie Środowiska **1** (24): 83–105.
- DOMAŃSKI P. J. 2005. Odmiany uprawne traw pastewnych i motylkowatych drobnonasiennych. Trawy i rośliny motylkowate drobnonasienne, s. 45–72. Biznes-Press sp. z o.o., Agro Serwis, IHAR, Warszawa.
- DOMAŃSKI P. J. & STUCZYŃSKA E. 2009. Wiechlina łąkowa – niezbędna na pastwisku. – Top. Agrar. **5**: 104–106.
- DZWONKO Z. 2007. Przewodnik do badań fitosocjologicznych. s. 309. Vademecum Geoboticum. Sorus, Poznań.
- ELLIS R. H. & ROBERTS E. H. 1978. Towards a rational basis of testing seed quality. – W: P. D. HEBBLETHWAITE (red.), Seed Production, s. 606–636. Butterworth, London.
- FALKOWSKI M., KOZŁOWSKI S. & KUKUŁKA I. 1997. Czynniki ograniczające wykorzystanie gatunków i odmian traw w procesie produkcji pasz. – Biul. Oceny Odm. COBORU **29**: 27–37.

- FELSENSTEIN J. 1974. The evolutionary advantage of recombination. – *Genetics* **78**: 737–756.
- FILIP E., SŁOMIŃSKA-WALKOWIAK R. & SZENEJKO M. 2009. Charakterystyka zmienności genetycznej form wiechliny łąkowej (*Poa pratensis* L.), na podstawie wybranych cech morfologicznych oraz za pomocą metody RAPD-PCR. – W: B. NAGANOWSKA, P. KACHLICKI & P. KRAJEWSKI (red.), *Genetyka i genomika w doskonaleniu roślin uprawnych*. **18**, s. 333–34. Instytut Genetyki Roślin, Polska Akademia Nauk, Poznań.
- GOLIŃSKA B., NAROŻNA D., KRÓLICZAK J. & MĄDRZAK C. J. 2008. Zastosowanie techniki RAPD-PCR do analizy porównawczej izolatów *Fusarium avenaceum*. – W: R. SŁOMSKI (red.), *Analiza DNA – teoria i praktyka*, s. 336–342, Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.
- GOLIŃSKI P. & WALEROWSKA M. 2007. Zmienność wybranych cech biologicznych a potencjał nasienny *Poa pratensis* (*Poaceae*). – *Fragm. Florist. Geobot. Polon., Supl.* **9**: 147–154.
- GÓRNIK K. & GRZESIK M. 1998. Genetyczne, siedliskowe i maternalne uwarunkowanie jakości nasion. – *Post. Nauk Roln.* **5**: 35–47.
- GRABOWSKI K., GRZEGORCZYK S. & KWIETNIEWSKI H. 2006a. Przydatność 10 mieszanek traw do obsiewu boisk sportowych. – *Zesz. Nauk. Uniw. Przyrod. we Wrocławiu: Rolnictwo* **545**: 93–102.
- GRABOWSKI K., GRZEGORCZYK S., KWIETNIEWSKI H. & GŁOWACKA A. 2006b. Dobór gatunków i odmian gazonowych do mieszanek na trawniki ozdobne. – *Fragm. Agron.* **3** (91): 222–232.
- GRABOWSKI K., GRZEGORCZYK S., KWIETNIEWSKI H. & KOZIKOWSKI A. 2006c. Walory użytkowe wybranych gatunków i odmian traw przeznaczonych na trawniki rekreacyjne. – *Łąkarstwo w Polsce* **9**: 42–50.
- GRZESIK M., GÓRNIK K. & CHOJNOWSKI M. 1998. Effect of harvest time on the quality of *Callistephus chinensis* Nees. cv Aleksandra seeds collected from different parts of plants. – *Seed Science and Technology* **26**: 263–265.
- HAMPL V., PAVLIČEK A. & FLEGR J. 2001. Construction and bootstrap analysis of DNA fingerprinting-based phylogenetic trees with the freeware program FreeTree: application to trichomonad parasites. – *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **51**: 731–735.
- HARKOT W. & CZARNECKI Z. 1997. Wpływ sposobu przygotowania podłoża na szybkość wschodów roślin polskich odmian traw gazonowych. – *Zesz. Prob. Post. Nauk Roln.* **451**: 263–269.
- HARKOT W., CZARNECKI Z. & POWROŹNIK M. 2006. Wschody i instalacja wybranych odmian traw gazonowych w różnych terminach siewu nasion. – *Zesz. Nauk. Uniw. Przyrod. we Wrocławiu: Rolnictwo* **545**: 111–120.
- ISTA 1999. International Seed Testing Association. – *Seed Science and Technology* **27**, Supplement, s. 333. Zürich, Szwajcaria.
- JOHNSON R. C., JOHNSTON W. J., GOLOB C. T., NELSON M. C. & SORENG R. J. 2002. Characterization of the USD *Poa pratensis* collection using RAPD markers and agronomic descriptors. – *Genet. Resour. Crop. Evol.* **49**: 349–361.
- KASZUBA J. W. & OSTROWSKA A. 1994. Zdolność kilku odmian i rodów wiechliny łąkowej (*Poa pratensis* L.) do wydawania mieszańcowego potomstwa. – *Genetica Pol.* **35** A: 119–126.
- KOZŁOWSKI S. & GOLIŃSKA B. 1999. Perspektywy wiechliny łąkowej. – *Poradnik Gospodarski* **1**: 24.
- KOZŁOWSKI S. & GOLIŃSKI P. 1993. Powierzchnia asymilacyjna liści jako cecha charakterystyczna traw i zbiorowisk łąkowych. – *Rocz. Akad. Roln. w Poznaniu* **251**, *Rolnictwo* **43**: 61–74.
- KOZŁOWSKI S., GOLIŃSKI P. & GOLIŃSKA B. 2000. Pozapaszowa funkcja traw. – *Łąkarstwo w Polsce* **3**: 79–94.
- KOZŁOWSKI S., SZYMKOWIAK P. & SWĘDRZYŃSKI A. 2003. Właściwości biologiczne i chemiczne *Poa pratensis* istotne w kreowaniu odmian hodowlanych użytkowanych pastwiskowo. – *Łąkarstwo w Polsce* **6**: 97–110.

