



Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego
w Warszawie
Instytut Nauk Ogrodniczych

mgr inż. Przemysław Marciniak

**Wybrane aspekty określania stopnia
mieszanowości oraz mikrorozmnażania
Hippeastrum sp.**

The selected aspects of hybridity degree determination and
micropropagation of *Hippeastrum* sp.

Rozprawa doktorska

Doctoral thesis

Rozprawa doktorska wykonana pod kierunkiem
dr hab. Dariusza Sochackiego
Samodzielny Zakład Roślin Ozdobnych, SGGW

Promotor pomocniczy
dr inż. Karolina Nowakowska

Warszawa, 2024

Za trud, cierpliwość, merytoryczną i metodyczną pomoc w pisaniu pracy
oraz mentalne wsparcie w najgorętszych okresach doktoratu,

Chciałbym podziękować

Panu dr hab. Dariuszowi Sochackiemu

Opiekunowi naukowemu mojej pracy doktorskiej

Chciałbym również podziękować

Pani dr inż. Karolinie Nowakowskiej

Opiekunowi pomocniczemu mojej pracy doktorskiej.

Specjalne podziękowania składam na ręce

Pani prof. dr hab. Małgorzaty Podwyszyńskiej

dr hab. Agnieszki Marasek-Ciołakowskiej, prof. IO oraz mgr Urszuli Kowalskiej

z Zakładu Biologii Stosowanej Instytutu PIB w Skierniewicach

za życzliwą pomoc oraz cenne wskazówki udzielone

podczas wykonywania analiz cytometrycznych i mikroskopowych.

Kieruję również podziękowania dla **Pani mgr Katarzyny Malewicz** za wszelką pomoc laboratoryjną.

Nie zapominam również o **mgr inż. Małgorzacie Zajączkowskiej,**

na której pomoc zawsze mogłem liczyć . . .

Pragnę wyrazić wdzięczność również wszystkim **Tym,** którzy przyczynili się do powstania tej pracy.

Dziękuję . . .

Oświadczenie promotora rozprawy doktorskiej

Oświadczam, że niniejsza rozprawa została przygotowana pod moim kierunkiem i stwierdzam, że spełnia warunki do przedstawienia jej w postępowaniu o nadanie stopnia naukowego doktora.

Data 27/09/2024..... Czytelny podpis promotora Dariusz Sodziński

Oświadczenie autora rozprawy doktorskiej

Świadom odpowiedzialności prawnej, w tym odpowiedzialności karnej za złożenie fałszywego oświadczenia, oświadczam, że niniejsza rozprawa doktorska została napisana przez mnie samodzielnie i nie zawiera treści uzyskanych w sposób niezgodny obowiązującymi przepisami prawa, w szczególności z ustawą z dnia 4 lutego 1994 r. o prawie autorskim i prawach pokrewnych (tj. z dnia 28 października 2022 r., Dz.U. z 2022 r. poz. 2509 ze zm.)

Oświadczam, że przedstawiona rozprawa nie była wcześniej podstawą żadnej procedury związanej z uzyskaniem stopnia naukowego doktora.

Oświadczam ponadto, że niniejsza wersja rozprawy jest identyczna z załączoną wersją elektroniczną.

Przyjmuję do wiadomości, że rozprawa doktorska poddana zostanie procedurze antyplagiatowej.

Data 24.09.2024..... Czytelny podpis autora rozprawy Przemysław Kaniński

Streszczenie

Zwartnica (*Hippeastrum* sp.) jest jednym z najchętniej uprawianych geofitów, zarówno na kwiat cięty, jak i jako roślina doniczkowa, a jego popularność wciąż rośnie. W niniejszej pracy doktorskiej podjęto badania mające na celu ocenę zróżnicowania morfologicznego i genetycznego 15 klonów i ich form wyjściowych z programu hodowlanego SGGW rozpoczętego w 2018 r. oraz udoskonalenie metody mikrorozmnażania *Hippeastrum*. Badania obejmowały ocenę fenotypową, określenie liczby chromosomów, poziomu ploidalności i wielkości genomu, określenie liczby długości aparatów szparkowych, zbadanie stopnia pokrewieństwa klonów oraz ich form wyjściowych (dwóch klonów *H. ×chmielii* oraz trzech odmian *H. hybridum*) przy użyciu markerów RAPD i ISSR. W celu udoskonalenia metody mikrorozmnażania przeprowadzono eksperymenty nad wpływem nowych regulatorów wzrostu, w tym karrikininy 1 (KAR₁) i *meta*-Topoliny (mT), a także dwóch wybranych biostymulatorów Goëmar Goteo i Agro-Sorb® Folium na wydajność samego mikrorozmnażania jak i aklimatyzacji mikrosadzonek i ich dalszej uprawy. Dodatkowo przeprowadzono analizę zawartości skrobi i fruktanów w cebulach form rodzicielskich i ich potomstwa. Przeprowadzona analiza fenotypowa z wykorzystaniem deskryptora UPOV i katalogu barw RHS pozwoliła opisać wszystkie 20 genotypy, a także wytypować trzy obiecujące klony: 0037-13, 0021-10 i 0023-11, które wyróżniają się względem form matecznych *H. ×chmielii*. Badania z wykorzystaniem metod barwienia chromosomów metafazowych DAPI (4',6-diamidino-2-fenylindolu) oraz Feulgena i cytometrii przepływowej pozwoliły na określenie liczby chromosomów i poziomu ploidalności badanej populacji. Wytypowano jednego diploida ($2n = 2x = 22$), cztery triploidy ($2n = 3x = 33$) i piętnaście tetraploidów ($2n = 4x = 44$). Wielkości genomu badanej populacji mieściły się w przedziale 32,63 - 62,23 pg. Analiza wielkości genomu odmiany 'Gervase' za pomocą cytometru pozwoliła na wykrycie formy miksploidalnej. Pomiar długości i liczby aparatów szparkowych wskazały, że aparaty szparkowe mogą być markerem morfologicznym poziomu ploidalności. Wykorzystanie markerów RAPD i ISSR potwierdziło wysokie podobieństwo genetyczne form wyjściowych i klonów potomnych w przedziale 74 - 85%. Biostymulatory Goteo i Folium dodawane do pożywek w mikrorozmnażaniu *Hippeastrum*, wpływają na wzrost masy roślin, liczby korzeni, długości liści i korzeni i mogą być alternatywą dla regulatorów wzrostu. Biostymulator Goteo w warunkach aklimatyzacji roślin powodował wzrost liczby i długości korzeni, a po 7 tygodniowej uprawie wzrost masy roślin i liczby korzeni. Folium powodował wzrost masy roślin i liczby liści. KAR₁ istotnie wpływała na wzrost liczby korzeni u większości genotypów *in vitro* oraz *ex vitro*. Zastosowanie KAR₁ podczas aklimatyzacji w blisko połowie przypadków skutkowało zwiększeniem liczby korzeni w porównaniu do Goteo. *Meta*-Topolina dodawana do pożywki *in vitro* wykazywała niewielki wpływ na współczynnik namnażania cebul i wyraźnie ograniczała wzrost korzeni, a równocześnie hamowała wpływ działania KAR₁. Analiza zawartości skrobi w cebulach wykazała większą jej akumulację względem obu form rodzicielskich u 6 z 15 genotypów potomnych, a w przypadku fruktanów u 8 genotypów. Wykazano również wpływ KAR₁ na zwiększenie zawartości cukrów w cebulach *Hippeastrum*. Wytypowane obiecujące klony *Hippeastrum* mogą potencjalnie stać się nowymi polskimi odmianami. Uzyskane wyniki pozwalają zwiększyć wydajność procesu rozmnażania *Hippeastrum* nowoczesnymi metodami, ukierunkować je na stosowanie biopreparatów oraz zwiększyć jakość uzyskanego materiału nasadzeniowego, w tym o zwiększonej zawartości cukrów zapasowych.

Słowa kluczowe: biostymulatory, chromosomy, *ex vitro*, fruktany, *in vitro*, karrikina, klon hodowlany, poziom ploidalności, roślinne regulatory wzrostu, skrobia

Abstract

Hippeastrum (*Hippeastrum* sp.) is one of the most widely cultivated geophytes, both for cut flowers and as a potted plant, and its popularity continues to grow. In this dissertation, research was undertaken to evaluate the morphological and genetic diversity of 15 clones and their parental forms from the SGGW breeding program launched in 2018, and to improve the method of micropropagation of *Hippeastrum*. The study included phenotypic evaluation, determination of chromosome number, ploidy level and genome size, determination of the number and length of stomata, examination of the degree of relatedness of clones and their parental forms (two clones of *H. ×chmielii* and three cultivars of *H. hybridum*) using RAPD and ISSR markers. In order to improve the micropropagation method, experiments were carried out on the effects of new growth regulators, including Karrikin 1 (KAR₁) and *Meta*-Topolin, as well as two selected biostimulants Goëmar Goteo and Agro-Sorb® Folium, on the performance of micropropagation itself as well as the acclimatization of plantlets and their subsequent cultivation. In addition, an analysis of the starch and fructan content in the bulbs of the parental forms and their progeny was carried out. Phenotypic analysis using the UPOV descriptor and the RHS color catalog made it possible to describe all 20 genotypes, as well as to select three promising clones: 0037-13, 0021-10 and 0023-11, which stand out relative to the maternal forms of *H. ×chmielii*. Studies using DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) and Feulgen's metaphase chromosome staining, and flow cytometry methods allowed us to determine the number of chromosomes and the ploidy level of the studied population. One diploid ($2n = 2x = 22$), four triploids ($2n = 3x = 33$) and fifteen tetraploids ($2n = 4x = 44$) were selected. The genome sizes of the sample ranged from 32.63 - 62.23 pg. Analysis of the genome size of the 'Gervase' cultivar using a cytometer allowed for detection of a mixoploid form. Measurements of the length and number of stomata indicated that stomata could be a morphological marker of ploidy level. The use of RAPD and ISSR markers confirmed the high genetic similarity of the initial forms and progeny clones in the range of 74 - 85%. Biostimulants Goteo and Folium added to nutrient solutions in *Hippeastrum* micropropagation, affect plant weight growth, roots number, leaf and root length and can be an alternative to growth regulators. Goteo biostimulant, under plant acclimatization conditions, caused an increase in the quantity and length of roots, and after 7 weeks of cultivation, growth in plant weight and number of roots. Folium usage led to an increase in plant weight and quantity of leaves. KAR₁ significantly increased roots number in most *in vitro* and *ex vitro* genotypes. Application of KAR₁ during acclimation resulted in higher root number in nearly half of the cases compared to Goteo. *Meta*-Topolin added to the *in vitro* medium showed little effect on the bulb multiplication rate and markedly reduced root growth, while inhibiting the effect of KAR₁. Analysis of the starch content of the bulbs showed higher starch accumulation relative to both parental forms in 6 of the 15 progeny genotypes, and for fructans in 8 genotypes. The effect of KAR₁ on increasing sugar level in *Hippeastrum* bulbs was also demonstrated. The selected promising *Hippeastrum* clones could potentially become new Polish cultivars. The obtained results make it possible to increase the efficiency of the *Hippeastrum* propagation process by modern methods, to direct it to the use of biopreparations, and to improve the quality of the obtained planting material, including with increased content of reserve sugars.

Keywords: biostimulants, breeding clone, chromosomes, *ex vitro*, fructans, *in vitro*, karrikin, plant growth regulators, ploidy level, starch

Spis treści

1. Wstęp	13
2. Przegląd literatury	15
2.1. Rodzaj <i>Hippeastrum</i> – systematyka, występowanie oraz znaczenie	15
2.2. Historia hodowli <i>Hippeastrum</i>	18
2.3. Dzisiejsza hodowla <i>Hippeastrum</i>	21
2.4. Morfologia kwiatów i biologia zapylenia	23
2.4.1. Trendy hodowlane	28
2.5. Markery morfologiczne	30
2.5.1. Deskryptor UPOV	30
2.5.2. Aparaty szparkowe	32
2.6. Markery genetyczne i molekularne	33
2.6.1. Markery genetyczne	33
2.6.2. Markery molekularne - RAPD oraz ISSR	35
2.7. Mikrorozmnażanie <i>Hippeastrum</i>	39
2.8. Biostymulatory	41
2.9. Regulatory wzrostu i rozwoju roślin	45
2.9.1. Karrikina (KAR)	46
2.9.2. <i>Meta</i> -Topolina (mT)	48
2.10. Znaczenie węglowodanów w rozwoju geofitów	49
3. Cel pracy	52
4. Materiał i metody	54
4.1. Materiał roślinny	54
4.2. Analiza fenotypowa badanych genotypów	59
4.3. Określenie liczby chromosomów oraz poziomu ploidalności	62
4.3.1. Określanie liczby chromosomów	62
4.4. Analizy cytometryczne	63
4.5. Mikrorozmnażanie <i>Hippeastrum</i>	64
4.5.1. Ocena wpływu biostymulatorów na rozmnażanie, cebulowanie oraz ukorzenianie badanych genotypów	65
4.5.2. Ocena wpływu regulatorów wzrostu na rozmnażanie, cebulowanie oraz ukorzenianie badanych genotypów	65

4.6.	Analiza markerów fenotypowych – aparaty szparkowe	66
4.7.	Określenie stopnia pokrewieństwa markerami RAPD oraz ISSR	66
4.7.1.	Izolacja DNA	66
4.7.2.	Reakcje PCR	67
4.7.3.	Elektroforeza.....	69
4.8.	Aklimatyzacja i uprawa	69
4.8.1.	Ocena wpływu biostymulatorów i KAR ₁ na wybrane cechy mikrosadzonek po aklimatyzacji <i>ex vitro</i>	69
4.8.2.	Ocena wpływu nawożenia, biostymulacji i traktowania KAR ₁ na wybrane cechy roślin po 7 tygodniach uprawy, po zaaklimatyzowaniu mikrosadzonek..	70
4.9.	Analizy zawartości skrobi i fruktanów	71
4.10.	Opracowanie wyników	73
5.	Wyniki.....	75
5.1.	Analiza fenotypowa	75
5.2.	Poziom ploidalności oraz wielkość genomu.....	80
5.3.	Ocena wpływu biostymulatorów na wybrane parametry efektywności mikrorozmnażania badanych genotypów	85
5.4.	Ocena wpływu regulatorów wzrostu na wybrane parametry efektywności mikrorozmnażania badanych genotypów	95
5.5.	Ocena liczby i długości aparatów szparkowych badanych genotypów	105
5.6.	Ocena stopnia pokrewieństwa metodami RAPD i ISSR	108
5.7.	Ocena wpływu biostymulatorów i KAR ₁ na wybrane cechy mikrosadzonek po aklimatyzacji <i>ex vitro</i>	111
5.8.	Ocena wpływu nawożenia, biostymulacji i traktowania KAR ₁ na wybrane cechy roślin po 7 tygodniach uprawy	120
5.9.	Analizy zawartości skrobi i fruktanów	133
5.9.1.	Wpływ traktowania nawozem, biostymulatorami oraz KAR ₁ na zawartość skrobi i fruktanów w cebulach <i>Hippeastrum</i> po 7 tygodniach uprawy	133
6.	Dyskusja.....	146
7.	Podsumowanie i wnioski	176
8.	Literatura.....	180

1. Wstęp

Hippeastrum Herb. (zwartnica) to znana roślina cebulowa, ceniona za swój urok od wieków, a pierwsze doniesienia o niej pojawiły się w Europie już w XVIII wieku. Na przestrzeni lat zaobserwowano wzrost zainteresowania *hippeastrum*, a także innymi roślinami z grupy ozdobnych geofitów, co w konsekwencji spowodowało zwiększenie arealu ich uprawy. Roślinie tej przypisywano wiele znaczeń, takich jak dumę, ale i próżność, a w epoce wiktoriańskiej symbolizowała silną i piękną kobietę. Największą popularnością z całego rodzaju *Hippeastrum* cieszy się *Hippeastrum hybridum* (zwartnica mieszańcowa). Duże barwne kwiaty, o mniej bądź bardziej zredukowanym okwiecie, zawsze przyciągają uwagę w okresie ich naturalnego kwitnienia. W Europie Środkowej przypada on zimą. Kwitnieniem zwartnicy można sterować tak, aby kwiaty doniczkowe i cięte uzyskiwać przez cały rok. Obecnie reprodukcja cebul *hippeastrum* odbywa się w Ameryce Południowej, w RPA oraz Niderlandach. W samych Niderlandach powierzchnia uprawy *hippeastrum* wzrosła z 41 ha w 2020 do 52 ha w 2023 roku, a liczba sprzedanych kwiatów ciętych wzrosła z 39 mln sztuk w 2004 roku do 50 mln w 2012 roku. Aktualne dane z giełd holenderskich mówią o sprzedanych blisko 32 mln sztuk w 2022 roku, jednak całkowita ich sprzedaż jest na pewno duża większa. Na światowych rynkach dostępne są zarówno kwiaty cięte, kwitnące rośliny doniczkowe do dekoracji wnętrz, jak i cebule w stanie spoczynku. Niewątpliwie, zarówno na świecie jak i w Polsce, popyt na *hippeastrum* rośnie. W Skandynawii roślina ta zaczyna zastępować poinsecję jako kwiat Bożego Narodzenia, a kwiaty cięte *hippeastrum* są coraz chętniej wykorzystywane przez florystów w aranżacjach. Zatem wszystko wskazuje na to, że tendencja wzrostowa będzie się utrzymywać.

Wzrost zainteresowania rośliną zawsze przyczynia się do rozwoju hodowli twórczej. Hodowcy od zawsze starali się uzyskać rośliny bardziej dekoracyjne, inne pod względem kształtu czy barwy kwiatów lub też odporniejsze na choroby i szkodniki niż formy wyjściowe. W przypadku *Hippeastrum* ponad 200 letnia hodowla przyczyniła się do powstania setek odmian, które przewyższają poprzednie wartościowymi cechami. Tworzenie nowych odmian napędzane jest zapotrzebowaniem konsumentów na nowości. Hodowla *Hippeastrum* jest lub była prowadzona intensywnie na całym świecie, między innymi w Anglii, Niderlandach, USA, Indiach, Izraelu, Japonii, Brazylii oraz RPA. W Polsce w Szkole Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie również udało się uzyskać w 1993 roku mieszańce, które zostały nazwane na cześć hodowcy - Henryka

Chmiela - zwartnicą Chmiela (*H. ×chmielii* Chm.). Mimo uzyskania ciekawych cech wyróżniających się na tle całego rodzaju *Hippeastrum*, takich jak brak wyraźnego spoczynku roślin, kwiaty o zdecydowanie mniejszej średnicy czy wyjątkowo wysoki współczynnik tworzenia cebul przybyszowych, nie były one na tyle dekoracyjne, aby dorównać odmianom *H. hybridum*. Dlatego 25 lat później sprawdzono możliwości dalszego generatywnego rozmnażania dwóch klonów mieszańca i zostały one wykorzystane do dalszej hodowli twórczej. Uzyskane klony zostały poddane szczegółowej ocenie fenotypowej, badaniom genetycznym oraz szeregowi doświadczeń związanych z udoskonaleniem procedury rozmnażania *in vitro* i wczesnej uprawy *ex vitro*. Wybrane klony są też intensywnie rozmnażane i przygotowywane do ewentualnej rejestracji, jako pierwsze polskie odmiany zwartnicy pochodzące od *H. ×chmielii*.

Warto podkreślić, że roślinne kultury *in vitro* – zwłaszcza w kontekście rozmnażania klonalnego - znalazły niezwykle istotne miejsce w ogrodnictwie ozdobnym i wręcz zrewolucjonizowały proces rozmnażania roślin na skalę globalną. Możliwość otrzymywania dużych ilości materiału identycznego genetycznie, wyrównanego, o kontrolowanej zdrowotności i w stosunkowo krótkim czasie, przyczyniły się do ogromnego wzrostu zapotrzebowania na materiał rozmnażany techniką *in vitro*. Dotyczy to także wielu roślin cebulowych, bulwiastych i kłączowych, w tym *Hippeastrum*. Samo mikrorozmnażanie może przyspieszyć etap uzyskania odpowiedniej liczby cebul, potrzebnej do wprowadzenia na rynek nowej odmiany, a bardziej zaawansowane techniki *in vitro* mogą być wykorzystane w samym procesie hodowli. Dzięki technikom *in vitro* możliwe jest pokonywanie barier krzyżowalności w krzyżowaniach międzygatunkowych i/lub międzyrodzajowych, a w procesach poliploidyacji technika ta pozwala uzyskać optymalne warunki dla eksplantatów poddanych działaniu antymitotyków. Okazuje się także, iż sprawdzone i opracowane procedury mikrorozmnażania stale wymagają udoskonalień i innowacji. Związane to jest z pojawianiem się nowych regulatorów wzrostu lub też koniecznością sprawdzenia proekologicznych możliwości zastąpienia tradycyjnych regulatorów wzrostu preparatami z grupy biostymulatorów.