- KRYSZAK A. 2004. Synantropizacja wybranych zbiorowisk łąkowych. – IMUZ Woda-Środowisko-Obszary wiejskie **4-1** (10): 201–208.
- KRYSZAK A., GRYNIA M., KRYSZAK J. & GRZELAK M. 2003. Plonowanie wiechliny łąkowej i tymotki łąkowej nawożonych makro- i mikroelementami. – Biul. IHAR **225**: 91–97.
- LISTA ODMIAN ROŚLIN ROLNICZYCH WPISANYCH DO KRAJOWEGO REJESTRU W POLSCE. 2012. Centralny Ośrodek Badania Odmian Roślin Uprawnych, s. 75. Słupia Wielka.
- LITYŃSKI M. 1982. Biologiczne podstawy nasiennictwa. s. 487. Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa.
- ŁOMNICKI A. 1999. Wprowadzenie do statystyki dla przyrodników. s. 263. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
- MARTYNIAK D. 2003. Cechy biologiczne warunkujące wartość gazonową i nasienną wiechliny łąkowej (*Poa pratensis* L.) w świetle literatury. – Biul. IHAR **228**: 335–344.
- MARTYNIAK J. & ŻYLKA D. 1997. Zmienność współczynnika rozmnażania form dzikich i odmian wybranych gatunków traw. – Zesz. Probl. Post. Nauk Roln. **451**: 183–195.
- MĄDRY W. 2007. Metody statystyczne do oceny różnorodności fenotypowej dla cech ilościowych w kolekcji roślinnych zasobów genowych. – Zesz. Probl. Post. Nauk Roln. **517**: 21–41.
- MICHALIK B. 1994. Zastosowanie markerów DNA w hodowli roślin. – Hodowla Roślin i Nasiennictwo **4-5**: 4–10.
- MIERNICKI W. 1953. Wielecnie trawy pastewne: Nasiennictwo. s. 316. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa.
- MULLER H. J. 1964. The relation of recombination to mutational advance. – Mutat. Res. **1**: 2–9.
- NEI M. & LI W. H. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. – Proc. Nat. Acad. Sci. USA **76**: 5269–5273.
- PAMILO P., NEI M. & LI W. H. 1987. Accumulation of mutations in sexual and asexual populations. – Genet. Res. **43**: 135–146.
- PAVLÍČEK A., HRDÁ Š. & FLEGR J. 1999. FreeTree – freeware program for construction of phylogenetic trees on the basis of distance data and bootstrap/jackknife analysis of the tree robustness. Application in the RAPD analysis of genus *Frenkelia*. – Folia Biol. (Prague) **45**: 97–99.
- PROŃCZUK M. & PROŃCZUK S. 2006. Cechy użytkowe odmian *Poa pratensis* przeznaczonych na trawniki zacienione. – Zesz. Nauk. Uniw. Przyrod. we Wrocławiu: Rolnictwo **545**: 229–239.
- PROŃCZUK M. & PROŃCZUK S. 2008. Ocena przydatności odmian i ekotypów wiechliny łąkowej (*Poa pratensis*) na trawniki niskonakładowe (ekstensywne). – Biul. IHAR **248**: 147–159.
- PROŃCZUK S. & PROŃCZUK M. 2006. Poszukiwanie gatunków i odmian traw na trawniki ekologiczne. – Zesz. Nauk. Uniw. Przyrod. we Wrocławiu: Rolnictwo **545**: 241–248.
- RAJASEKAR S., FEI S. & CHRISTIANS N. E. 2005. Analysis of genetic diversity in rough bluegrass determined by RAPD markers. – Crop. Sci. **46**: 162–167.
- ROGALSKI M., SŁOŃSIŃSKA-WALKOWIAK R., FILIP E. & SZENEJKO M. 2007. Badanie polimorfizmu enzymatycznego wybranych odmian uprawnych *Poa pratensis* (*Poaceae*). – Fragn. Florist. Geobot. Polon., Supl. **9**: 127–135.
- RUEBENBAUER T. & MÜLLER H. W. 1985. Ogólna hodowla roślin. s. 393. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa.
- RUTKOWSKA B. 1984. Atlas roślin łąkowych i pastwiskowych. s. 366. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa.
- RUTKOWSKA B. & HEMPEL A. 1986. Trawniki. s. 248. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa.