W związku z rosnącym znaczeniem *hippeastrum* na rynku kwaciarskim, potrzebami ciągłego wzbogacania asortymentu o nowości odmianowe oraz udoskonaleniem techniki jego mikrorozmnażania, podjęcie badań w tym zakresie wydaje się w pełni uzasadnionym.

2. Przegląd literatury

2.1. Rodzaj *Hippeastrum* – systematyka, występowanie oraz znaczenie

Nazwa rodzajowa - *Hippeastrum* jest połączeniem dwóch greckich słów: *hippeus* oznaczającego 'kawalerzystę' oraz *astron*, co przetłumaczyć można, jako 'gwiazda' (Bryan 2002, Ilczuk 2015a). Często jednak roślina przyjmuje inne nazwy ze względu na różnorodność kształtów, barw oraz wielkości okwiatu. W języku perskim *hippeastrum* nazywane jest – Nasrin - co oznacza dziką różę. „Butterfly Amaryllis”, „Green Amaryllis”, „Lily of the Palace” czy „Mexican Lily” to niektóre przykłady nazw, pod którymi znane są te rośliny w różnych krajach (Okubo 1993, Hubner 2014). W Polsce *hippeastrum* jest określane zwartnicą - ze względu na charakterystyczną budowę cebuli złożoną z bardzo ściśle przylegających do siebie łusek (Szlachetka 2000, Ilczuk 2015a).

Aktualna systematyka dla rodzaju *Hippeastrum* wygląda następująco:

Królestwo: *Plantae*

Gromada: *Tracheophyta*

Klasa: *Equisetopsida*

Podklasa: *Magnoliidae*

Rząd: *Asparagales*

Rodzina: *Amaryllidaceae*

Podrodzina: *Amaryllidoideae*

Rodzaj: *Hippeastrum*

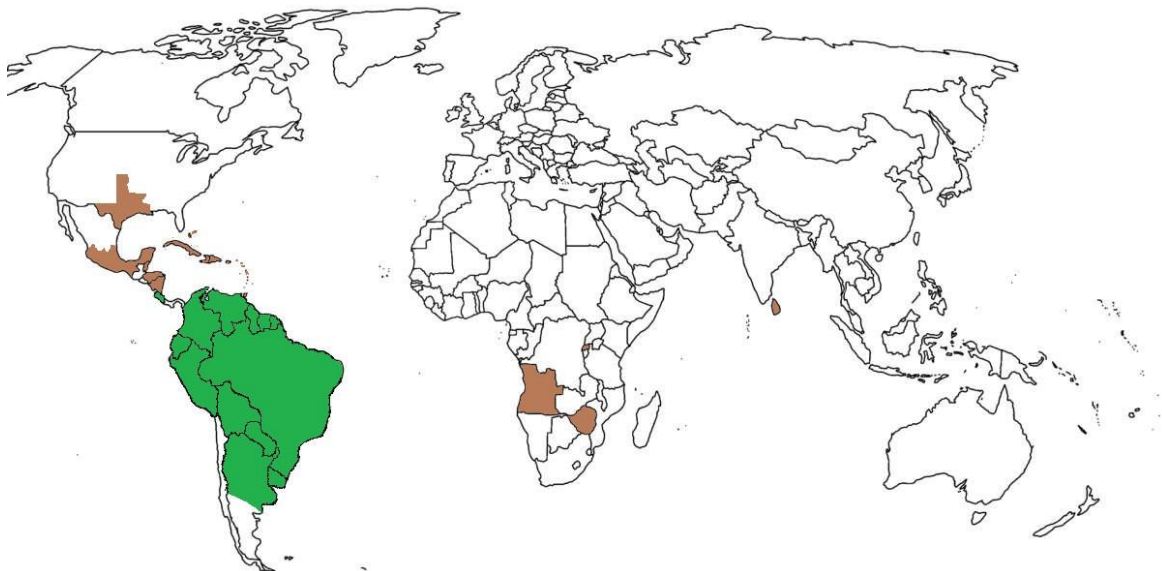
(wg POWO 2024)

Obecny rodzaj *Hippeastrum* należący do rodziny *Amaryllidaceae*, liczący od 90 do 111 gatunków był włączony do rodzaju *Amaryllis* aż do XIV Międzynarodowego Kongresu Botanicznego, który odbył się w 1987 roku. Dziś – w związku rozwojem biologii molekularnej i postępami w filogenetyce – udowodniono mniejsze pokrewieństwo obu rodzajów botanicznych i je wyodrębniono (Okubo 1993, Meerow i in. 2000, Wang i in. 2018, Marasek-Ciolakowska i in. 2021, POWO 2024).

Dodatkowo - co ciekawe - możemy wydzielić dwie grupy gatunków w obrębie rodzaju *Hippeastrum*: zimozielone, takie jak *H. papilio* czy *H. aulicum* oraz nie

zimozielone, których przykładami mogą być *H. petiolatum* czy odmiany *H. hybridum*. Gatunki nie zimozielone muszą przejść suchy spoczynek wywołany okresowym brakiem wody. Zaobserwowano, że brak spoczynku może być powodem zahamowania kwitnienia. Gatunki zimozielone w okresie spoczynku są podlewane, ale oszczędnie. Na początku wiosny przyjęło się wznawiać regularne podlewanie obu grup gatunków (PBS 2024).

Wykorzystując wiedzę opartą na badaniach molekularnych, filogenetycznych, zmienności morfologicznej i cytogenetycznej, możemy określić pokrewieństwo tego rodzaju z innymi przedstawicielami tej rodziny. Obecnie rodzaj *Hippeastrum* jest blisko spokrewniony z rodzajami: *Tocantinia*, *Zephyranthes*, *Haylockia*, *Habranthus*, *Sprekelia*, *Eithea*, *Myostemma*, *Traubia*, *Eremolirion*, *Rhodolirium*, *Phycella*, *Placea* (Garcia i in. 2019, PBS 2024).



Rycina 1. Występowanie rodzaju *Hippeastrum* na świecie, kolorem zielonym – zaznaczono naturalne występowanie, kolorem brązowym – regiony występowania roślin zawleczonych lub introdukowanych.

(Schemat własny wg POWO 2024)

Rośliny te występują w obu Amerykach oraz Afryce i Oceanii (Ryc.1). Naturalnym miejscem występowania rodzaju *Hippeastrum* jest tylko Ameryka Południowa, a konkretniej tereny dzisiejszych: Argentyny, Boliwii, Brazylii, Kolumbii, Kostaryki, Ekwadoru, Gujany Francuskiej i Paragwajskiej, Surinamu, Urugwaju i Wenezueli. Ponadto – jako gatunki zawlezione lub introdukowane - występują również

w Angoli, na Bahamach, w Belize, na Wyspach Karoliny, Kajmanach, w Archipelagu Chagos, na Wyspach Cooka, Kubie, Dominikanie, nad Zatoką Gwinejską, na Haiti, Hawajach, Hondurasie, Jamajce, Wyspach Zawietrznych, w Luizjanie, Archipelagu Marynary, na Wyspach Marshalla, Mauritiusie, Nauru, w Meksyku, Nowej Kaledonii, Nikaragui, na Niue, Wyspach Norfolk, Puerto Rico, Rodrigues, w Rwandzie, na Seszelach, Sri Lance, w Teksasie, Trynidad i Tobago, Antylach Wenezuelskich oraz w Zimbabwe (Meerow i Snijman 1998, Bryan 2002, Wang i in. 2018, Garcia i in. 2019, POWO 2024).

Reprodukcja cebul hipeacestrum odbywa się głównie w Ameryce Południowej (m.in. w Brazylii z roczną produkcją 17 milionów sztuk – Tombolato i in. 2013), w RPA oraz Niderlandach. W RPA hipeacestrum, który jest tam gatunkiem introdukowanym, stanowi największy areał upraw. Cebule są najpierw namnażane w kulturach *in vitro* i hartowane w szklarniach, a potem reprodukowane w polu (Duncan 2013). Dane holenderskie mówią o wzroście areału uprawy hipeacestrum w tym kraju z 41 ha w 2020 do 52 ha w 2023 roku (BKD 2023).

Rośliny doniczkowe oraz kwiaty cięte stanowią ważną gałąź przemysłu kwiaciarskiego na świecie i w Polsce, a zainteresowanie nimi zwiększa się na przestrzeni lat. W przypadku *Hippeastrum*, w 2004 roku w samych Niderlandach sprzedano 39 mln sztuk kwiatów ciętych (Krause 2004, Jamil i in. 2016), a 8 lat później liczba ta wzrosła do 50 mln (Ilczuk 2015a). Dane z rocznika AIPH (2023) mówią o sprzedanych blisko 32 mln sztuk w 2022 roku na giełdach holenderskich, jednak – przy wysokim wzroście sprzedaży pozagiełdowej - całkowita sprzedaż jest na pewno duża większa. W sprzedaży dostępne są kwiaty cięte, kwitnące rośliny doniczkowe do dekoracji wnętrz oraz cebule w stanie spoczynku (Kuehny i Miller 2008, Vazquez i in. 2015, Jamil i in. 2016, Wang i in. 2018), czasem także zabezpieczone mieszaniną kolorowych wosków (Fot. 1). Zabieg ten nie tylko przykrywa suchą, spękaną i brązową łuskę, ale także chroni cebulę przed uszkodzeniami mechanicznymi lub utratą wilgoci. Cebule przed nałożeniem warstwy wosku są poddawane chłodzeniu przez około 8-9 tygodni, a następnie, po co najmniej



Fot. 1. Woskowana cebula *H. hybridum* (zdjęcie własne)

6 tygodniach w temperaturze 21°C, zakwitają. Można je umieścić w przezroczystych plastikowych bądź szklanych naczyniach lub ustawić w ulubionym przez siebie miejscu (Sprzączka 2014).

Na rynku kwaciarskim dominują odmiany pochodzące od *Hippeastrum hybridum* i te są najpowszechniej dostępne w sprzedaży. Największym zainteresowaniem (kwiaty oraz cebule w doniczkach) cieszą się w grudniu, przed Świętami Bożego Narodzenia oraz Nowym Rokiem ze względu na swoje różnorodne kwiaty oraz dobrą trwałość po ścięciu (Krause 1991, Ephrath i in. 2001). *Hippeastrum* znalazło zastosowanie w bukiciarstwie i florystyce, jako kwiat cięty. Zbiór kwiatów odbywa się stopniowo, ponieważ rośliny nie kwitną w tym samym czasie i kwiaty otwierają się sekwencyjnie (Chmiel i Ilczuk 2002). Na eksport ścina się szypuły z nieotwartymi pąkami kwiatowymi (Krause 2004).

2.2. Historia hodowli *Hippeastrum*

Pierwsze doniesienia o hodowli rodzaju *Hippeastrum* w Europie pochodzą z XVIII wieku. Zapoczątkowało ją sprowadzenie w 1769 roku z Peru do Anglii *Hippeastrum vittatum* oraz wprowadzenie do uprawy w 1799 roku pierwszej formy mieszańcowej - *H. ×johnsonii*. Johnson, po udanych próbach krzyżowania gatunków *Hippeastrum reginae* z *H. vittatum* zapoczątkował hodowlę, która trwa do dziś (Haber 1992, Meerow 2009).

W połowie XIX wieku gatunek *H. reginae* został przebadany przez Holendra, Jana de Graaffa i jego dwóch synów (Traub 1958). Z kolei *Hippeastrum leopoldii* oraz *H. pardinum*, zostały sprowadzone z Andów przez Richarda Pearce'a, zatrudnionego przez brytyjską firmę „Veitch and Sons”. Oba te gatunki wyróżniały się dużymi kwiatami. Pierwsze odmiany pochodzące ze skrzyżowania z *Hippeastrum reginae* cechowały się symetrycznymi kwiatami o średnicy większej niż 16 cm (dzisiejsza Grupa Galaxy), z których najlepsze miały do sześciu pąków kwiatowych na pędzie (Van Scheepen i in. 2007). W tamtych czasach firma „Veitch i Sons” zdominowała hodowlę odmian pochodzących od *H. leopoldii*, a tym samym europejską hodowlę zwartnicy aż do końca pierwszej połowy XX wieku (Traub 1958).

Okres między XIX, a XX wiekiem to pewien wkład Stanów Zjednoczonych Ameryki w hodowlę zwartnicy, głównie stanów takich jak Teksas, Kalifornia i Floryda

(Vazquez i in. 2015). Amerykański przyrodnik, botanik i ogrodnik Luther Burbank zapoczątkował hodowlę mieszańców wielkokwiatowych powstałych ze skrzyżowania *H. reginae* z *H. leopoldii* według europejskich standardów (Traub 1958). W latach 1910 – 1939 program hodowlany prowadzony przez Departament Rolnictwa Stanów Zjednoczonych (United States Department of Agriculture – USDA) organizował coroczne pokazy wyników hodowli (Traub 1958). Największym amerykańskim wkładem w hodowlę hipeacestrum były jednak prace dwóch hodowców z Florydy - Henry Nehrlinga i Theodore Luqueer Mead'a. Pomimo, iż mieszańce Mead'a nie pasowały do europejskich standardów hodowlanych pod względem wielkości kwiatów, były one chętnie uprawiane w ogrodach mieszkańców Florydy i okolicznych stanów (Bell 1973a).

Od około 1920 roku hodowla i produkcja *Hippeastrum* w Europie uległy zahamowaniu, na co wpływ miało widmo nadciągającej wojny, a potem sama II Wojna Światowa (Traub 1958). Wyjątkiem była ówczesna Holandia, która dziś jest głównym ośrodkiem nowoczesnej produkcji i hodowli nowych odmian, z dodatkową pomocą Brazylii, gdzie ze względu na sprzyjające warunki oraz naturalne siedliska, rośliny mogły być uprawiane w gruncie (Ferguson 2006). Wielkokwiatowe mieszańce takie jak 'Apple Blossom', 'Ludwig Dazzler' czy 'White Christmas' szybko zyskały na popularności wśród holenderskich miłośników oraz producentów. Inną, także ważną, grupą odmianową są rośliny o znacznie mniejszych kwiatach, tzw. odmiany drobnokwiatowe o średnicy poniżej 12 cm (dzisiejsza grupa Colibri) z odmianami typu 'Scarlet Baby'. Mieszańce w tej grupie zostały stworzone przez H. Boegschotena krzyżującego *H. striatum* z mieszańcami wielkokwiatowymi z grupy Galaxy w porozumieniu z firmą van Meeuwan and Sons (Read 1999).

Ważnym współczesnym ośrodkiem hodowlanym, jak i eksporterem kwiatów zwartnicy, stała się Republika Południowej Afryki (Barnhoorn 1976, Barnhoorn 1991, Barnhoorn 2005), gdzie dominuje firma Hadeco, posiadająca własne ciekawe odmiany. Również w Indiach był prowadzony program hodowlany w National Botanical Research Institute w Lucknow (Narain 1983, Narain 1987, Narain 1991, Barnhoorn 2005). W Japonii program skupiający się na mieszańcach o mniejszej, drobniejszej budowie kwiatów był realizowany przez Miyake Nursery w Chiba-kon (Read 2004). Prowadzone były także programy hodowlane w Volcani Center w Izraelu (Sandler-Ziv i in. 1997) oraz Agronomic Institute of Campinas w Brazylii (Tombolato i in. 1991).

Dziś, co najmniej 300 odmian jest zarejestrowanych, produkowanych i eksportowanych przez kraje takie jak Królestwo Niderlandów, RPA, Izrael, Japonia, Brazylia i Stany Zjednoczone (Floryda). Produkcja hipeastrum na Florydzie w sezonie 2012 została wyceniona na siedem milionów dolarów i koncentrowała się głównie w hrabstwie Highlands (Vazquez i in. 2015). Nie można zapomnieć o sporej liczbie hodowców amatorów na całym świecie, którzy tworzą swoje mieszańce w domach, szklarniach i ogrodach, a ich udział także odcisnął swój ślad w historii hodowli (Meerow 2009).

Warto wspomnieć, że w Polsce również była i jest prowadzona hodowla hipeastrum. W 1993 roku ówczesny kierownik Katedry Roślin Ozdobnych SGGW w Warszawie, profesor Henryk Chmiel, w wyniku krzyżowania wybranych odmian *H. hybridum* z *H. pratense* (aktualnie *Rhodophiala pratense*) otrzymał populację mieszańców, którą nazwano *H. ×chmielii*. Rośliny odznaczały się wartościowymi cechami na tle rodzaju: brak widocznego okresu spoczynku oraz częstsze kwitnienie, miały też drobniejsze kwiaty (Ilczuk 2015a).



Fot. 2. Klon 18 *H. ×chmielii* z kolekcji Samodzielnego Zakładu Roślin Ozdobnych SGGW w Warszawie (zdjęcie własne)

Nowe prace hodowlane rozpoczęto w 2018 roku, a ich pierwszym celem było sprawdzenie możliwości dalszego rozmnażania generatywnego *H. ×chmielii*. W wyniku krzyżowań uzyskano żywotne nasiona i populację liczącą 2700 siewek (Fot. 3), co potwierdziło możliwość dalszej hodowli. Po przeprowadzonej selekcji udało się wybrać obiecujące klony hodowlane, które w dalszym ciągu są badane i przygotowywane do rejestracji, jako pierwsze polskie odmiany pochodzące od gatunku *H. ×chmielii* (Marciniak i in. 2021, Marciniak i Sochacki 2023).



Fot. 3. Siewki klonów hodowlanych *Hippeastrum* uzyskane w 2018 roku (zdjęcie własne)

2.3. Dzisiejsza hodowla *Hippeastrum*

W przypadku hodowli roślin z grupy geofitów możemy napotkać wiele problemów obejmujących zwłaszcza długą fazę młodocianą siewek czy niski naturalny współczynnik rozmnażania wegetatywnego. W przypadku wybranych geofitów z rodziny *Amaryllidaceae* wygląda to następująco: siewka narcyza potrzebuje do zakwitnięcia 3-8 lat (Rees 1972, Erhardt 1993), amarylisa 5-6 (Okubo 1993), a hipeastrum 2-3 lata (Tombolato i in. 1998). Cykl życiowy geofitów w pierwszych fazach związany jest z rocznymi sekwencjami zmian temperatury, które w rezultacie prowadzą do uzyskania przez merystem zdolności do przejścia w stadium generatywne (Khodorova i Boitel-Conti 2013). Długi okres juwenilny, potem wieloletni proces selekcjonowania wartościowych siewek, a wreszcie rozmnożenie wegetatywne wybranych pojedynków sprawiają, że hodowla nowych odmian i ich wprowadzenie na rynek są czasochłonne (Podwyszyńska i Sochacki 2010, Orlikowska i in. 2018).

Większość dostępnych na rynku nowych odmian ozdobnych roślin cebulowych została uzyskana z zastosowaniem klasycznych metod hodowlanych. Mogą to być, m.in. hybrydyzacja (krzyżowanie), selekcja i spontaniczne mutacje. Wybór metody hodowli zależy od gatunku czy rodzaju botanicznego rośliny. Jednak krzyżowanie jest głównym i najważniejszym źródłem zmienności genetycznej, a uzyskaną różnorodność możemy badać metodami morfologicznymi, molekularnymi i biochemicznymi (Marasek i in. 2006, Krichen i in. 2012).

Nasiona roślin z rodzaju *Hippeastrum* otrzymuje się niemal wyłącznie przez sztuczne zapylanie, wyjątkiem jest *H. ×chmielii*, u którego często dochodzi do samozapylania (Szlachetka 2000). Dlatego hodowla klasyczna koncentruje się głównie na zapylaniu krzyżowym. Niemniej, problemem może być jednoczesne uzyskanie w tym samym czasie receptywnych form matecznych i zapylających form ojcowskich. Wynika to z kwitnienia odmian w różnym czasie oraz krótkotrwałej zdolności do zapylania i zapładniania kwiatów. Dodatkowo, kwiaty *Hippeastrum* są protandryczne, a kwitnienie występuje zazwyczaj raz w roku (Karihaloo 1989, Almeida i in. 2019). Dla metod klasycznej hodowli *Hippeastrum*, zdolność przechowywania ziaren pyłku w temperaturach poniżej 0°C może okazać się kluczowa w krzyżowaniu tego rodzaju z innymi gatunkami lub rodzajami. Taka możliwość jest bardzo ważna w selekcji odmian poprzez krzyżowanie genotypów o unikalnych cechach. Mieszańce powstałe w ten sposób mogą różnić się np.: liczbą rocznych cykli kwitnienia w porównaniu do form wyjściowych użytych w krzyżowaniach (Almeida i in. 2019). Na przykład wykorzystanie form diploidalnych, które są łatwe do krzyżowania, daje możliwość wprowadzenia pożądanых cech, a uzyskane w ten sposób rośliny charakteryzują się wysokim wigorem oraz krótszym okresem juwenilnym w porównaniu do form poliploidalnych (Takayama i Isogai 2005, Meerow 2009).

Wykorzystanie narzędzia, jakim jest metoda mikrorozmnażania, do indukowania zmienności genetycznej na drodze poliploidyzacji odgrywa istotną rolę w procesach hodowli geofitów. Wykorzystano ją dla najważniejszych roślin cebulowych takich jak tulipan, lilia, narcyz, hiacynt czy krokus (Marasek-Ciolakowska i in. 2016, Ramanna i in. 2012). W przypadku rodzaju *Narcissus* odmiany triploidalne i tetraploidalne częściowo zastąpiły formy diploidalne (Ramanna i in. 2012). Dzięki zastosowaniu poliploidyzacji asortyment lilii dostępny na rynku to głównie poliploidy (Van Tuyl i Arens 2010). Podobnie w rodzaju *Tulipa*, poliploidalne formy okazały się wartościowsze od form

diploidalnych, pod względem cech morfologicznych. Spowodowało to, że stały się one bardzo pożądane przez hodowców tulipanów i konsumentów (Van Tuyl i in. 2002, Ramanna i in. 2012).

W przypadku *Hippeastrum*, większość odmian dostępnych na rynku to genotypy tetraploidalne charakteryzujące się dużymi kwiatami. Przykładem mogą być odmiany 'Apple Blossom' czy 'Cherry Nymph' (Li i in. 2018). Występują również formy triploidalne, które są wynikiem krzyżowania gatunków diploidalnych i tetraploidalnych. (Bell 1973b, Bell 1977). W badaniach Haista i innych (2023) indukowano autotetraploidy *H. papilio* po traktowaniu 0,05% kolchicyną. Stwierdzono, że liczba chromosomów w diploidach wynosi $2n = 2x = 22$, a w autotetraploidach $2n = 4x = 44$. Badania morfologiczne, cytologiczne i fitochemiczne wykazały znaczne różnice między diploidami, a autotetraploidami. Podobne badania przeprowadzili Zhang i Carey (2014) na tetraploidalnych odmianach *hippeastrum* 'Christmas Gift', 'Orange Sovereign', 'Red Lion' i diploidalnym gatunku *H. papilio*. Rośliny poddane działaniu kolchicyny zmniejszyły swoją przeżywalność w zależności od jej stężenia. Analiza wyników cytometrii przepływowej wykazała, że część badanych roślin *H. papilio* uzyskała podwojoną liczbę chromosomów i była tetraploidalna. W doświadczeniach z *H. hybridum*, oktoploidalne rośliny uzyskano dla odmian 'Orange Sovereign' i 'Red Lion', ale nie dla odmiany 'Christmas Gift'.

Dla gatunku *Rhodophiala montana*, blisko spokrewnionego z *Hippeastrum*, udało się osiągnąć podwojenie chromosomów na pożywce suplementowanej kolchicyną, ale zmniejszyło to przeżywalność mikrosadzonek w porównaniu z ich przeżywalnością na pożywce bez kolchicyny (Jara i in. 2006).

2.4. Morfologia kwiatów i biologia zapylania

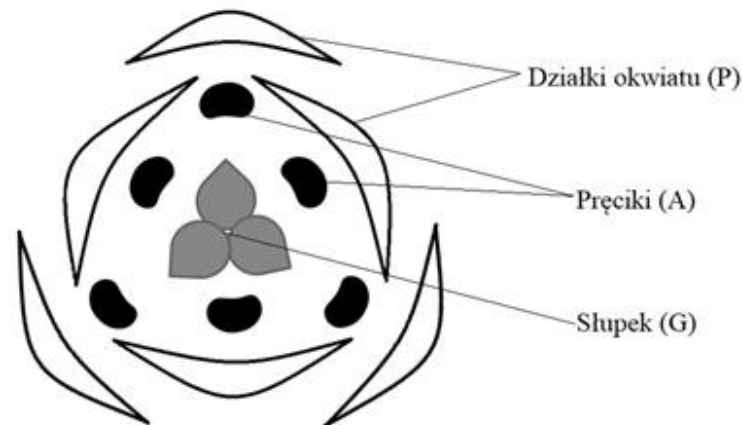
Podczas okresu wzrostu rośliny, w organie spichrzowym pojawiają się dwa lub trzy zawiązki kwiatowe, które dają początek pędom kwiatostanowym. Pierwszy zawiązek kwiatowy rozwija się po wytworzeniu przez merystem wierzchołka wzrostu czwartego, połówkowego liścia w cebuli. Drugi zawiązek inicjuje się później, tj. wówczas, gdy pierwszy zawiązek jest w pełni kwitnienia. Zawiązek trzeciego kwiatostanu często nie rozwija się i zamiera lub pojawia się po około dwóch miesiącach od zakończenia kwitnienia dwóch pierwszych (Traub 1958, Szlachetka 2000, Theron i Hertogh 2001).

Według Blaauw (1931) w okresie wegetacji w cebuli inicjują się pędy kwiatostanowe, a proces podzielony jest na 11 stadiów, które wyglądają następująco:

Stadium 1.	Faza wegetatywna stożka wzrostu oraz inicjacja trzech liści.
Stadium 2.	Różnicowanie się nowego stożka wzrostu w cebuli oraz powstanie najmłodszego liścia, stary stożek wzrostu przechodzi w stan generatywny.
Stadium 3.	Różnicowanie się pierwszej pochwy okrywającej.
Stadium 4.	Różnicowanie się drugiej pochwy okrywającej po przeciwnej stronie, pomiędzy pochwami znajduje się zawiązek kwiatostanu, pochwy okrywające są obrócone względem liści właściwych o 45°, co jest korzystne dla rozwoju nowego stożka wzrostu.
Stadium 5.	Podział primordium kwiatowego na dwie części. Z każdej podzielonej części powstają pąki kwiatowe o nr I i II. W pąku I inicjowane są liście przykwiatowe oraz kwiaty końcowe.
Stadium 6.	Inicjacja liści przykwiatowych oraz kwiatów końcowych w pąku nr II.
Stadium 7.	Powstawanie trzech zewnętrznych działek okwiatu przy kwiecie nr I.
Stadium 8.	Inicjacja trzech wewnętrznych działek okwiatu w kwiecie nr I. Kwiat II przechodzi stadium 7 i 8.
Stadium 9.	Różnicowanie się zewnętrznego okółka pręcików.
Stadium 10.	Różnicowanie się wewnętrznego okółka pręcików.
Stadium 11.	Słupkowo różnicuje się. Inicjacja szyjki słupka z trzech oddzielnych znamion połączonych wspólną ścianą. Zalążnia wewnętrzna powstaje z komórek pod szyjką słupka.

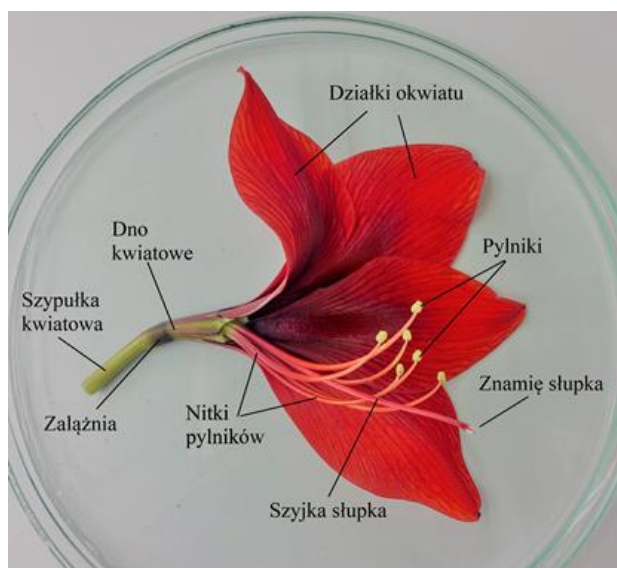
U rodzaju *Hippeastrum* w kwiatostanie może pojawić się od dwóch - pięciu do nawet ośmiu kwiatów, ale pąki kwiatowe będą rozwijać się sukcesywnie jeden po drugim i najprawdopodobniej nie wszystkie będą w stanie się otworzyć (Okubo 1993). Trwałość pojedynczego kwiatu wynosi co najmniej 10 dni jak podaje Krause (1991), a całego kwiatostanu do 13 dni jak podają Chmiel i Ilczuk (2002). Kwiat zwartnicy zbudowany jest z dwóch okółków, każdy po 3 płatki okwiatu, podobnie pręciki, po 3 w każdym okółku oraz słupka dolnego o długości około 15 cm (Traub 1958). Wzór kwiatowy dla

tego rodzaju wygląda następująco - $P_{3+3} A_{3+3} G_{(3)}$ (Ryc. 2) (Traub 1958, Szweykowska i Szweykowski 1999).



Rycina 2. Przekrój poprzeczny przez kwiat *Hippeastrum*
(Schemat własny wg Szweykowska i Szweykowski 1999).

Organem generatywnym jest długa szypuła zakończona kwiatostanem typu baldach. Kwiaty są różnorodne pod względem kształtu, barwy czy struktury. Bezwonne, trąbkowe lub lejkowate, miniaturowe lub duże, pojedyncze lub podwójne. Obok kwiatów jednobarwnych spotykane są też wielobarwne. Bardzo często wzdłuż nerwu środkowego biegnie biała smuga w kierunku gardzieli bądź odwrotnie (Okubo 1993). Naturalny okres kwitnienia roślin z rodzaju *Hippeastrum* przypada na grudzień i kończy się w maju (Blaauw 1931, Traub 1958, Okubo 1993).



Fot. 4. Schemat własny budowy kwiatu *H. hybridum*

Pylniki (Fot. 4) to męskie organy generatywne. Prowadzone nad nimi badania koncentrują się głównie na zdolność przechowywania ziaren pyłku w różnych

temperaturach. Do tej pory różne prace potwierdziły ogólną regułę mówiącą o dłuższej żywotności pyłku w niższych temperaturach. Temperatura -20°C zwiększa zdolność kiełkowania ziaren pyłku w porównaniu z wysokimi temperaturami 20 lub 25°C , podczas 3-miesięcznego okresu przechowywania (Ye i Shi 2008, Almeida i in. 2019). Przeprowadzone badania nad przechowywaniem ziaren pyłku dla innych gatunków z rodziny *Amaryllidaceae*, takich jak *Narcissus poeticus* czy *Galanthus nivalis* pozwoliły ustalić graniczne liczby dni przechowywania bez utraty żywotności, kolejno 72 i 42 dni (Ye i Shi 2008). Nie odnotowano negatywnego wpływu niskiej temperatury na ziarna pyłku, co ciekawe zaobserwowano jej wpływ na stymulację tworzenia się łagiewek pyłkowych. Przeciwnie, wysoka temperatura miała istotny wpływ na zmniejszenie żywotności oraz liczby kiełkujących ziaren pyłku. Zjawisko to zostało potwierdzone w badaniach Wóycickiego (1966) nad degradacją pyłku narcyzów uprawianych w szklarniach podczas upalnego lata. Podobne wyniki uzyskali Marciniak i inni (2021), gdzie niska żywotność ziaren pyłku u *Hippeastrum* spowodowana była wysoką temperaturą w szklarni w okresie kwitnienia roślin.

Częstym problemem w procesach zapylenia i zapłodnienia jest występowanie barier krzyżowalności, prezygotycznych i postzygotycznych. W licznych badaniach prowadzonych przez Lowry'ego i innych (2008) oraz Baacka i innych (2015) nad występowaniem wielu barier pre- i postzygotycznych potwierdzono hipotezę, że bariery prezygotyczne są silniejsze w porównaniu do barier postzygotycznych. Te pierwsze powodowane są problemami z kiełkowaniem ziaren pyłku na znamieniu słupka. Mogą być wywoływane przez szereg czynników np.: kwitnienie roślin w różnym czasie, łagiewka pyłkowa nie tworzy się lub nie jest w stanie dotrzeć do zalążni. Analogicznie do łagiewki, sama budowa słupka może uniemożliwiać penetrację łagiewki pyłkowej. Bariery prezygotyczne są przyczyną uniemożliwiającą udane zapłodnienie, a tym samym tworzenie się diploidalnej zygoty. Bariery postzygotyczne to przeszkody, które występują w czasie powstawania dojrzałego zarodka. Ich objawem może być zamieranie zarodków, brak żywotności nasion, deformacja kiełkujących nasion, męska sterylność oraz zamieranie mieszańców (Zenkter 2007, Widmer i in. 2009, Gaudinier i Blackman 2020, Christie i in. 2022). W badaniach prowadzonych nad zapyleniem i zapłodnieniem w przypadku *H. ×chmielii* klon 6 skrzyżowanego z *H. hybridum* 'Rio Negro' doszło do obumarcia torebek nasiennych, które po zapyleniu nie podjęły wzrostu, żółkły i obumarły (Marciniak i in. 2021).

W przypadku procesów zapylenia oraz zapłodnienia kwiatów istotną rolę odgrywa faza progamiczna. To czas, w którym pyłek na znamieniu słupka kiełkuje, a łagiewka pyłkowa wędruje w kierunku zalążków, a co za tym idzie gametofit męski silnie oddziałuje na tkanki słupka i analogicznie tkanki słupka na łagiewkę. Każda kiełkująca łagiewka pyłkowa konkuruje z inną o dostarczenie i uwolnienie plemników. Dodatkowo zalążnia jednocześnie dąży do promowania własnej łagiewki i inhibuje te pochodzące od innych gatunków (Meng i in. 2019). Cały ten proces podzielony jest na dwie główne fazy, przedowulacyjną i naprowadzającą na zalążki (Lausser i in. 2010, Higashiyama i Takeuchi 2015). Faza przedowulacyjna rozpoczyna się, gdy łagiewka rośnie wzdłuż komórek znamienia w kierunku przewodu transmisyjnego i kończy się, gdy łagiewki zaczynają wyłaniać się z przegrody, aby rosnąć w kierunku *funiculus*, który łączy zalążek z łożyskiem. Proces, w którym łagiewki pyłkowe ostatecznie wnikają w mikropylarny otwór zalążka, i który kończy się uwolnieniem plemników, nazywany jest naprowadzaniem na zalążek (Takeuchi i Higashiyama 2012, Liu i in. 2013, Takeuchi i Higashiyama 2016, Zhang i in. 2017). U większości roślin nasiennych uzyskanie dojrzałości morfologicznej przez tkankę mikropylarną skutkuje nasileniem wydzielniczej działalności komórek somatycznych oraz linii generatywnej. Przestrzenie międzykomórkowe wypełniają się wydzieliną zewnątrzkomórkową, taką strukturę określa się roślinną macierzą zewnątrzkomórkową. Takie wydzieliny wykryto w części mikropylarnej zalążka przebiśniegu - *Galanthus nivalis* (Chudzik 2002, Chudzik i Śnieżko 2003, Dresselhaus i Franklin-Tong 2013, Qu i in. 2015, Johnson i in. 2019, Zhong i Qu 2019). Wydzielina, w skład której wchodzi m.in. pektyny, lipidy, glikoproteiny i wolne jony wapnia, ułatwia powstawanie optymalnego środowiska dla prawidłowego przerastania łagiewki u gatunków z rodziny *Amaryllidaceae* (Lord i Russell 2002, Chudzik i Śnieżko 2003, Coimbra i Duarte 2003, Khosravi i in. 2003, Sage i in. 2009).

Pektyny są komponentami ścian komórkowych, które mogą powodować różnicowanie się tkanek roślinnych (Wolf i in. 2009, Palmer i in. 2015). Pełnią funkcję struktury, która tworzy optymalne środowisko dla wzrostu łagiewki pyłkowej. Penetrująca tkankę łagiewka wydziela enzymy, które wchodzi w interakcję z pektynami. Można wyróżnić takie enzymy jak poligalakturonazy, esterazy i liazy pektynowe, które ułatwiają penetrację łagiewki poprzez degradację komórek w jej otoczeniu, ponadto

produkty rozpadu pektyn z komórek załączka są wykorzystywane do budowy ścian łagiewki pyłkowej i ułatwiają jej rozwój (Fry i in. 1993, Niedojadło i in. 2015).

Glikoproteiny, a głównie białka arabinogalaktanowe, zostały odkryte w receptywnych załączkach wielu gatunków roślin, ale również i w gatunkach z rodziny *Amaryllidaceae* (Chudzik 2002, Coimbra i Duarte 2003, Chudzik i in. 2005). Jednak nie zawsze pojawienie się tej grupy związków chemicznych może świadczyć o dojrzałości morfologicznej woreczka załączkowego. Lokalizacja białek jest ściśle powiązana z drogą penetracji łagiewki, mogą znajdować się w ścianie komórkowej tkanek słupka oraz macierzy zewnątrzkomórkowej, do której swobodnie dyfundują. Posiadają tę zdolność ze względu na łatwość rozpuszczania w wodzie (Serpe i Nothnagel 1999). Zostało to zaobserwowane u gatunku blisko spokrewnionego z *Hippeastrum*, jakim jest śnieżyczka przebiśnieg (Chudzik 2002). Pełnią funkcję lubrykantów i/lub składników odżywczych dla łagiewki pyłkowej. Inną funkcją jest sygnalizacja płodnego gametofitu, a jednocześnie naznaczenie (wskazanie) miejsca załączka, do którego podąża łagiewka pyłkowa odbierająca sygnały (Chudzik i Śnieżko 2003, Suárez i in. 2013).

2.4.1. Trendy hodowlane

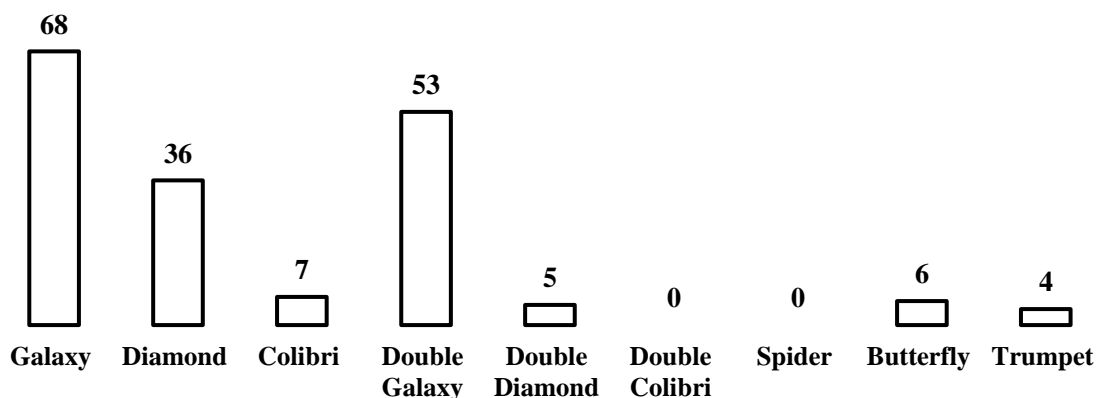
Programy hodowlane dla wielu roślin ozdobnych, jak również dla rodzaju *Hippeastrum* koncentrują się głównie na poprawie wartości ozdobnych kwiatów takich jak barwie, wielkości i kształcie okwiatu, ale również na kompaktowych formach oraz odporności na choroby i szkodniki (Silva 2004, Marasek-Ciolakowska i in. 2021). Selekcjonuje się nowe mieszańce o dużym potencjale komercyjnym (Azimi 2020). Wszystkie odmiany otrzymane w ciągu ponad dwustuletniej hodowli twórczej podzielono na 9 grup (Van Scheepen i in. 2007):

- | | |
|---------------------------|--|
| I. Galaxy | kwiaty duże, pojedyncze o średnicy powyżej 16 cm |
| II. Diamond | kwiaty średnie, pojedyncze o średnicy 12–16 cm |
| III. Colibri | kwiaty małe, pojedyncze o średnicy mniejszej niż 12 cm |
| IV. Double Galaxy | kwiaty podwójne, duże o średnicy większej niż 16 cm |
| V. Double Diamond | kwiaty podwójne o średnicy 12–16 cm |
| VI. Double Colibri | kwiaty małe, podwójne o średnicy mniejszej niż 12 cm |
| VII. Spider | kwiaty o kształcie pająka |

VIII. Butterfly kwiaty o kształcie motyla

IX. Trumpet kwiaty o kształcie trąbki

Z analizy danych międzynarodowego rejestru odmian za lata 2019-2023 prowadzonego w Niderlandach przez Królewskie Ogólne Towarzystwo Producentów Cebul Kwiatowych (*nid.* Koninklijke Algemeene Vereniging voor Bloembollencultuur, KAVB), wynika, że zarejestrowano 179 nowych odmian, co świadczy o odpowiedzi na zapotrzebowanie rynku na nowe ciekawe kwiaty (Wykres 1). W hodowli *Hippeastrum* duży nacisk kładzie się na uzyskanie odmian o dużych kwiatach (Traub 1958, Van Scheepen i in. 2007). Dlatego też największa liczba zarejestrowanych odmian (68) należy do grupy Galaxy, której kwiaty mają ponad 16 cm średnicy, a następnie do grupy Diamond, charakteryzującej się średniej wielkości, pojedynczymi kwiatami o średnicy 12-16 cm; w tej grupie zarejestrowano 36 odmian. Odmiany o małych, pojedynczych kwiatach o średnicy mniejszej niż 12 cm, należą do grupy Colibri. Tylko 7 odmian zostało zarejestrowanych w tej grupie w latach 2019-2023. Szczegółową liczbę zarejestrowanych odmian z każdej grupy przedstawiono na wykresie 1. Popularne są nie tylko odmiany pojedyncze, ale także pełne. Grupa Double Galaxy ma duże, pełne kwiaty o średnicy ponad 16 cm. W tej grupie zarejestrowano 53 odmiany. W pozostałych grupach zarejestrowano tylko pojedyncze odmiany. Większość odmian pochodzi z Holandii i Stanów Zjednoczonych, ale istnieją również odmiany z Indii, Chin i Japonii (Bodegom i in. 2020, Bodegom i in. 2021, Bodegom i in. 2022, Bodegom i Oers 2023, Bodegom i Oers 2024).