- RUTKOWSKA B., HARKOT W. & JANICKA M. 1999. Biologia traw łąkowych w polskich pracach badawczych. – Łąkarstwo w Polsce **2**: 119–128.
- RUTKOWSKI L. 2002. Trawy niżu. – W: L. FREY (red.), Polska księga traw, s. 167–185. Instytut Botaniki im. W. Szafera, Polska Akademia Nauk, Kraków.
- RUTKOWSKI L. 2007. Trawy niżu. – W: L. FREY (red.), Księga polskich traw, s. 189–202. Instytut Botaniki im. W. Szafera, Polska Akademia Nauk, Kraków.
- SNEATH P. H. A. & SOKAL R. R. 1973. Numerical taxonomy – the principles and practice of numerical classification, (W. H. Freeman, San Francisco).
- SZENEJKO M. 2007. Masa i wielkość nasion a zdolność kiełkowania wybranych form *Poa pratensis* L. – Łąkarstwo w Polsce **10**: 173–183.
- SZENEJKO M. 2009. Ocena przydatności wybranych ekotypów *Poa pratensis* L. do rekultywacji terenów zdegradowanych. – W: S. STANKOWSKI & K. PACEWICZ (red.), Tereny zdegradowane i rekultywowane – możliwości ich zagospodarowania, s. 185–191. P.P.H. Zapol Dmochowski, Sobczyk Sp. j., Szczecin.
- SZENEJKO M. 2010. Zróżnicowanie cech morfologicznych oraz plonu masy nadziemnej wybranych ekotypów podlaskich *Poa pratensis* w początkowym etapie ich rozwoju. – Łąkarstwo w Polsce **13**: 167–181.
- SZENEJKO M. & MAJTKOWSKI W. 2008. Zmienność cech biologicznych wybranych form *Poa pratensis* przydatnych do hodowli odmian gazonowych. – Łąkarstwo w Polsce **11**: 201–210.
- SZENEJKO M., FILIP E. & SŁOMIŃSKA-WALKOWIAK R. 2009. Związek pomiędzy warunkami siedliskowymi a stopniem zróżnicowania genetycznego ekotypów *Poa pratensis* L. – W: B. NAGANOWSKA, P. KACHLICKI & P. KRAJEWSKI (red.), Genetyka i genomika w doskonaleniu roślin uprawnych, s. 343–350. Instytut Genetyki Roślin, Polska Akademia Nauk, Poznań.
- TARKOWSKI CZ. 1974. Genetyka, hodowla roślin, nasiennictwo. s. 412. Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa.
- VAN DIJK G. E. 1971. Breeding of apomictic grasses. Proceedings of the 1st International Course on Plant Breeding, Wageningen, s. 7.
- WILLIAMS J. G. K., KUBELIK A. R., LIVAK K. J., RAFALSKI J. A. & TINGEY S. V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. – Nucleic Acids Res. **18**(22): 6531–6535.
- ZARZYCKI K., TRZCIŃSKA-TACIK H., RÓŻAŃSKI W., SZELĄG Z., WOLEK J. & KORZENIAK U. 2002. Ecological indicator values of vascular plants of Poland. s. 183. W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences, Kraków.
- ŻUREK G., PROŃCZUK S. & ŻYŁKA D. 2001. Ocena przydatności ekotypów wiechliny łąkowej (*Poa pratensis* L.) do warunków intensywnego użytkowania trawnikowego. – Zesz. Probl. Post. Nauk Roln. **474**: 139–143.
- ŻYŁKA D. & PROŃCZUK S. 1998. Zmienność cech morfologicznych i biologicznych ekotypów wiechliny łąkowej wybranych z zasobów genowych IHAR na użytkowanie trawnikowe. – Zesz. Probl. Post. Nauk Roln. **463**: 499–507.