Wykres 1. Liczba nowych odmian *Hippeastrum* zarejestrowanych w poszczególnych grupach odmianowych, w międzynarodowym rejestrze KAVB w latach 2019-2023.

2.5. Markery morfologiczne

Jednymi z pierwszych cech, które dostarczają nam informacji na temat różnorodności genetycznej, i które można wykorzystać w procesach hodowlanych są markery morfologiczne (Fu i in. 2008, Shao i in. 2010). To na ich podstawie hodowcy są w stanie określić wartość siewek w stadium juwenilnym oraz przeprowadzić wstępną selekcję. Pierwsze kryterium wyboru reprezentatywnych mieszańców opiera się na interesujących cechach morfologicznych oraz agronomicznych (Krichen i in. 2012). Są to: kształt blaszki liściowej, siła wzrostu rośliny czy kolor kwiatów. Dziś ze względu na dużą zmienność epigenetyczną znalazły one zastosowanie podczas identyfikacji odmian hodowlanych (Michalik 2009).

Wyniki badań pokazują, że połączenie markerów morfologicznych z molekularnymi jest skutecznym sposobem analizowania różnorodności (Krichen i in. 2012).

2.5.1. Deskryptor UPOV

Międzynarodowa Unia Ochrony Nowych Odmian Roślin (*ang.* The International Union for the Protection of New Varieties of Plants, UPOV) jest organizacją międzyrządową i mieści się w Genewie w Szwajcarii. Instytucja ta została powołana na mocy Międzynarodowej Konwencji o Ochronie Nowych Odmian Roślin, która została przyjęta w Paryżu w 1961 r. W latach 1972, 1978 i 1991 była dopracowywana. Misją UPOV jest dostarczanie i promowanie skutecznego systemu ochrony odmian roślin, którego celem jest wspieranie rozwoju nowych odmian roślin z korzyścią dla społeczeństwa.

W Polsce system ochrony odmian roślin (*ang.* plant variety protection, PVP) został wprowadzony w 1987 roku, a w 1989 roku Polska stała się członkiem UPOV. W 1990 roku przeprowadzono szereg reform mających na celu dostosowania polskiego systemu nasiennego do gospodarki rynkowej. Ustawa o ochronie roślin została znowelizowana w 1995 roku zgodnie z postanowieniami Aktu Konwencji UPOV z 1991 roku. Od 2003 roku Polska jest stroną Konwencji UPOV, dzięki czemu może przyznawać hodowcom prawa do wszystkich rodzajów i gatunków roślin. Polska przystąpiła do Unii Europejskiej w maju 2004 roku i od tego czasu ochrona nowych odmian roślin może być przyznawana za pośrednictwem polskiego krajowego systemu PVP lub za

pośrednictwem Wspólnoty Europejskiej. PVP, który jest obsługiwany przez Wspólnotowy Urząd Ochrony Odmian Roślin (*ang.* The Community Plant Variety Office, CPVO) jest ważny we wszystkich 25 państwach członkowskich Wspólnoty Europejskiej (UPOV 2005).

Deskryptor UPOV dla rodzaju *Hippeastrum (Amaryllis)* z 2001 roku to wytyczne dotyczące przeprowadzania testów na odrębność, wyrównanie i trwałość nowych odmian. Organy państwowe decydują, kiedy, gdzie oraz w jakiej liczbie materiał roślinny wymagany do testowania odmiany ma zostać dostarczony. Zaleca się dostarczenie co najmniej 20 cebul zdolnych do kwitnienia. Dostarczony materiał roślinny powinien być zdrowy. Najlepiej, aby nie pochodził z rozmnażania *in vitro*. Materiał roślinny musi być przechowywany w minimalnej temperaturze 13-15°C przez okres co najmniej 6-8 tygodni, w przeciwnym razie materiał nie może być poddawany ocenie. Testy powinny być przeprowadzone dla jednego okresu wegetacyjnego. Jeśli odrębność i/lub wyrównanie nie mogą być wystarczająco ustalone w jednym okresie wegetacyjnym, test powinien zostać przedłużony na drugi okres wegetacyjny. Testy powinny być przeprowadzane w jednym miejscu. Jeśli jakiegokolwiek ważne cechy odmiany nie mogą być zaobserwowane w tym miejscu, odmiana może być testowana w dodatkowej lokalizacji. Testy należy przeprowadzać w następujących warunkach uprawy:

Temperatura:	Temperatura cebul 20-22°C (ogrzewanie podłoża do 20-22°C)
Czas sadzenia:	Grudzień – Styczeń (półkula północna)
Podłoże:	Standardowe
Odległość sadzenia:	30 cebul na m ²
Nawożenie:	EC 1,5-2 mS/cm; standardowe stężenia
Nawodnienie:	5-6 mm dziennie, najlepiej systemem kropłowym

Wielkość poletek powinna być taka, aby rośliny mogły być pobierane do pomiarów oraz obserwacji prowadzonych do końca okresu wegetacji. Oddzielne poletka do obserwacji i pomiarów mogą być używane tylko wtedy, gdy zostały poddane podobnym warunkom środowiskowym. Wszystkie obserwacje należy przeprowadzić na 20 roślinach (obserwacje określone przez pomiary lub liczenie powinny być wykonane na 10 roślinach lub częściach pobranych z każdej z 10 roślin). Do oceny wyrównania należy zastosować standard populacji wynoszący 1% i prawdopodobieństwo akceptacji wynoszące co najmniej 95%. W przypadku badanych 20 sztuk roślin maksymalna dopuszczalna liczba nietypowych cech wynosi 1. Wszystkie obserwacje powinny być

prowadzone na roślinach, które mają w pełni otwarte kwiaty. O ile nie wskazano inaczej, wszystkie obserwacje kwiatu powinny być dokonywane wkrótce po rozwarciu pylników. Ponieważ światło dzienne jest różne, oznaczenia barw wykonane na podstawie międzynarodowego katalogu barw (*ang.* Colour Charts of the Royal Horticultural Society, CC RHS) powinny być wykonane w sztucznym oświetleniu lub w środku dnia w pomieszczeniu bez bezpośredniego światła słonecznego. Rozkład widmowy iluminantu dla sztucznego światła dziennego powinien być zgodny ze standardem CIE Preferred Daylight D 6500 i powinien mieścić się w granicach tolerancji określonych w British Standard 950, część I. Oznaczenia te powinny być wykonane z częścią roślinną umieszczoną na białym tle. Aby ocenić odrębność, wyrównanie i trwałość, należy zastosować cechy charakterystyczne i ich stany podane w tabeli cech (UPOV 2001).

2.5.2. Aparaty szparkowe

Aparat szparkowy jest to jedna z ważniejszych struktur roślinnych, dzięki której rośliny są w stanie prawidłowo funkcjonować. To one regulują przewodnictwo dyfuzyjne liści, czyli bezpośrednio wpływają na utratę wody i wzrost zawartości węgla w komórkach roślinnych. Większość reakcji, jakie zachodzą dzięki aparatom szparkowym, przeciwdziałają zaburzeniom równowagi między pobieraniem a utratą wody przez roślinę (Hetherington i Woodward 2003, Buckley 2005, Clark i in. 2022).

Rośliny jedno- bądź dwuliścienne różnią się pod względem budowy liści, ale przede wszystkim rozmieszczenia aparatów szparkowych. U roślin dwuliściennych aparaty szparkowe znajdują się głównie na dolnej stronie liści, dzięki czemu nie są w tak dużym stopniu narażone na nadmierne działanie światła. U roślin jednoliściennych aparaty szparkowe znajdują się natomiast po obu stronach liścia, dodatkowo ich liczba po obu stronach jest taka sama, a ich rozmieszczenie równomierne. Fakt ten wynika z ułożenia liści względem światła, ponieważ jego oddziaływanie na obie strony liścia jest takie samo (Dziopa 2017, Harrison i in. 2020, Xiong i Flexas 2020).

Do tej pory w literaturze dostępna była wiedza na temat różnic w liczbie i wielkości aparatów szparkowych w zależności od genotypu oraz jego poziomu ploidalności, głównie w odniesieniu do roślin rolniczych, tj. pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum*), żyta zwyczajnego (*Secale cereale*), lucerny (*Medicago sativa*) (Mishra 1997) czy kukurydzy (*Zea mays*) (da Silva i in. 2020). Jednakże coraz więcej prac przedstawia wyniki odnoszące się do ploidalności i jej wpływu na tak ważny

parametr morfologiczny, jakim są aparaty szparkowe w przypadku roślin ozdobnych – ketmii syryjskiej (*Hibiscus syriacus*) (Lattier i in. 2019), narcyza (*Narcissus*) (Sochacki i in. 2022) oraz pochrzynu (*Dioscorea*) (Castañeda-Nava i in. 2023). Według Normasiwi i innych (2021) poziom ploidalności spowodował u roślin bylicy rocznej (*Artemisia annua*), że aparaty szparkowe u tetraploidów były większe w porównaniu do diploidów, jednocześnie u tetraploidów ich liczba na 1 mm² była niższa niż u diploidów. W przypadku różnych genotypów bananowca (*Musa*) poziom ploidalności stanowił o różnicach zarówno w liczbie, jak i wielkości aparatów szparkowych. Triploidy charakteryzowały się mniejszą liczbą aparatów na 1 mm² niż diploidy, a w niektórych przypadkach aparaty szparkowe triploidów były mniejsze niż diploidów. Jedynie dwa z przebadanych triploidów odznaczały się większymi (dłuższymi) aparatami szparkowymi w stosunku do pozostałych diploidów czy triploidów (Auliya i in. 2019).

2.6. Markery genetyczne i molekularne

Rozwój hodowli roślin i gwałtowny wzrost liczby nowych odmian wymusza opracowanie metod detekcji różnorodności materiału roślinnego. Markery genetyczne i molekularne są cenne i niezbędne w identyfikacji oraz ocenie nowych mieszańców. Dzięki nim można skutecznie wykryć zmienność genetyczną pozyskiwanych zasobów, a jednocześnie uniknąć przechowywania zbędnych obiektów. Dodatkowo pomagają nam zrozumieć relacje filogenetyczne, różnorodność genetyczną i tło genetyczne, a co za tym idzie mogą przyczyniać się do powstawania lepszych protokołów hodowlanych (Krichen i in. 2012, Liu 2022).

2.6.1. Markery genetyczne

Królestwo roślin jest bardzo zróżnicowane, a cała ta różnorodność przejawia się na poziomie genetycznym i morfologicznym. W zmienności genetycznej decydującą rolę odgrywają liczba chromosomów oraz wielkość genomu (zawartość DNA w jądrze komórki i/lub wartość C), które różnicują gatunki, a niekiedy też odmiany (Leitch i Leitch 2013). Każdy genotyp ma ściśle określony kariotyp, który jest reprezentowany przez określony kształt chromosomów somatycznych. W celu scharakteryzowania, chromosomy poddawane są analizom takim jak określenie liczby i rozmiaru, pozycje pierwotnych oraz wtórnych przewężeń, ustalenie symetrii czy pomiarom wielkości genomu. Wszelkie mechanizmy powodujące zmiany w całkowitej zawartości DNA mogą

wpływać na jego ilość, ale różnią się od mechanizmów wywołujących zmiany liczby chromosomów. Dlatego nie zawsze można stwierdzić, że wielkość genomu odzwierciedla zmienność w liczbie chromosomów. Poliploidalność oraz namnażanie niekodującego, powtarzalnego DNA, odpowiada za wzrost wielkości każdego genomu roślinnego (Bennetzen i in. 2005, Poggio i in. 2014). Analogicznie, za zmniejszenie (równoważenie) odpowiadają procesy nierównomiernej i niepoprawnej rekombinacji (Leitch i Leitch 2013).

W przypadku genetycznej analizy strukturalnej opartej na markerach mikrosatelitarnych, przeprowadzono niewiele badań nad strukturą genetyczną i filogenezą *Hippeastrum* (Wang i in. 2018, Liu i in. 2022). Genomy jądrowe, chloroplastowe i mitochondrialne są szeroko wykorzystywane w analizach filogenetycznych. Ze względu na prostą strukturę oraz podatność na sekwencjonowanie genom chloroplastowy został wykorzystany w genetycznych analizach strukturalnych i filogenetycznych geofitów, w tym funkcji (*Hosta*) (Lee i in. 2019), czosnku (*Allium*) (Xie i in. 2020), czy szachownicy ussuryjskiej (*Fritillaria ussuriensis*) (Park i in. 2017). Opublikowano również genomy chloroplastów różnych gatunków z rodziny *Amaryllidaceae* (Jin i in. 2018, Zhang i in. 2019a, Zhang i in. 2019b, Zhang i in. 2019c, Xie i in. 2020, Zhang i in. 2020), jednak do tej pory nie pojawiły się żadne doniesienia na temat genomów chloroplastowych *Hippeastrum* (Liu i in. 2022).

Kariotypy bimodalne występują u zwierząt, ale również u roślin. Stanowią bardzo wyspecjalizowaną formę kariotypu, ponieważ reprezentują szczególny przypadek asymetrii i charakteryzują się obecnością dwóch wyraźnie różniących się klas chromosomów. U roślin taki typ kariotypu często charakteryzuje grupy rodzajów i gatunków (Kenton i in. 1990, Naranjo i in. 1998, Poggio i in. 2007, Weiss-Schneeweiss i Schneeweiss 2013). Kariotyp typu bimodalnego wykryto u roślin jednoliściennych z rodzin *Xanthorrhoeaceae*, *Asparagaceae* i *Amaryllidaceae*, w tym u *Hippeastrum* (Naranjo 1969, Naranjo i Poggio 1988, Brandham i Doherty 1998, Vosa 2005, Poggio i in. 2007 Weiss-Schneeweiss i Schneeweiss 2013). Wiele badań, które zostały przeprowadzone nad bimodalnym kariotypem rodzaju *Hippeastrum* wykazuje, że podstawowa liczba chromosomów wynosi 11. W ich skład wchodzi cztery krótkie (metacentryczne [m] lub submetacentryczne [sm]) chromosomy i siedem długich (cztery - submetacentryczne [sm] i trzy – subteloцентриczne [st]) (Brandham i Bhandol 1997, Poggio i in. 2007, Meerow 2009, Poggio i in. 2014, García i in. 2019). Według Poggio

i innych (2007) różnice w zawartości jądrowego DNA są stałe dla długości chromosomów i utrzymują jednorodność kariotypu. Na podstawie przeprowadzonych badań nad diploidalnymi ($2n = 2x = 22$) gatunkami o różnej zawartości jądrowego DNA autorzy potwierdzili, że różnice w ilości są proporcjonalne do długości chromosomów. Stwierdzili oni, że u gatunków o wyższej zawartości DNA, krótkie chromosomy dodają równe ilości DNA do obu ramion, zachowując swoją metacentryczną budowę, podczas gdy długie chromosomy dodają DNA tylko do krótkiego ramienia, zwiększając symetrię chromosomu. Badania cytologiczne dzikich gatunków i komercyjnie dostępnych mieszańców dostarczają informacji na temat zmienności poziomu ploidalności i wielkości genomu, co następnie jest wykorzystywane np. w programach hodowlanych do tworzenia nowych mieszańców lub odmian (Marasek-Ciolakowska i in. 2021). Euploidy w obrębie rodzaju obejmują wiele gatunków, oprócz form diploidalnych ($2n = 2x = 22$) takich jak *H. evensiae*, *H. parodii*, *H. cipoanum*, *H. papilio*, *H. brasilianum*, *H. reticulatum* (García i in. 2017), także triploidy ($2n = 3x = 33$) u *H. puniceum* (z Gujany); tetraploidy ($2n = 4x = 44$) u *H. reginae*, *H. starkii* i *H. blossfeldiae* oraz mieszańce jak *H. ×chmielii* czy odmiany: *H. hybridum* 'Apple Blossom' (Ilczuk 2005), 'Zanzibar', 'Desert Dawn' (Khaleel i in. 1991), 'Red Lion' (Shi i in. 2020); pentaploidy ($2n = 5x = 55$) u *H. scopulorum* i *H. cybister* oraz heksaploidy ($2n = 6x = 66$) u *H. puniceum* (z Brazylii) (Poggio i in. 2014, Arroyo 1982, Naranjo i in. 1988). W rodzaju *Hippeastrum* możemy znaleźć również gatunki aneuploidalne: *H. forgetii*, który posiada $2n = 2x = 23$, *H. blumenavia* z tylko 20 chromosomami ($2n = 2x = 10$) (Arroyo 1982) oraz *H. iguazuianum* ($2n = 2x = 24$) (Williams i Dudley 1984).

W wielu przypadkach wyższy poziom ploidalności roślin ozdobnych przejawia się zwiększeniem kwiatów, całych roślin oraz lepszym wigorem roślin względem ich diploidalnych form. Zostało to potwierdzone dla rodzajów liliowiec (*Hemerocallis*) (Podwyszyńska i in. 2011, Podwyszyńska i in. 2015) oraz tulipan (*Tulipa*) (Ramanna i in. 2012, Van Tuyl i in. 2012). Uprawiane odmiany *hippeastrum* na kwiat cięty to głównie formy tetraploidalne cechujące się dużymi kwiatami (Ockenga 2002).

2.6.2. Markery molekularne - RAPD oraz ISSR

Markery molekularne są narzędziem dostarczającym informacji na temat struktury genetycznej osobnika lub służą do analizy wzorca rozkładu zmienności wewnątrzgatunkowej (Pautasso 2009). Wykorzystanie markerów DNA pozwala ocenić

zmiennosć genetyczną materiału hodowlanego. Dodatkowo umożliwia dobór odpowiednich osobników do dalszych krzyżowań, identyfikację mieszańców oraz późniejszą selekcję (Mikowska i in. 2012). Wykorzystywanie tego rodzaju technik pozwala na wykrycie polimorfizmu, dzięki różnicowaniu genotypów na poziomie samego DNA (Teixeira da Silva i in. 2007, Michalik 2009, Marasek-Ciolakowska i in. 2021).

W diagnostyce roślinnego materiału hodowlanego wykorzystuje się markery arbitralne, czyli takie, które są w stanie ujawnić polimorfizm, jednak genomowa lokalizacja nie jest znana oraz markery specyficzne, które ujawniają polimorfizm w poznanych miejscach (Michalik 2009). Większość stosowanych markerów molekularnych uzyskiwanych jest na drodze łańcuchowej reakcji polimerazy (*ang.* Polymerase Chain Reaction, PCR). PCR jest podstawową techniką biologii molekularnej, ponieważ służy do klonowania, namnażania oraz analizy genów (Turner i in. 2012, Bolc 2020). Proces namnażania (amplifikacja) sekwencji nukleotydowych zachodzi w obecności starterów, czyli par oligonukleotydów, których długość waha się w przedziale 18-30 par zasad (pz). Komplementarność starterów z badanym DNA pozwala na ich przyłączenie (Celińska i Zboránková 2010). PCR składa się z 3 etapów, które są powtarzane (od 20 do 30 cykli) w zależności od potrzeb danego materiału. Towarzyszy temu szereg zmian temperatury, co pozwala na wytworzenie wielu kopii regionu docelowego. W pierwszym etapie zachodzi proces denaturacji DNA w wysokiej temperaturze, który prowadzi do rozdzielania helisy DNA na dwie nici. Etap drugi obejmuje przyłączanie starterów do pojedynczej nici DNA w odpowiedniej dla każdego startera temperaturze. W trzecim etapie zachodzi polimeryzacja, która prowadzi do zwielokrotnienia kopii fragmentów DNA (Bednarek i Chwedorzewska 2001, Turner i in. 2012).

Dobór odpowiednich starterów podyktowany jest wieloma czynnikami np.: celem badania czy liczbą analizowanych genotypów, jak również dostępnością opracowanych markerów i sekwencji nukleotydowych dla danego gatunku (Michalik 2009). Ważna jest również powtarzalność wyników otrzymywanych przy użyciu danych starterów (Celińska i Zboránková 2010).

Obecnie liczba opracowanych markerów molekularnych jest duża i pozwala na ich wybór w zależności od celu w jakim mają być zastosowane. Wśród wielu z nich możemy wyróżnić markery RAPD (losowo amplifikowany polimorficzny DNA, *Random*

Amplified Polymorphic DNA) oraz ISSR (polimorfizm odcinków DNA pomiędzy mikrosatelitami, *Inter Simple Sequence Repeat*) (Teixeira da Silva i in. 2007).

Losowo amplifikowany polimorficzny DNA (RAPD)

Metoda wykorzystująca losowo amplifikowany polimorficzny DNA (RAPD) została opracowana przez zespół Williamsa oraz udoskonalona przez Welsha i McClellanda w 1990 roku (Welsh i McClelland 1990, Williams i in. 1990). RAPD to jedna z najprostszych metod, które stosowane są w mapowaniu genetycznym, taksonomii i filogenezie (Bassam i in. 1992, Bardakci 2001). Dodatkowo została wykorzystana do wykrywania polimorfizmu w badaniach różnorodności genetycznej (Grayson i in. 2000) czy identyfikacji klonów hodowlanych (Koller i in. 1993, Masojć 2009, Bolc 2020). Technika PCR-RAPD wykorzystuje amplifikowanie losowo wybranych fragmentów DNA przy zastosowaniu 10-nukleotydowych starterów o losowych sekwencjach (Bardakci 2001). Pozwala to na stwierdzenie istniejących różnic między liniami hodowlanymi dzięki uzyskiwaniu wzorów prążków w żelu agarozowym obciążonym bromkiem etydydy (Fukuoka i in. 1992). Umożliwia również wykrywanie form heterozygotycznych poprzez generowanie markerów dominujących (Orlikowska i in. 2001).

Technika ta posiada wiele zalet, m.in. nie potrzebna jest duża ilość materiału genetycznego, co w przypadku cennych próbek lub małej dostępności materiału jest bardzo istotne. Dodatkowo, nie wymaga znajomości badanego genomu. Wykorzystywane są losowe, pojedyncze oligonukleotydowe startery, co pozwala na wygenerowanie zróżnicowanych profili prążków. Kolejną zaletą jest prosta optymalizacja procesu oraz stosunkowo tania technologia. Ponadto fakt, że test RAPD umożliwia wizualizację szerokiej gamy produktów PCR, może tłumaczyć częsty wybór tej metody (Atienzar i Jha 2006, Senthil Kumar i Gurusubramanian 2011).

Pomimo dużej użyteczności, metoda RAPD posiada również wady. Jedną z nich jest wysoka podatność na zmiany warunków reakcji, które głównie powodowane są zmianą pochodzenia oraz stężenia polimerazy lub arbitralnego charakteru markerów (Al-Samari i Al-Kazaz 2015). W produktach amplifikacji mogą pojawić się fałszywe produkty niezawierające matrycowego DNA (Mullis 1991). Dodatkową wadą tej techniki jest niska powtarzalność wyników (Khandka i in. 1997). Może być to spowodowane niską temperaturą przyłączania starterów (Atienzar i Jha 2006). W literaturze naukowej

pojawiły się doniesienia dotyczące niskiej przydatności tej metody do określania stopnia pokrewieństwa, ponieważ u badanych genotypów mogą pojawiać się prążki, które nie pochodzą od form rodzicielskich (Scott i in. 1992, Ayliffe i in. 1994). Wykorzystując tę metodę warto pamiętać o tym zjawisku, szczególnie w przypadku analizy genotypów o wysokim polimorfizmie (Gwakisa i in. 1994).

Markery ISSR

Metoda polimorfizmu sekwencji satelitarnych została opracowana w Polsce przez Zietkiewicz i innych (1994). Polega ona na amplifikacji fragmentu DNA pomiędzy dwoma mikrosatelitami, powtórzonymi regionami, które są przeciwległe skierowane w swoją stronę (Pradeep Reddy i in. 2002, Masojć 2009, Korytko i Łaczońska 2016). Są to tzw. sekwencje tandemowe czy proste sekwencje powtarzalne zwane STR (*Short Tandem Repeats*). Zawierają od 10 do 50 powtórzeń motywu o długości od 2 do 12 pz, a ich całkowita długość wynosi do 500 pz. W metodzie tej wykorzystywane są startery o długości 16-25 pz, a ich sekwencje są analogiczne dla powtórzeń mikrosatelitarnych (Shulman 2007, Ilczuk 2015b). Startery ISSR mogą być zakotwiczone lub nie. Startery zakotwiczone to sekwencje, które posiadają powtórzenia o typie dwójkowym, trójkowym, czwórkowym czy piątkowym. Niezakotwiczone sekwencje mogą łączyć się w dowolnym miejscu na matrycy, a przemieszczanie się starterów w kierunku 3' lub 5' może spowodować pojawienie się dwóch produktów różniących się długością zamiast jednego o stałej długości (Celińska i Zboránková 2010). W reakcji PCR-ISSR powstaje do 60 produktów o długości w przedziale 200-2000 pz (Mikowska i in. 2012), które mogą być rozdzielane na żelu agarozowym z dodatkiem bromku etydyny (Bednarek i Chwedorzewska 2001, Łojkowska 2004).

Metoda polimorfizmu sekwencji międzysatelitarnych wykorzystywana jest między innymi do badań nad zmiennością genetyczną, znakowaniem oraz mapowaniem genów (Pradeep Reddy i in. 2002, Ilczuk 2015b), a jej atutem jest duża uniwersalność w połączeniu z wysoką specyficznością. W porównaniu do markerów RAPD, markery stosowane w technice ISSR są dłuższe (15-25 nukleotydów), co skutkuje lepszymi możliwościami powielania oraz stosowania wyższych temperatur na etapie przyłączania się starterów (45-60°C). Otrzymywany poziom polimorfizmu dzięki markerom ISSR jest dużo wyższy niż w przypadku markerów RAPD (Pradeep Reddy i in. 2002, Vaillancourt i in. 2008, Celińska i Zboránková 2010). Powtarzalność na relatywnie stałym poziomie,

prostota wykonania oraz mała ilość DNA potrzebna do przeprowadzenia analizy, czynią tę technikę odpowiednią do badania odmiennych gatunków roślin (Szućko i in. 2012).

Pośród dużej liczby zalet, metoda ta posiada również wady. Każdy badany gatunek wymaga optymalizacji reakcji PCR-ISSR, co jest pracochłonne. Dodatkowo, możliwość powstawania podwójnych produktów poprzez zastosowanie starterów niezakotwiczonych, może być przyczyną niejednoznacznych odczytów produktów na żelu agarozowym. Powodować to może odrzucenie całych analiz dla poszczególnych starterów (Mikowska i in. 2012).

2.7. Mikrorozmnażanie *Hippeastrum*

In vitro, jako narzędzie, to szybka i skuteczna metoda rozmnażania wegetatywnego. Została zapoczątkowana pod koniec lat siedemdziesiątych XX wieku (Seabrook i Cumming 1977) i rozwinęła się mocno w ciągu ostatnich dekad. Badania prowadzone na roślinach jednoliściennych z rodziny *Amaryllidaceae* – do której należy hipeastrum - potwierdziły możliwość uzyskania organogenezy w kulturach tkankowych (Gabryszewska i Saniewski 1989).

W przypadku hipeastrum mikrorozmnażanie składa się z kilku etapów, ale – tak jak u innych geofitów – produktem końcowym ma być cebula, stąd kluczowy jest etap powstawania cebul. Dlatego dotychczasowe badania naukowe skupiały się między innymi na ogólnej poprawie wydajności mikrorozmnażania oraz formowaniu się cebul np. poprzez zastosowanie jasmonianu metylu, sperminy, hydrolizatu kazeiny i progesteronu, ale również obejmowały suplementację pożywek cytokininami w połączeniu z auksynami (Zayed i in. 2011, Zakizadeh i in 2013). *Hippeastrum* posiada zdolność do regeneracji całych roślin na wybranych fragmentach tkanek w kulturach *in vitro*. Jako materiał inicjalny w rozmnażaniu w kulturach tkankowych wielu roślin cebulowych dużym potencjałem regeneracyjnym charakteryzują się mikrosadzonki łuskowe. Eksplantaty dwułuskowe można wykładać na pożywkę Murashige i Skoog (MS) z dodatkiem regulatorów wzrostu. Regeneracja następuje w kilka tygodni później. Cebule tworzą się na wewnętrznej stronie łuku tuż przy piętce (Gabryszewska i Saniewski 1989, Datta 2022).

Dotychczas większość badań koncentrowała się na gatunkach, które mają większe znaczenie gospodarcze, takich jak tulipan czy lilia (Gabryszewska i Saniewski 1989). XXI wiek to intensyfikacja badań nad rozmnażaniem *in vitro* hipeastrum, w tym *H. ×chmielii* (Witomska i Ilczuk 2004, Ilczuk i in. 2005, Witomska i in. 2008, Sochacki i in. 2018). Powstawanie cebul przybyszowych na sadzonkach dwułuskowych wyłożonych polarnie, jak i niepolarnie, powoduje różnicowanie się cebul. Wydajność regeneracji jest skorelowana z wielkością eksplantatów, a świadczy o tym fakt, że z jednej sadzonki dwułuskowej o długości 2 cm uzyskiwano średnio 2,1 cebul przybyszowych, podczas gdy na sadzonkach mniejszych niż 1 cm nie uzyskano regeneracji w ogóle (Witomska i Ilczuk 2004). Chłodzenie cebul wpływa w dużym stopniu na tworzenie się minicebul przybyszowych. W badaniach Ilczuk i Witomskiej (2004) zastosowano chłodzenie cebul przed założeniem kultur przez 3, 5 oraz 7 miesięcy. Po upływie pięciomiesięcznego chłodu, którym potraktowano cebule mateczne, a następnie pobrano z nich sadzonki dwułuskowe, formujące się cebule przybyszowe były największe oraz cechowały się większą liczbą liści w porównaniu do pozostałych.



Fot. 5. Mikrocebule
wytworzone na sadzonce
dwułuskowej hipeastrum
klonu 0004-05
(zdjęcie własne)

Proces somatycznej embriogenezy *Hippestrum* został opracowany i opisany dla cebul i łusek cebulowych (Mujib i in. 2005, Yu i in. 2018), mikrocebul *in vitro* (Xue-Qin i in. 2012), załączni (Huang i in. 2005a) i szypułki (Huang i in. 2005b). Indukowanie zarodków somatycznych z płatków okwiatu hipeastrum wg badań Almeida i innych (2022) również zostało potwierdzone.

Techniki kultur tkankowych znalazły również zastosowanie w hodowli w celu uzyskania i ulepszenia odmian (Thorpe 1990). U roślin triploidalnych, które mogą być samosterylnie, zapłodnienie może nie nastąpić pomimo w pełni uformowanych organów generatywnych. Czasami jednak zarodek może być sztucznie indukowany. Nie będzie on jednak zdolny do dalszego rozwoju ze względu na obecność barier postzygotycznych. W przypadku genotypów pochodzących od form triploidalnych skrzyżowanych

z diploidami, możliwe jest utrzymanie rozwijających się zarodków przy użyciu kultury zarodków *in vitro*. Podejście to zostało również potwierdzone dla *Hippeastrum* (Bell 1973b, Meerow 2009).

Ze względu na coraz ważniejsze trendy ekologiczne, bardzo interesujące wydają się eksperymenty oceniające wpływ dodatku biostymulatorów do pożywek stosowanych w *in vitro*. Zbadano wpływ suplementacji pożywki MS biostymulatorem Goteo na efektywność mikrorozmnażania *Hippeastrum*, jako alternatywy dla tradycyjnych regulatorów wzrostu. Pozytywny wpływ Goteo na zwiększoną regenerację, a także na zwiększoną liczbę korzeni i masę mikrosadzonek zaobserwowano na etapie tworzenia cebul *H. hybridum* 'Double Roma' i *H. ×chmielii* klon nr 18 (Sochacki i in. 2018).

2.8. Biostymulatory

W roku 2019 rozporządzenie Unii Europejskiej zdefiniowało biostymulatory jako środki stymulujące procesy odżywiania roślin niezależnie od zawartości substancji pokarmowych w produkcie, którego jedynym celem jest polepszenie co najmniej jednej z właściwości rośliny. Do właściwości tych przypisano: efektywność wykorzystania składników pokarmowych, odporność na stres abiotyczny, cechy jakościowe oraz przyswajalność trudnodostępnych składników pokarmowych z gleby lub ryzosfery (Eurofines 2024). W Polsce biostymulatory rejestrowane są według Ustawy z dnia 10 lipca 2007 r. o nawozach i nawożeniu jako stymulatory wzrostu – „niebędący produktem nawozowym UE związek organiczny lub mineralny lub jego mieszaninę, wpływające korzystnie na rozwój roślin lub inne procesy życiowe roślin, z wyłączeniem regulatora wzrostu będącego środkiem ochrony roślin w rozumieniu przepisów o ochronie roślin” lub środki wspomagające uprawę roślin – „środki poprawiające właściwości gleby, stymulatory wzrostu i podłoża do upraw” (Dz. U. 2024 poz. 105). W wykazie środków wspomagających uprawę roślin Ministerstwa Rolnictwa i Rozwoju Wsi znajduje się aktualnie: 112 substancji z grupy stymulatorów wzrostu oraz 625 środków poprawiających właściwości gleby (MRiRW 2024).

Biostymulatory, stymulatory roślin czy fitostymulatory to substancje pochodzenia naturalnego, które w żadnym stopniu nie wykazują działania toksycznego na komórki roślin. Mogą wpływać na stymulację różnych procesów zachodzących w roślinach w odmienny sposób niż nawozy czy regulatory wzrostu. Działają wielokierunkowo i nie bezpośrednio na metabolizm, a ich kluczową kwestią jest

przeciwnieństwo do roślinnych regulatorów wzrostu pod względem zmiany szlaków metabolicznych. Niemniej, dokładne mechanizmy działania tych preparatów są trudne do zidentyfikowania (Kozak 2009, Bulgari i in. 2015, Posmyk i Szafrńska 2016). Wg Taiz i Zeiger (2002) biostymulatory mogą wpływać na parametry fotosyntezy, co zostało potwierdzone również przez Abbas i Akladios (2013), pobieranie i transport wody oraz substancji pokarmowych czy otwieranie i zamykanie się aparatów szparkowych. Du Jardin (2015) postanowił wyróżnić 7 grup biostymulatorów: kwasy huminowe i fulwowe, substancje nieorganiczne, hydrolizaty białek i/lub inne związki zawierające w swoim składzie azot, pożyteczne grzyby, wyciągi z roślin i alg morskich, pożyteczne bakterie, chitozan i inne biopolimery. Jednak Chohura (2016) dokonał podziału na 5 grup. Pierwsza z nich to fitohormony – auksyny, cytokininy, gibereliny, kwas abscysynowy czy etylen. Druga to bioregulatory – związki regulujące procesy zachodzące w roślinach tj. związki fenolowe czy kwas salicylowy. Trzecią wyodrębnioną grupę stanowią biostymulatory wzrostu – wspomagają wzrost nie wpływając bezpośrednio na metabolizm roślin. Czwartą grupą są np.: kwasy humusowe, czyli substancje poprawiające rozwój poprzez polepszenie warunków wzrostu roślin. Ostatnią grupą są organizmy pożyteczne (grzyby i bakterie), które indukują rozkład materii organicznej i/lub hamują występowanie nadmiernej ilości patogenów.

Biostymulatory otrzymywane są z roślin, torfów, ale również i zwierząt. Zazwyczaj są to pojedyncze substancje lub preparaty wieloskładnikowe, w ich składzie mogą występować: polimery z dużą liczbą wiązań peptydowych, aminokwasy, endogenne regulatory wzrostu, witaminy, enzymy oraz węglowodany. Biostymulatory to bardzo często preparaty oparte na wyciągach z alg, ale też mogą być produkowane z muszli skorupiaków zawierającej w swoim składzie substancję zwaną chitozaniem (Basak 2008, Pacholczak i Szydło 2010, Brown i Saa 2015).

Pestycydy są bardzo skuteczne w ograniczaniu populacji szkodników roślin, ale również wpływają na liczbę owadów pożytecznych. Ich substancje czynne są sukcesywnie wycofywane z obrotu i z roku na rok zmniejsza się dostępność chemicznych środków ochrony. Dodatkowo pestycydy mogą gromadzić się lub zalegać w środowisku i prowadzić do obniżenia jakości produktów rolnych. W konsekwencji wymusza to pilną potrzebę opracowania alternatywnych, bezpiecznych metod ekologicznego zwalczania patogenów roślin. Wg badań przeprowadzonych przez francuskie Goëmar Labs, biostymulatory zawierające w swoim składzie wyciągi z alg - *Laminaria digitata* mogą

wpływać pośrednio na ochronę roślin przed patogenami aktywując mechanizmy odporności (Joubert i Lefranc 2008, Posmyk i Szafrńska 2016).

Wg Basak (2008) i Słowińskiego (2008) biostymulatory stosowane są także do ochrony roślin przed stresami np. suszą czy chłodem poprzez usprawnianie procesów wzrostu i rozwoju roślin. Preparaty te powodują zwiększenie aktywności endogennych hormonów, rozwój systemu korzeniowego, a co za tym idzie usprawnienie pobierania wody oraz składników pokarmowych z podłoża. Przyczynia się to do zwiększenia odporności na niekorzystne warunki abiotyczne środowiska (Górnik i in. 2008, Słowiński 2008).

Biostymulatory posiadają wiele zalet. Jednakże mogą okazać się nieskuteczne w przypadku niesprzyjających warunków, a czasem nawet negatywnie oddziaływać na roślinę. Może to być spowodowane: niewłaściwym terminem zabiegu, nadmiernie wysokim/niskim stężeniem cieczy roboczej, warunkami glebowymi czy nawet warunkami atmosferycznymi. Bardzo rzadko odnotowuje się jednak takie przypadki, dlatego biostymulatory są zaliczane do środków bezpiecznych (Gawrońska i Przybysz 2011). Zwiększenie obszaru stosowania preparatów o działaniu biostymulującym w ochronie roślin, podobnie jak wielu chemicznych środków przeznaczonych do ochrony, wymaga od producentów lepszego przygotowania oraz decyzji ekonomicznych (Pruszyński 2008).

Agro-Sorb® Folium

Agro-Sorb® Folium to płynny (dolistny) biostymulator zawierający naturalne, wolne L- α aminokwasy powstałe z hydrolizy enzymatycznej. Zawiera w swoim składzie również takie aktywne substancje jak: sterole oraz związki lipidowe. Dodatkowo wzbogacony został o mikroelementy: bor (B) 0,02%, mangan (Mn) 0,05% oraz cynk (Zn) 0,07%. Dzięki czemu wspomaga regenerację roślin po okresach stresowych, powoduje wzrost intensywności fotosyntezy, poprawia i zwiększa kwitnienie, wigor i ogólną kondycję roślin, czego bezpośrednim efektem jest zwiększenie odporność roślin na stresy. Dodatkowo wpływa na wyrównanie i jakość plonu. Środek ten może być stosowany w uprawach roślin polowych, sadowniczych, w warzywnictwie oraz w uprawach roślin ozdobnych (Agro-Sorb® Folium 2024).