SUMMARY

Poa pratensis is an apomictic grass species with a considerable ecological amplitude and possibilities of multiple use in which a clear narrowing of plant variability is being observed with regard to their performance traits. In breeding practice, a considerable variability of traits of the initial material in Kentucky bluegrass can be ensured by ecotypes. The study included 12 Kentucky bluegrass ecotypes from the

areas of the Podlasie Province and the Lower Silesia Province and 2 reference cultivars being different in the form of their use ('Limousine' and 'Eska 46'). Variability at the phenotypic level was analysed based, among others, on a pot experiment, while that at the molecular level based on evaluation of RAPD polymorphism.

The Kentucky bluegrass ecotypes being examined differed between each other primarily in respect of: germination capacity of seeds, average number and length of vegetative shoot and width of leaf blade. Among these morphological traits, the lowest value of the coefficient of variation (9.7%) was obtained for the latter one, which can be evidence of its large equalisation and substantial degree of heritability.

From among 69 RAPD primers, 8 ones were selected and a total of 244 amplification products were obtained, among which a high level of polymorphism (88.9%) and specificity (32) was observed. The Dice genetic similarity matrix determined and the UPGMA dendrogram drawn based on it suggest that the ecotypes being evaluated were genetically similar to a large extent. The mean value of genetic similarity coefficient was determined at approximately 0.7. The lowest degree of genetic relatedness in relation to all examined *Poa pratensis* forms showed the following ecotypes: dos01 468 and pod2 317. The obtained substantial values and stability of phenotypic traits being analysed suggest that these ecotypes can be potentially suitable for the breeding of fodder cultivars.

Przyjęto do druku: 04.09.2013 r.