Wg Wojdyły (2019) zastosowanie preparatu Agro-Sorb® Folium w stężeniu 1% pozwoliło na obniżenie stężeń fungicydów nawet o 80%, a dodatkowo nie

zaobserwowano objawów fitotoksyczności na badanych różach (*Rosa*) podczas stosowania mieszanin biostymulatora i fungicydów. Inne wyniki uzyskane przez Wojdyłę (2018) po zastosowaniu biostymulatora Agro-Sorb® Folium na bratkach ogrodowych (*Viola wittrockiana*) potwierdzają jego skuteczność w ochronie przed chorobą powodowaną przez *Colletotrichum violae-tricoloris* (COLLVT). Jego skuteczność wynosiła od 48 do 61,7%. Wzrost stężenia badanego środka (0,25%; 0,5%; 1%) powodował zwiększenie jego skuteczności i nie wykazywał fitotoksyczności.

Badania przeprowadzone przez Mystkowską i innych (2023) potwierdzają wpływ biostymulatora Agro-Sorb® Folium na poprawę jakości plonu. Najwyższą zawartość składników mineralnych stwierdzono w ziemniakach po zastosowaniu biostymulatora z herbicydem Avatar 293 ZC. Sugeruje to, że Agro-Sorb® Folium jest stymulatorem akumulacji fosforu, wapnia i magnezu w bulwach ziemniaka.



Fot. 6. Biostymulator Agro-Sorb® Folium oraz Goëmar Goteo (od lewej)
(zdjęcia własne)

Goëmar Goteo

Goëmar Goteo to biostymulator, stymulator wzrostu wyprodukowany przy użyciu technologii PhysioActivator. Preparat poprawia rozbudowę i rozwój systemu korzeniowego oraz redukuje czynniki stresowe przyspieszając wzrost roślin po posadzeniu na miejscu docelowym. Biostymulator przeznaczony jest do podlewania oraz opryskiwania. Znalazł zastosowanie w uprawach warzywniczych oraz sadowniczych,

a także w roślinach ozdobnych. W swoim składzie zawiera składniki pokarmowe takie jak pięciotlenek fosforu (P_2O_5) – 13,0% oraz tlenek potasu (K_2O) – 5,0%, które są dobrze rozpuszczalne w wodzie. Dlatego produkt ten już dość dawno temu uzyskał rejestrację w Polsce jako nawóz. Do zalet preparatu Goteo można zaliczyć: silniej rozbudowany system korzeniowy z większą liczbą korzeni włóśnikowych, co ułatwia roślinom pobieranie składników mineralnych z podłoża, a co za tym idzie zwiększenie plonu i poprawę jego jakości. Dodatkowo, dzięki obecności składników z *Ascophyllum nodosum*, sprzyja regeneracji systemu korzeniowego po wystąpieniu warunków stresowych w jego obrębie. Glony te stanowią bogate źródło substancji aktywnych – aminokwasów, witamin, oligosacharydów oraz fitohormonów (Goëmar Goteo 2024).

Według badań przeprowadzonych przez Kapczyńską i innych (2020) ukorzenianie sadzonek rozplenicy (*Pennisetum*) 'Vertigo' w perlicie lub torfie przy użyciu biostymulatora Goteo (0,1%) było skuteczne w 100%. Parametry korzeni były wyższe dla sadzonek ukorzenionych w perlicie w porównaniu z tymi ukorzenianymi w torfie. Zastosowany preparat stymulował długość korzeni i wysokość całych roślin w dalszej uprawie, zwiększył masę nadziemną roślin i ich rozgałęzienia, co jest związane z prawidłowym odżywieniem roślin. Podobne wyniki uzyskał Salachna ze współautorami (2014) mocząc sadzonki dwułuskowe śniedka arabskiego (*Ornithogalum arabicum*) przez 30 min w roztworze (0,2%) Goëmar Goteo. Zabieg ten spowodował zwiększenie się liczby i długości korzeni u cebul przybyszowych w porównaniu do sadzonek dwułuskowych moczonych w wodzie.

Jak podaje Kalisz (2009) dwukrotna aplikacja biostymulatora Goëmar Goteo (0,1%) podczas produkcji rozsady kapusty pekińskiej (*Brassica pekinensis*) wpłynęła na zwiększenie długości i liczby liści oraz zawartość chlorofilu b w części nadziemnej roślin w porównaniu do tych parametrów u roślin nietraktowanych biostymulatorem. Dodatkowo zaobserwowano wzrost powierzchni liści oraz świeżej masy części nadziemnej, jak również zawartości chlorofilu a i karotenoidów w pędach.

2.9. Regulatory wzrostu i rozwoju roślin

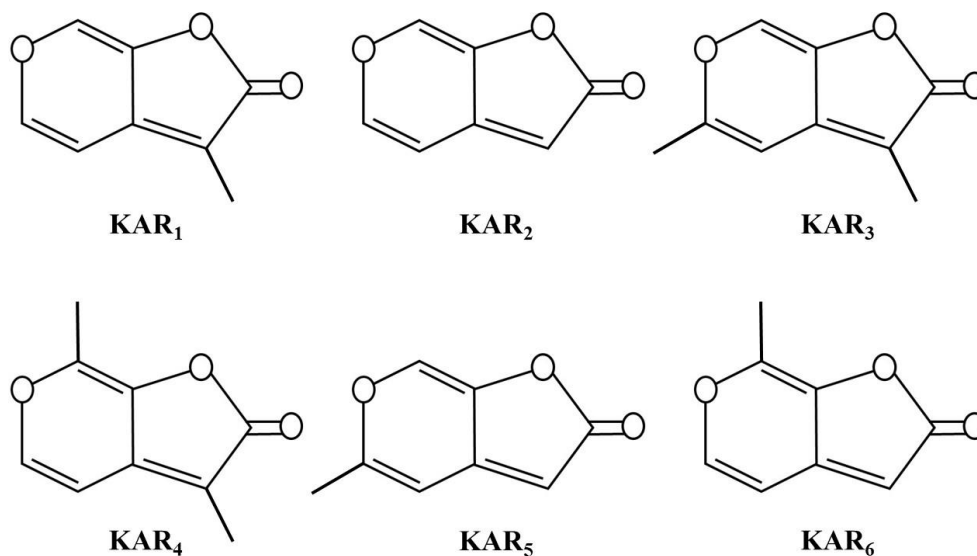
Roślinne regulatory wzrostu – fitohormony, można określić jako naturalne lub syntetyczne związki, które są coraz powszechniej wykorzystywane w rolnictwie i ogrodnictwie. Znanych jest obecnie około 40 takich substancji (Bandurska i in. 2007, Rademacher 2015). Niemniej, nie możemy zaliczyć ich do grup takich jak: nawozy czy

biostymulatory. Dodatkowo nie wykazują one działania fitotoksycznego (Pacholczak i Szydło 2010, Rademacher 2015). Na przestrzeni lat wiedza zdobywana na temat działania poszczególnych związków z tej grupy uległa znacznemu pogłębieniu, co pozwoliło na dokładniejsze zrozumienie zasady ich działania i wpływu na metabolizm roślin. Mogą one regulować konkretny proces lub odpowiadać za działanie całych kompleksów (Jakubowska i in. 2001). Regulacja procesów wzrostu roślin, kiełkowania nasion i ukorzeniania, to dotychczas dobrze poznane działania tych związków. Z czasem zaobserwowano również, że mogą one wpływać na przemiany biochemiczne zachodzące w roślinach (Malkawi i in. 2007, Rademacher 2015). Substancje te, które nawet w niewielkich ilościach wpływają na metabolizm i procesy fizjologiczne w roślinach, są chemicznymi przekaznikami kontrolującymi aktywność komórek (Li i in. 2017a), a ich działanie można wykryć w miejscach odległych od miejsca biosyntezy. Różne grupy regulatorów wzrostu mogą działać synergistycznie lub antagonistycznie względem siebie (Rademacher 2015). Jednak w przypadku nowo poznanych związków, takich jak *meta*-Topolina (mT), a zwłaszcza karrikina (KAR), informacji jest niewiele lub nie ma ich wcale (Li i in. 2017b).

2.9.1. Karrikina (KAR)

W ogrodnictwie i rolnictwie ogień wykorzystywany jest do niszczenia niektórych chwastów oraz stymulacji kiełkowania nasion cennych gatunków roślin (Light i Van Staden 2004, Kulkarni i in. 2011). Oczywiście nie sam ogień, ale dym jest odpowiedzialny za to drugie działanie. Liczne badania koncentrują się na identyfikacji związków obecnych w dymie, które są odpowiedzialne za uwalnianie nasion ze stanu spoczynku (Light i in. 2009). Pierwsze doniesienia na temat bliżej nieokreślonego związku oraz jego wpływu na nasiona pojawiły się w 1990 roku (De Lange i Boucher 1990). Kilkanaście lat później, butenolid, 3-metylo-2H-furo[2,3-c]piran-2-on został opisany jako karrikina 1 (KAR₁) (Van Staden i in. 2004, Chiwocha i in. 2009). Nazwę wzięto od słowa "karrik", które w języku australijskich aborygenów oznacza ogień. Nazwa ta została nadana, aby odróżnić butenolidy pochodzenia roślinnego od tych wytwarzanych przez grzyby, które w żaden sposób nie wpływają na rośliny. Do tej pory karrikiny były grupą związków chemicznych wiązanych głównie z ich wpływem na kiełkowanie nasion. Doniesienia naukowe potwierdzają, że KAR₁ stymuluje kiełkowanie

60 gatunków roślin należących do 29 rodzin (Brown i Van Staden 1997, Flematti i in. 2004, Dixon i in. 2009, Flematti i in. 2009).



Rycina 3. Schemat własny chemicznej struktury karrikin (KAR₁- KAR₆).

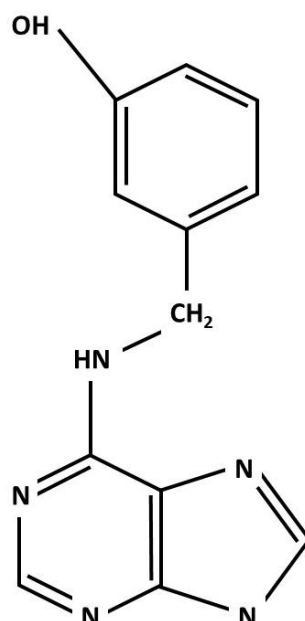
Struktura butenolidu 3-metylo-2H-furo[2,3-c]piran-2-on została zidentyfikowana i nazwana KAR₁. Później jej pochodne zostały zsyntetyzowane i opisane jako "karrikiny" KAR₂ do KAR₆ (Ryc. 3) (Flematti i in. 2009). Każda z nich wywołuje różne efekty w zależności od gatunku rośliny lub stężenia, na przykład KAR₂ jest najbardziej aktywna w rzodkiewniku (*Arabidopsis*) i wykazuje mniejszą aktywność w stosunku do innych rodzajów niż KAR₁ (Van Staden i in. 2004, Nelson i in. 2009, Waters 2017). Struktura KAR przypomina strukturę innych fitohormonów, a mianowicie strigolaktonów (SL) (Antala i in. 2020, Carbonnel i in. 2021, Oláh i in. 2021). Karrikiny są małymi cząsteczkami o prostej strukturze, często składające się z pierścieni butenolidowych i piranowych (Flematti i in. 2005, Khaton i in. 2020, Guercio i in. 2021, Hrdlička i in. 2021). Mają one właściwości krystaliczne, a ich temperatura topnienia wynosi ok. 119°C. Do ich rozpuszczenia w wodzie potrzebne jest jedynie delikatne mieszanie, można również stosować rozpuszczalniki organiczne (Flematti i in. 2015).

Zastosowanie karrikin wpływa na procesy metaboliczne zachodzące w roślinach, które mogą lepiej gromadzić składniki odżywcze niezbędne do wzrostu organów wegetatywnych, a później do rozwoju generatywnego (Shakirova i in. 2010). Dodatkowo, karrikiny mogą wpływać na różne aspekty wzrostu roślin. Odnotowano różnice w morfologii roślin - zmiana kształtu i wielkości blaszek liściowych ogórka siewnego (*Cucumis sativus*) i zmniejszenie ogonków liściowych rzodkiewnika (Guo i in. 2013),

stymulację nowych korzeni u rzodkiewnika (Yang i in. 2019), wzrost wielkości i liczby aparatów szparkowych u marchwi zwyczajnej (*Daucus carota*) (Akeel i in. 2019) i stymulację wydłużania łagiewki pyłkowej u kilku roślin ozdobnych: aechmei (*Aechmea kertesziae*), trytomy groniastej (*Kniphofia uvaria*) i piwonii chińskiej (*Paeonia lactiflora*) (Kumari i in. 2014). Wydłużenie hipokotyłu rzodkiewnika zostało zahamowane po zastosowaniu karrikininy (Smith i Li 2014).

2.9.2. Meta-Topolina (mT)

Pierwszą cytokininą, która została wyizolowana z bielma kukurydzy (*Zea mays*) jest zeatyna (Zea). Powszechne zastosowanie w laboratoriach *in vitro* do inicjacji kultur potwierdza jej korzystny wpływ na proliferację podczas namnażania materiału roślinnego (Wang i in. 2002). Zapoczątkowane w 1950 roku badania dały podstawę do powstania nowej grupy roślinnych regulatorów wzrostu – cytokinin. W kolejnych latach pojawiały się związki cytokininopodobne, które izolowane były z innych gatunków roślin. Najczęściej były to związki z grupami alifatycznymi, których przykładem może być wspomniana wcześniej zeatyna. Relatywnie rzadziej były to cytokiny z grupą benzyłową, np: 6-benzyloadenina (BA) lub *meta*-Topolina (mT) (Werner i in. 2001, Jabłońska-Trypuć i Czerpak 2009, Bishop i in. 2015). Jedną z głównych cytokinin stosowanych w kulturach tkankowych jest BA o uniwersalnym zastosowaniu i pozytywnym wpływie na wiele gatunków roślin oraz niższej cenie jednostkowej w porównaniu do zeatyny (Aremu i in. 2012). W przypadku roślin z grupy geofitów, stosowanie egzogennych cytokinin w pożywkach do rozmnażania *in vitro* promuje proliferację pędów i ukorzenianie (Van Staden i in. 2008). Chociaż ich stosowanie jest konieczne w hodowli tkankowej, w zależności od zastosowanego stężenia, mogą one powodować negatywne skutki, takie jak witrifikacja eksplantatów roślinnych lub zaburzenia fizjologiczne (Kadota i Niimi 2003, Ivanova i Van Staden 2011). Każdy rodzaj, gatunek, a nawet odmiana reaguje inaczej na rodzaj i stężenie cytokinin w pożywce (Czerpak i Piotrowska 2003, Bishop i in. 2015). Odkrycie nowej grupy cytokin aromatycznych może być alternatywą dla stosowania BA/BAP w celu zmniejszenia zaburzeń fizjologicznych spowodowanych ich nadmiernym lub długotrwałym stosowaniem, a także zmniejszenia stresu oksydacyjnego w mikrorozmnażanych roślinach (Bairu i in. 2009, Amoo i in. 2011, Aremu i in. 2012, Naaz i in. 2019).



Rycina 4. Schemat własny chemicznej struktury *meta*-Topoliny (mT).

Meta-Topolina, jako przedstawiciel cytokinin aromatycznych (Ryc. 4) wyizolowana z rodzaju topola (*Populus*), może stanowić alternatywę dla popularnej BA (Aremu i in. 2012). Pionierskie badania przeprowadzone przez Werbrouck (1996) z wykorzystaniem mT i BAP na skrzydłokwiecie kwiecistym (*Spathyphyllum floribunda*) dostarczyły informacji na temat lepszego metabolizowania mT, co przyczyniło się do zwiększonej proliferacji i późniejszego lepszego ukorzenia się mikrosadzonek *ex vitro*. W badaniu Koszeghi i innych (2014), w którym porównali wpływ mT i BA na regenerację bazylii pospolitej (*Oicum basilicum*), wykazali, że zastosowanie pożywki suplementowanej mT wpłynęło na wytwarzanie większej liczby pędów. Dodatkowo, badanie przeprowadzone przez Naidoo i innych (2017) na *Scadoxus puniceus* potwierdziło, że dodanie cytokinin z grupy topolin do pożywki złagodziło wpływ hipertonicznego działania BA na tkanki roślinne. Połączenie BA i mT zmniejszyło wyciek substancji fenolowych do pożywki i poprawiło proliferację oraz rozwój roślin.

2.10. Znaczenie węglowodanów w rozwoju geofitów

Geofity, będące roślinami posiadającymi charakterystyczne organy przetrwalne, tj. bulwy, kłącza czy cebule, cechują się gromadzeniem w swoich tkankach wysokich zawartości węglowodanów oraz wody (Al-Rowaily i in. 2019). Rezerwy te przechowywane są w mięsistych podstawach liści, łuskach cebul bądź bulwach (Theron

i Jacobs 1996). Skrobia jest najobficiej występującym węglowodanem zapasowym u tej grupy roślin (Lloyd i Kötting 2016), jednak są też inne, które odpowiadają za prawidłowy wzrost i rozwój rośliny. Do takich należą m.in. fruktany czy glukomannany (Ranwala i Miller 2008). U geofitów podstawową rolą węglowodanów jest dostarczenie węgla oraz energii potrzebnej do wzrostu rośliny po okresie spoczynku, mimo warunków często niesprzyjających, a w szczególności wykorzystywane są do procesu oddychania oraz jako składnik strukturalny – do budowy ściany komórkowej (Ascough i in. 2008, Pouris i in. 2023).

Skrobia, która stanowi główne źródło węgla w geofitach, jest nierozpuszczalnym glukanem składającym się z dwóch polimerów glukozy – amylozy i amylopektyny, które odpowiadają za magazynowanie i dostarczanie energii (Zeeman i in. 2010). Synteza tego związku zachodzi, gdy tempo fotosyntezy jest wystarczająco wysokie, aby zapewnić nadmiar monosacharydów do zaspokojenia potrzeb metabolicznych. Analogicznie, gdy fotosynteza nie wspiera wszystkich szlaków metabolicznych, dochodzi do hydrolizy zgromadzonej w tkankach roślinnych skrobi. Cukry rozpuszczalne i skrobia są zatem przekształcane w różnych momentach cyklu życiowego rośliny, zgodnie z równowagą między syntezą węglowodanów, a ich zużyciem (Almeida i in. 2021). Do syntezy skrobi dochodzi w plastydach – chloroplastach (w liściach) lub też w wyspecjalizowanych amyloplastach (Pfister i Zeeman 2016). Proces ten możliwy jest dzięki syntazie skrobiowej związanej z ziarnami skrobi, enzymowi rozgałęziającemu i pullulanazie (Cho i Kang 2020). Ze względu na brak organów fotosyntetyzujących u geofitów w okresie jesienno-zimowym, w organach spichrzowych dochodzi do hydrolizy skrobi na rzecz cukrów rozpuszczalnych (Khodorova i Boitel 2013).

Fruktany (liniowe lub rozgałęzione polimery fruktozy z końcową jednostką glukozy) są najczęstszą alternatywą dla skrobi jako węglowodany zapasowe w roślinach. Szacuje się, że fruktany występują jako główny węglowodan zapasowy u 15% współczesnych gatunków roślin okrytozalążkowych. W przypadku geofitów fruktany obecne są m. in. u przedstawicieli takich rodzin jak: *Amaryllidaceae*, *Iridaceae* czy *Liliaceae* (Ranwala i Miller 2008). Fruktany w roślinie gromadzone są w wakuoli i odgrywają ważną rolę w wegetacji roślin, w tym w osmoregulacji, krioprotekcji i odporności na suszę czy zimno (Yoshida 2021). Wiele roślin jednorocznych i wieloletnich gromadzi fruktany jako źródło energii, które zapewnia przetrwanie zimujących tkanek, zaś na początku okresu wegetacji degraduje fruktany w celu

kiełkowania lub regeneracji tkanek. Inulina i fruktooligosacharydy (FOS), należące do grupy fruktanów, są szeroko rozpowszechnione jako węglowodany magazynowane w roślinach leczniczych, owocach, warzywach czy roślinach ozdobnych (Hambarliyska i in. 2023). Dodatkowym zadaniem przed jakim stawiane są fruktany, to przeciwdziałanie stresom abiotycznym (Ejaz i in. 2020). Według Peshev i innych (2013) ta grupa związków bierze udział w wygaszaniu reaktywnych form tlenu (*ang. Reactive Oxygen Species, ROS*), przez co przypuszcza się, że pośrednio lub bezpośrednio stymuluje mechanizm antyoksydacyjny roślin.

Ostatnią grupę węglowodanów obecnych w geofitach stanowią glukomannany. Są to liniowe lub rozgałęzione heteropolimery glukozy i mannozy, które zwykle tworzą żelopodobne śluzy. Glukomannany występują również jako węglowodany zapasowe u niektórych geofitów, choć w mniejszym stopniu niż fruktany. Na przykład, glukomannan został zaobserwowany w tkankach lilii (*Lilium*), narcyza (*Narcissus*) czy amarylisa (*Amaryllis*). Koloidalna struktura glukomannanów sugeruje możliwą rolę w komórkowych stosunkach wodnych; jednak nie ma jednoznacznych dowodów na ich specyficzne funkcje u geofitów (Ranwala i Miller 2008).

3. Cel pracy

Cel i zakres badań

Celem badań była ocena zróżnicowania morfologicznego i genetycznego klonów hodowlanych i ich form wyjściowych oraz udoskonalenie metody mikrorozmnażania *Hippeastrum*, zwłaszcza w aspekcie zastosowania nowego regulatora wzrostu – karrikininy oraz biostymulatorów. Do badań wytypowano 15 klonów, po 3 z każdego efektywnego krzyżowania, po wstępnej selekcji przeprowadzonej w roku pierwszego masowego kwitnienia uzyskanych siewek.

Badania obejmowały ocenę fenotypową, określenie liczby chromosomów, poziomu ploidalności i wielkości genomu, określenie liczby i długości aparatów szparkowych, zbadanie stopnia pokrewieństwa klonów hodowlanych oraz form wyjściowych przy użyciu markerów RAPD i ISSR. W celu udoskonalenia metody mikrorozmnażania *hippeastrum* przeprowadzono eksperymenty nad wpływem nowych regulatorów wzrostu, w tym karrikininy, a także dwóch wybranych biostymulatorów na wydajność samego mikrorozmnażania jak i aklimatyzacji mikrosadzonek *ex vitro* i jej dalszej uprawy. Dodatkowo przeprowadzono analizę biochemiczną zawartości skrobi i fruktanów w cebulach form rodzicielskich i wybranych klonów hodowlanych.

Hipotezy badawcze:

1. Deskryptor UPOV opracowany dla rodzaju *Hippeastrum* i katalog barw Królewskiego Towarzystwa Ogrodniczego w Londynie (RHS Colour Chart) pozwalają na dokładną fenotypową ocenę badanych genotypów.
2. Metody barwienia Feulgena i DAPI oraz cytometria przepływowa umożliwią określenie liczby chromosomów i poziomu ploidalności oraz oszacowanie wielkości genomu badanych form rodzicielskich oraz 15 wyselekcjonowanych klonów *Hippeastrum*.
3. Biostymulatory (Goëmar Goteo i Agro-Sorb® Folium) dodawane do pożywek *in vitro* są alternatywą dla syntetycznych regulatorów wzrostu roślin (BA i NAA).
4. Regulatory wzrostu (mT i KAR₁) optymalizują organogenezę bezpośrednią badanych genotypów rozmnażanych metodą *in vitro*.
5. Liczba i długość aparatów szparkowych mogą być uznane za marker zmienności morfologicznej badanych genotypów.
6. Markery RAPD i ISSR pozwolą określić stopień pokrewieństwa genetycznego klonów hodowlanych oraz form wyjściowych.
7. Biostymulatory (Goëmar Goteo oraz Agro-Sorb® Folium) i nowy regulator wzrostu KAR₁ wpływają na wybrane parametry biometryczne mikrosadzonek badanych genotypów po aklimatyzacji *ex vitro*.
8. Nawożenie, biostymulacja oraz traktowania KAR₁ wpływają na wybrane parametry biometryczne roślin po pierwszym cyklu uprawy.
9. Nawożenie i traktowanie biostymulatorami, KAR₁ wpływają na akumulację skrobi i fruktanów w cebulach *Hippeastrum*.
10. Wśród wyselekcjonowanych klonów znajdują się klony o wyższej niż formy rodzicielskie zawartości cukrów zapasowych.

4. Materiał i metody

4.1. Materiał roślinny

Materiałem roślinnym we wszystkich poniższych doświadczeniach były klony hodowlane *Hippeastrum ×chmielii* Chm. oznaczone numerami 6 i 18 oraz odmiany *Hippeastrum hybridum* hort. 'Gervase', 'Rio Negro' oraz 'Royal Velvet', użyte w pracach hodowlanych w 2018 roku jako formy mateczne i ojcowskie. Wykorzystano również wybrane 15 klonów hodowlanych otrzymanych z powyższych krzyżowań: 0033-10, 0037-13, 0040-31, 0050-15, 0050-16, 0072-17, 0003-13, 0004-04, 0004-05, 0021-10, 0023-11, 0062-10, 0015-03, 0017-01 oraz 0075-25 (Fot. 7-10, Tab. 1). Materiał wykorzystany w przeprowadzonych doświadczeniach stanowiły korzenie, cebule, liście oraz kwiaty.

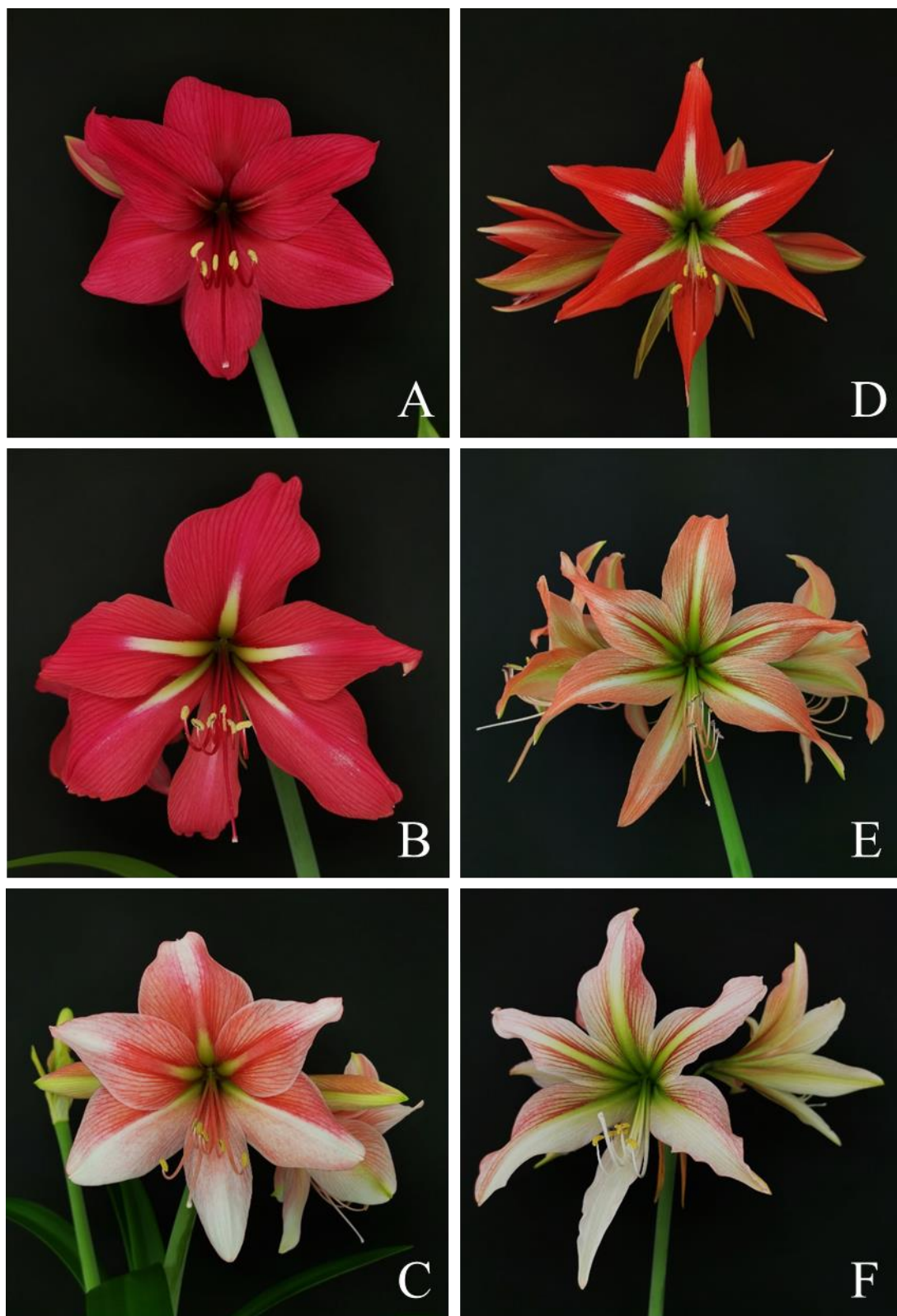
Wszystkie rośliny pochodziły z populacji hodowlanych oraz kolekcji Samodzielnego Zakładu Roślin Ozdobnych (SZRO), Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie (SGGW).



Fot. 7. Formy rodzicielskie klon 6 (A) i 18 (B) *H. ×chmii* oraz odmiany 'Gervase' (C), 'Rio Negro' (D) oraz 'Royal Velvet' (E) *H. hybridum* (zdjęcia własne)



Fot. 8. Klony hodowlane 0033-10 (A), 0037-13 (B), 0040-31 (C), 0050-15 (D), 0050-16 (E), 0072-17 (F) (zdjęcia własne)



Fot. 9. Klony hodowlane 0003-13 (A), 0004-04 (B), 0004-05 (C), 0021-10 (D), 0023-11 (E), 0062-10 (F) (zdjęcia własne)



Fot. 10. Klony hodowlane 0015-03 (A), 0017-01 (B), 0075-25 (C)
(zdjęcia własne)

4.2. Analiza fenotypowa badanych genotypów

Analizie poddano 15 wybranych klonów hodowlanych uzyskanych ze skrzyżowania *Hippeastrum ×chmielii* Chm. klon 6 i klon 18 z odmianami *Hippeastrum hybridum* hort. 'Gervase', 'Rio Negro' oraz 'Royal Velvet', w wyniku zapyleń przeprowadzonych w 2018 roku wraz z 5 formami wyjściowymi (Tab. 1).

Tabela 1. Klony hodowlane uzyskane w 2018 roku ze skrzyżowania *H. ×chmielii* z odmianami *H. hybridum*.

Krzyżowanie	Numer klonu
<i>H. ×chmielii</i> klon 6 × <i>H. hybridum</i> 'Gervase'	0033-10
	0037-13
	0040-31
<i>H. ×chmielii</i> klon 6 × <i>H. hybridum</i> 'Royal Velvet'	0050-15
	0050-16
	0072-17
<i>H. ×chmielii</i> klon 18 × <i>H. hybridum</i> 'Gervase'	0003-13
	0004-04
	0004-05
<i>H. ×chmielii</i> klon 18 × <i>H. hybridum</i> 'Rio Negro'	0021-10
	0023-11
	0062-10
<i>H. ×chmielii</i> klon 18 × <i>H. hybridum</i> 'Royal Velvet'	0015-03
	0017-01
	0075-25

Pierwsze obserwacje i oceny wyselekcjonowanych mieszańców wykonano już w 2019 i 2020 roku, a pierwsze kwitnienie części roślin zanotowano w 2020 roku. Każdy z wybranych genotypów posiada swój indywidualny numer hodowlany nadany wcześniej każdej siewce. Pod koniec lutego 2021 roku rośliny uprawiane w obiektach szklarniowych SGGW w Warszawie zakwitły masowo i zostały poddane kompleksowej ocenie i pomiarom wg deskryptora UPOV dla rodzaju *Hippeastrum* z 2001 roku (UPOV 2001) (Fot. 12-13):

1. Szerokość liści [cm];
2. Antocyjanowe zabarwienie liści;
3. Długość pędu [cm];
4. Szerokość pędu w 1/3 wysokości [mm];

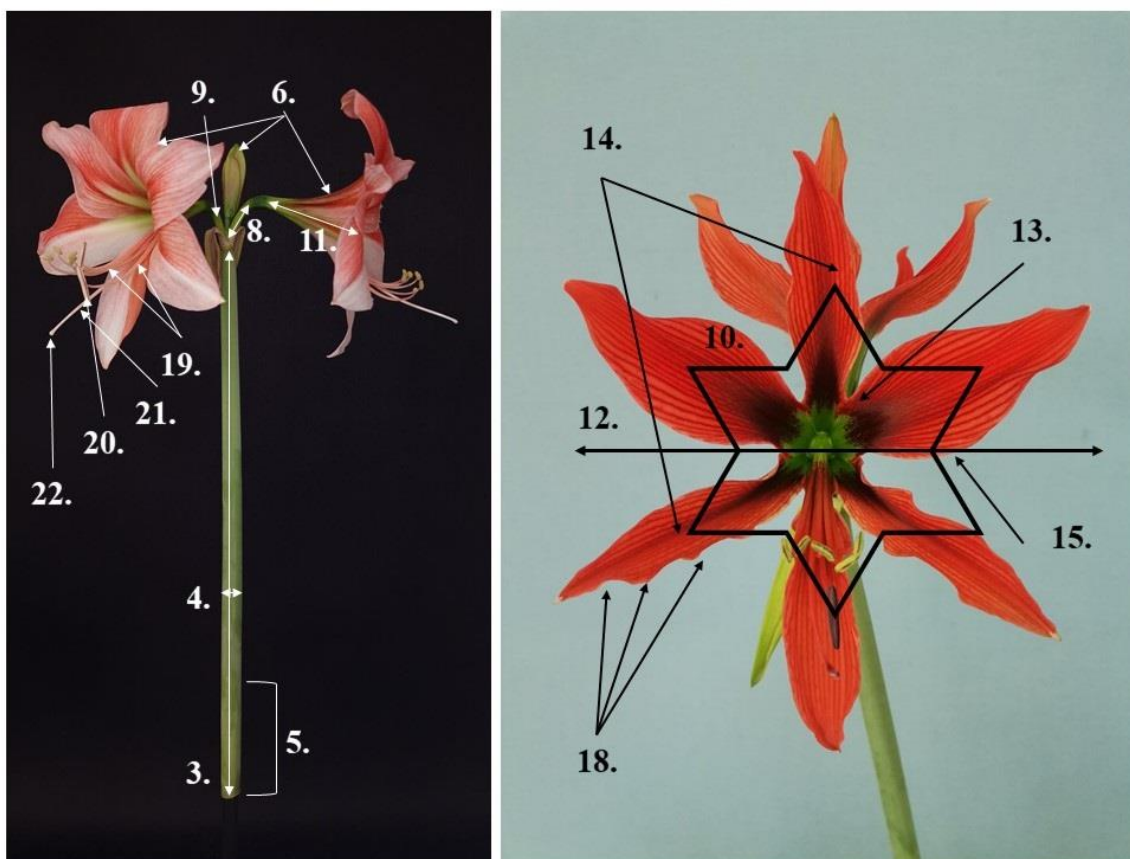
5. Antocyjanowe zabarwienie podstawy pędu;
6. **Kwiatostan: liczba kwiatów;**
7. Typ kwiatu (pojedynczy lub pełny);
8. Kwiat: długość szypułki [cm];
9. Kwiat: antocyjanowe zabarwienie szypuły;
10. **Kwiat: kształt okwiatu z przodu;**
11. **Kwiat: maksymalna długość okwiatu [cm];**
12. **Kwiat: maksymalna szerokość okwiatu [cm];**
13. Kwiat: nakładanie się działek okwiatu;
14. Kwiat: kształt zewnętrznych działek okwiatu;
15. Kwiat: nacięcia wewnętrznych działek okwiatu;
16. **Kwiat: główna barwa wewnętrznej strony okwiatu [wg CC RHS];**
17. Kwiat: jednorodność barwy;
18. Działki kielicha: stopień skręcenia płatków;
19. Pręciki: barwa [wg CC RHS];
20. Pylniki: barwa (tylko przed otwarciem) [wg CC RHS];
21. Słupek: barwa [wg CC RHS];
22. Znamię słupka: wielkość [cm].



Fot. 11. Międzynarodowy katalog barw (RHS Colour Chart) (zdjęcie własne)



Fot. 12. Lokalizacja cech deskryptorowych 1-2 do oceny fenotypowej liści dla rodzaju *Hippeastrum* (schemat własny)



Fot. 13. Lokalizacja cech deskryptorowych 3-22 do oceny fenotypowej pędów kwiatostanowych i kwiatów dla rodzaju *Hippeastrum* (schemat własny)

Pomiary wykonywano w fazie pąków (cechy nr 11 i 20 wg deskryptora) oraz pełnego rozkwitu (wszystkie pozostałe cechy) dla 5 roślin w jednym powtórzeniu. Pomiary biometryczne wykonywano za pomocą linijki (cechy nr 1, 3, 8, 11, 12 i 22) oraz suwmiarki (cecha nr 4). Barwy kwiatów oraz ich struktur oznaczano za pomocą międzynarodowego katalogu/kart barw Królewskiego Towarzystwa Ogrodniczego w Londynie (Colour Chart The Royal Horticultural Society, London) (CC RHS) (Fot. 11).

Ocenie i pomiarom poddano wszystkie 22 cechy wg deskryptora, jednak w rozprawie doktorskiej przedstawiono wybrane najważniejsze cechy (zaznaczone pogrubioną czcionką na liście cech). Uzyskane wyniki zostały zebrane dla każdego genotypu oraz opracowane statystycznie.

4.3. Określenie liczby chromosomów oraz poziomu ploidalności

Materiałem doświadczalnym były korzenie pobierane z ustabilizowanych 4-tygodniowych kultur *in vitro* wszystkich 20 badanych genotypów hipeastrum. Końcówki korzeni o długości 0,5-1 cm traktowano roztworem 8-hydroksychinoliny (0,028%) w 4°C przez 1,5 godziny w ciemności, a następnie w 21°C przez 3 godziny również w ciemności. Po tym czasie materiał utrwalano w odczynniku Carnoya (lodowaty kwas octowy i alkohol absolutny w stosunku 1:3). Badania dotyczące określenia liczby chromosomów oraz poziomu ploidalności przeprowadzono w SZRO SGGW oraz w Zakładzie Biologii Stosowanej w Instytucie Ogrodnictwa – PIB w Skierniewicach.

4.3.1. Określanie liczby chromosomów

Odczynnik Schiffa do barwienia chromosomów metodą Feulgena

W celu sporządzenia roztworu Schiffa rozpuszczono 0,5 g fuksyny zasadowej w 100 ml wrzącej wody destylowanej. Następnie mieszaninę ostudzoną do temperatury 55°C przesączano przez filtr celulozowy. Przesącz schładzano do 26°C, a następnie dodawano do niego 10 ml 1N kwasu solnego (HCl) i 0,5 g pirosiarczanu potasu ($K_2S_2O_5$). Roztwór przechowywano w ciemnym, szczelnie zamkniętym naczyniu przez 24 godziny w ciemności. Po 24 godzinach do roztworu dodawano 0,5 g węgla aktywnego, wytrząsano, a następnie przefiltrowywano przez bibułę filtracyjną (Lillie 1951).

Metoda barwienia Feulgena

Korzenie długości 0,5-1 cm utrwalone wcześniej w roztworze 8-hydroksychinoliny przepłukiwano jednokrotnie wodą destylowaną. Hydrolizę przeprowadzano w 1N HCl w temperaturze 60°C przez 20 min. Następnie przepłukiwano jednokrotnie w wodzie destylowanej. Korzenie przenoszono do odczynnika Schiffa i barwiono w ciemności przez 60 min. Sporządzono preparaty gniecione – na szkiełko podstawowe nanoszono stożki wzrostu korzeni (1 mm) i rozgniatano w obecności 45% kwasu octowego. Następnie preparat przykrywano szkiełkiem nakrywkowym i przygniatano. Całość zamrażano w ciekłym azocie przez 20 sekund oraz utrwalano po wysuszeniu w DPX. Obserwacji dokonywano pod mikroskopem świetlnym Optiphot-2 (Nikon, Tokio, Japonia).

Metoda barwienia DAPI

Korzenie długości 0,5-1 cm utrwalone wcześniej w roztworze 8- hydroksychinoliny przepłukiwano jednokrotnie wodą destylowaną, a następnie zalewano zimnym buforem cytrynianowym o pH 4,8, w 3 powtórzeniach po 10 min (4°C, ciemność). Odsączono bufor i zalewano mieszaniną enzymów 4/2 (4% pektynazy oraz 2% celulazy), a następnie materiał przenoszono do ciepłarki do temperatury 37°C na 80 min. Po tym czasie enzym odsączano, a następnie korzenie przepłukiwano jednokrotnie buforem cytrynianowym przez 20 min (4°C, ciemność). Sporządzono preparaty gniecione – na szkiełko podstawowe nanoszono stożki wzrostu korzeni (1 mm) i rozgniatano w obecności 45% kwasu octowego. Następnie preparat przykrywano szkiełkiem nakrywkowym i przygniatano. Po zamrożeniu w ciekłym azocie (20 sekund), szkiełka nakrywkowe usuwano za pomocą żyletki, a preparaty odwadniano w absolutnym etanolu, suszono i wybarwiano 2,5 g·ml⁻¹ 4',6-diamidino-2-fenyloindolu (DAPI) oraz utrwalano w DPX. Obserwacji dokonywano pod mikroskopem epifluorescencyjnym Optiphot-2 (Nikon, Tokio, Japonia) przy użyciu wzbudzenia UV do wizualizacji DAPI (Nikon, Tokio, Japonia).

4.4. Analizy cytometryczne

Analiza poziomu ploidalności

Analizę poziomu ploidalności przeprowadzono metodą cytometrii przepływowej (FCM). Jądra ekstrahowano z rozdrobnionego materiału roślinnego (liście z kultur *in vitro*) w szalce Petriego, która zawierała 0,5 ml buforu do izolacji jąder Partec z 1% poliwinylpirolidonem (PVP), do którego dodawano DAPI w ilości 50 µg·ml⁻¹. Po dodaniu 1,5 ml buforu izolacyjnego, próbki filtrowano przez filtr 30 µm (Sysmex, Niemcy) i inkubowano w temperaturze pokojowej (21°C) przez 30 min w ciemności. Fluorescencję jąder mierzono za pomocą aparatu CyFlow Ploidy Analyser z oprogramowaniem CyView (CyFlow PA, Partec, Niemcy) z wykorzystaniem diody LED UV (365 nm). Jako kontrolę wykorzystano próbki diploidalnej formy *H. hybridum* 'Rio Negro' z kultur *in vitro*.

Analiza wielkości genomu

Analizę wielkości genomu przeprowadzono metodą cytometrii przepływowej (FCM). Próbkę liści o wymiarach 1×0,5 cm pobierano z kultur *in vitro* wszystkich badanych genotypów. Tkanę liścia rozdrabniano wraz z fragmentem standardu wewnętrznego w szalce Petriego, który zawierała 0,5 ml buforu Partec do izolacji jąder z 1% PVP, do którego dodawano jodek propidyny w ilości 50 µg·ml⁻¹ i RNazę również w ilości 50 µg·ml⁻¹. Jako standard wewnętrzny zastosowano *Agave americana* 'Marginata' (2C DNA=15,9 pg). Po dodaniu 1,5 ml buforu izolacyjnego, próbki filtrowano przez filtr 30 µm (Sysmex, Niemcy) i inkubowano w temperaturze pokojowej (21°C) przez 45-60 min w ciemności. Fluorescencję jąder mierzono za pomocą aparatu CyFlow Ploidy Analyser z oprogramowaniem CyView (CyFlow PA, Partec, Niemcy), przy użyciu zielonego lasera Nd-YAG (532 nm).

4.5. Mikrorozmnażanie *Hippeastrum*

Wszystkie doświadczenia dotyczące mikrorozmnażania przeprowadzono w Laboratorium Kultur Tkankowych SZRO SGGW. Materiałem eksperymentalnym były mikrocebule wszystkich 20 genotypów *hippeastrum* pochodzące z ustabilizowanych kultur *in vitro*. W doświadczeniach z biostymulatorami oraz roślinnymi regulatorami wzrostu zastosowano cztery modyfikacje pożywki MS (Murashige i Skoog 1962) (Tab. 2).

Podstawowa pożywka MS we wszystkich przeprowadzonych doświadczeniach zawierała witaminy, mio-inozytol w ilości 100 mg·l⁻¹, sacharozę w stężeniu 3%, a całość była zestalana agarą firmy Difco Bacto Agar (8 g·l⁻¹). Odczyn pożywki ustalano na poziomie 5,8, a następnie rozlewano ją po 45 ml do słoików o pojemności 330 ml. Pożywka była sterylizowana w autoklawie przez 19 min, w temperaturze 121°C i pod ciśnieniem 1 atm.

Pasażowanie odbywało się na stole komory z laminarnym przepływem powietrza (Holten LaminAir model 1,5; Thermo Electron Corporation, USA). Po założeniu doświadczenia słoiki z kulturami umieszczono w fitotronie przy 16 godzinnym fotoperiodzie (natężenie kwantowe światła wynosiło 35 µmol·m⁻²·s⁻¹) i temperaturze 22°C ± 1°C.

Po 10 tygodniach od założenia doświadczeń (4.5.1 i 4.5.2) dokonano oceny parametrów biometrycznych. Pomiary obejmowały: masę cebul z korzeniami i liśćmi

oraz masę samych mikrocebulek, liczbę cebulek przybyszowych, liczbę i długość liści, liczbę i długość korzeni.

4.5.1. Ocena wpływu biostymulatorów na rozmnażanie, cebulowanie oraz ukorzenianie badanych genotypów

W doświadczeniu zastosowano cztery modyfikacje składu pożywki MS przedstawione w tabeli 2.

Tabela 2. Modyfikacje składu pożywki MS w odniesieniu do suplementacji roślinnymi regulatorami wzrostu i biostymulatorami.

1.	Bez regulatorów wzrostu i biostymulatorów (Kontrola)
2.	BA 2 mg·l ⁻¹ + NAA 0,5 mg·l ⁻¹
3.	Goëmar Goteo 2 ml·l ⁻¹
4.	Agro-Sorb® Folium 5 ml·l ⁻¹

Biostymulatory Goëmar Goteo oraz Agro-Sorb® Folium dodawano do pożywki po jej sterylizacji za pomocą jałowych filtrów strzykawkowych firmy Lab LogisticGroup GmbH (Niemcy) o średnicy 45 µm w celu zapewnienia sterylności przy równoczesnym uniknięciu rozpadu biologicznego.

Każde traktowanie doświadczalne składało się z 10 powtórzeń - jeden słoik stanowił jedno powtórzenie. Na jedno powtórzenie przypadały 3 mikrocebule bez liści i korzeni, które zostały podzielone na pół z zachowanym fragmentem piętki.

4.5.2. Ocena wpływu regulatorów wzrostu na rozmnażanie, cebulowanie oraz ukorzenianie badanych genotypów

W doświadczeniu zastosowano cztery modyfikacje składu pożywki MS przedstawione w tabeli 3.

Tabela 3. Modyfikacje składu pożywki MS w odniesieniu do suplementacji roślinnymi regulatorami wzrostu.

1.	Bez regulatorów wzrostu (Kontrola)
2.	mT 2 mg·l ⁻¹
3.	KAR ₁ 10 ⁻⁹ M
4.	mT 2 mg·l ⁻¹ + KAR ₁ 10 ⁻⁹ M

Każde traktowanie doświadczalne składało się z 7 powtórzeń - jeden słoik stanowił jedno powtórzenie. Na jedno powtórzenie przypadały 3 mikrocebule bez liści i korzeni, które zostały podzielone na pół z zachowanym fragmentem piętki.

4.6. Analiza markerów fenotypowych – aparaty szparkowe

Z fragmentów młodych, dobrze rozwiniętych liści pobranych na wysokości 4,5 cm od ich wierzchołka wykonano preparaty z epidermy metodą wg Dyki i Hadrys (1996). Na spodnią stronę liścia przyklejano bezbarwną taśmę i mocno dociskano. Następnie zdrapywano delikatnie tkankę, aby pozostał bezbarwny film na taśmie. Uzyskany film płukano w wodzie destylowanej i barwiono przez kilka sekund w błękitie toluidyny (2% błękit toluidyny w 1% roztworze wodnym czteroboranu sodu), a następnie dokładnie płukano w wodzie destylowanej. Na odtłuszczone szkiełko podstawowe nakładano kroplę gliceryny, na którą wykładano taśmę z wybarwioną epidermą i наносzono kolejną kroplę gliceryny. Całość przykrywano szkiełkiem nakrywkowym.

Pomiarów liczby i długości aparatów szparkowych dokonywano przy użyciu mikroskopu Nikon Eclipse 80i i programu NIS-Elements BR 2.30 (Nikon, Tokio, Japonia). Aparaty liczone na 1 mm² przy obiektywie ×10 dla 5 pól widzenia dla 3 przygotowanych preparatów. Ich długość określano przy powiększeniu 200×, a pomiary wykonywano w 1 powtórzeniu po 30 aparatów dla 3 przygotowanych preparatów.

4.7. Określenie stopnia pokrewieństwa markerami RAPD oraz ISSR

4.7.1. Izolacja DNA

DNA wszystkich genotypów *hipeastrum* izolowano z mikrocebulek uzyskanych w kulturach *in vitro*. Pobierano po 5 mikrocebulek z kombinacji kontrolnej pożywki (bez regulatorów wzrostu), które ucierano w moździerzu z dodatkiem ciekłego azotu. Z homogenizatu sporządzano naważki 0,1 g i umieszczano je w 1,5 ml probówkach Eppendorfa. Tak uzyskany materiał przechowywano w temperaturze -86°C. DNA ekstrahowano za pomocą zestawu GeneMATRIX Plant and Fungi DNA Purification firmy EURx® Sp. z o.o. (Gdańsk, Polska).

Celem określenia wydajności ekstrakcji DNA przeprowadzono elektroforezę w 1,5% żelu agarozowym (Agarozą BIO STANDARD firmy Prona Agarose) obciążonym 10 µl bromku etydyny.

4.7.2. Reakcje PCR

W celu przeprowadzenia łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR) została sporządzona mieszanina w objętości 25 µl (Tab. 4).

Tabela 4. Skład mieszaniny reakcyjnej do przeprowadzania łańcuchowej reakcji polimerazy.

Składniki mieszaniny reakcyjnej	Zawartość [µl] w objętości 25 µl
H ₂ O	16,875
Bufor 10× Pol Buffer C	2,5
dNTPs	2,5
Primer	2
Taq polimeraza 1000 U	0,125
DNA	1

Przeprowadzono trzykrotnie reakcje dla 30 markerów RAPD oraz ISSR. Zarówno reakcje PCR - RAPD jak i PCR - ISSR przeprowadzone zostały w termocyklerze firmy Eppendorf (Mastercycler[®] nexus gradient), a amplifikację przeprowadzono wg schematu podanego w tabelach 5 oraz 6. Wykazy starterów użytych w reakcjach zestawiono w tabelach 7 oraz 8.

Tabela 5. Profil reakcji PCR – RAPD.

Etap PCR - RAPD	Temperatura [°C]	Czas [min]	Liczba cykli
Wstępna denaturacja	94,0	5,0	1
Denaturacja	92,0	1,3	
Przyłączanie starterów	35,0	1,3	40
Wydłużanie fragmentów DNA	72,0	1,3	
Końcowe wydłużanie fragmentów DNA	72,0	10,0	1

Tabela 6. Profil reakcji PCR - ISSR.

Etap PCR - ISSR	Temperatura [°C]	Czas [min]	Liczba cykli
Wstępna denaturacja	94,0	5,0	1
Denaturacja	92,0	1,3	
Przyłączanie starterów	-	1,3	38
Wydlużanie fragmentów DNA	72,0	1,3	
Końcowe wydłużanie fragmentów DNA	72,0	10,0	1

Tabela 7. Wykorzystane startery w reakcji PCR – RAPD.

Lp.	Symbol startera	Sekwencja starterów 5' - 3'	Lp.	Symbol startera	Sekwencja starterów 5' - 3'
1.	A-01	CAG GCC CTT C	16.	A-16	AGC CAG CGA A
2.	A-02	TGC CGA GCT G	17.	A-17	GAC CGC TTG T
3.	A-03	AGT CAG CCA C	18.	A-18	AGG TGA CCG T
4.	A-04	AAT CGG GCT G	19.	A-19	CAA ACG TCG G
5.	A-05	AGG GGT CTT G	20.	A-20	GTT GCG ATC C
6.	A-06	GGT CCC TGA C	21.	B-01	GTT TCG CTC C
7.	A-07	GAA ACG GGT G	22.	C-02	GTG AGG CGT C
8.	A-08	GTG ACG TAG G	23.	C-06	GAA CGG ACT C
9.	A-09	GGG TAA CGC C	24.	C-11	AAA GCT GCG G
10.	A-10	GTG ATC GCA G	25.	D-05	TGA GCG GAC A
11.	A-11	CAA TCG CCG T	26.	D-10	GGT CTA CAC C
12.	A-12	TCG GCG ATA G	27.	D-20	ACC CGG TCA C
13.	A-13	CAG CAC CCA C	28.	E-01	CCC AAG GTC C
14.	A-14	TCT GTG CTG G	29.	E-03	CCA GAT GCA C
15.	A-15	TTC CGA ACC C	30.	F-02	GAG GAT CCC T

Tabela 8. Wykaz starterów oraz ich temperatura przyłączenia w reakcji PCR – ISSR.

Lp.	Starter	Sekwencja starterów 5' - 3'	Temperatura [°C]
1.	807	AGA GAG AGA GAG AGA GT	45,6
2.	808	AGA GAG AGA GAG AGA GC	48,1
3.	809	AGA GAG AGA GAG AGA GG	48,1
4.	810	GAG AGA GAG AGA GAG AT	45,6
5.	811	GAG AGA GAG AGA GAG AC	48,1
6.	812	GAG AGA GAG AGA GAG AA	46,6
7.	816	CAC ACA CAC ACA CAC AT	45,6
8.	818	CAC ACA CAC ACA CAC AG	48,0

9.	819	GTG TGT GTG TGT GTG TA	45,6
10.	825	ACA CAC ACA CAC ACA CT	45,6
11.	827	ACA CAC ACA CAC ACA CG	48,0
12.	835	AGA GAG AGA GAG AGA GGC	51,3
13.	836	AGA GAG AGA GAG AGA GCA	49,0
14.	840	GAG AGA GAG AGA GAG ACT	49,0
15.	841	GAG AGA GAG AGA GAG ATC	51,0
16.	842	GAG AGA GAG AGA GAG ACG	51,3
17.	847	CAC ACA CAC ACA CAC AGC	53,3
18.	848	CAC ACA CAC ACA CAC AGG	53,3
19.	856	ACA CAC ACA CAC ACA CCA	49,0
20.	857	ACA CAC ACA CAC ACA CCG	51,3
21.	861	ACC ACC ACC ACC ACC ACC	55,9
22.	872	GAT AGA TAG ATA GAT A	34,1
23.	873	GAC AGA CAG ACA GAC A	44,4
24.	876	GAT AGA TAG ACA GAC A	39,3
25.	878	GGA TGG ATG GAT GGA T	44,4
26.	884	ATA AGA GAG AGA GAG AG	43,2
27.	888	GGG CAC ACA CAC ACA CA	50,5
28.	890	CCA GGT GTG TGT GTG TGT	51,3
29.	899	CAT GGT GTT GGT CAT TGT TCC	54,0
30.	900	ACT TCC CCA CAG GTT AAC ACA	54,0

4.7.3. Elektroforeza

W celu rozdzielenia produktów reakcji PCR elektroforezę przeprowadzano w 1,5% żelu agarozowym (Agaroz BIO STANDARD firmy Prona Agarose) z dodatkiem 10 µl bromku etydyny. Do kieszonek dodawano po 25 µl mieszaniny reakcyjnej, a jako kontrolę zastosowano marker Perfect™ 100 bp DNA ladder (EURx ® Sp. z o.o., Gdańsk, Polska). Rozdział elektroforetyczny, zarówno dla reakcji PCR – RAPD, jak i PCR – ISSR, prowadzono przez 75 min przy napięciu 120 V, a produkty amplifikacji utrwalano za pomocą aparatury Syngen Imagine i oprogramowania Syngen Imagine 1.1 (Syngen Biotech Sp. z o.o. Sp. k., Wrocław, Polska).

4.8. Aklimatyzacja i uprawa

4.8.1. Ocena wpływu biostymulatorów i KAR₁ na wybrane cechy mikrosadzonek po aklimatyzacji *ex vitro*

Etap aklimatyzacji *ex vitro* przeprowadzono na pojedynczych minicebulach hipeastrum z liśćmi i korzeniami (mikrosadzonkach) uzyskanych *in vitro*. Mikrosadzonki dokładnie oczyszczono z resztek agaru i posadzono w transparentne doniczki o średnicy 12 cm, wypełnione podłożem uniwersalnym firmy AURA (AGARIS POLAND Sp. z o.o., Pasłęk, Polska) wymieszanym z perlitem o granulacji 0-2,5 mm (1:1). Kolejno doniczki zostały umieszczone w transparentnych pojemnikach o wymiarach 40×30×40 cm w fitotronie, w warunkach wilgotności względnej powietrza na poziomie 90%, temperaturze 21°C oraz 16-godzinnym dniu. W doświadczeniu zastosowano 4 traktowania po 3 powtórzenia w każdym. Na jedno powtórzenie przypadało 7 roślin, a pojedyncza roślina (mikrosadzonka) była obiektem doświadczalnym. Przez kolejne trzy tygodnie rośliny opryskiwano i podlewano według schematu przedstawionego w tabeli 9.

Tabela 9. Traktowania doświadczone – aklimatyzacja mikrosadzonek hipeastrum *ex vitro*.

1.	Woda destylowana doglebowo i dolistnie, co tydzień – Kontrola
2.	Goëmar Goteo 0,2% doglebowo i dolistnie, co tydzień
3.	Agro-Sorb® Folium 0,5% doglebowo i dolistnie, co tydzień
4.	KAR ₁ 10 ⁻⁹ M doglebowo i dolistnie, co tydzień

Po 3 tygodniach oceniono przeżywalność mikrosadzonek oraz parametry biometryczne takie jak: liczba i długość liści oraz korzeni, masa zaaklimatyzowanych mikrosadzonek.

4.8.2. Ocena wpływu nawożenia, biostymulacji i traktowania KAR₁ na wybrane cechy roślin po 7 tygodniach uprawy, po zaaklimatyzowaniu mikrosadzonek

Rośliny po aklimatyzacji do warunków *ex vitro* zostały zważone i wysadzone do doniczek „P7” o wymiarach 7×7×7 cm wypełnionych takim samym podłożem jakie użyto do aklimatyzacji. Cztery traktowania doświadczone były analogiczne jak w doświadczeniu z aklimatyzacją mikrosadzonek. Dodatkowo zastosowano traktowanie z nawożeniem. Kompletny wykaz traktowań przedstawiono w tabeli 10. W skład każdego traktowania wchodziło po 7 roślin w trzech powtórzeniach, a każda roślina stanowiła powtórzenie doświadczone. Uprawę prowadzono przez 7 tygodni.

Tabela 10. Traktowania doświadczalne – dalsza uprawa po zaaklimatyzowaniu mikrosadzonek *Hippeastrum*.

1.	Woda destylowana doglebowo i dolistnie co tydzień – Kontrola
2.	Kristalon Zielony (NPK 18-18-18) 0,1% doglebowo i dolistnie co tydzień
3.	Goëmar Goteo 0,2% doglebowo i dolistnie co tydzień
4.	Agro-Sorb Folium 0,5% doglebowo i dolistnie co tydzień
5.	KAR ₁ 10 ⁻⁹ M doglebowo i dolistnie co tydzień

Po 7 tygodniach oceniono parametry biometryczne takie jak: liczba i długość liści oraz korzeni, masa całych roślin, a także przeprowadzono analizy biochemiczne zawartości skrobi i fruktanów (opis w rozdziale 4.9).



Fot. 14. Cebule *H. hybridum* 'Rio Negro' oraz klonu hodowlanego 0050-15 po aklimatyzacji, pogrupowane (od lewej) wg masy, przed założeniem doświadczenia uprawowego (zdjęcie własne)

4.9. Analizy zawartości skrobi i fruktanów

Oznaczanie suchej masy cebul

W celu oszacowania suchej masy próbki materiału roślinnego – cebule o masie 0,25 g (po 3 z każdego traktowania doświadczalnego) umieszczano w aluminiowych zważonych naczynkach, po czym wstawiano do suszarki, gdzie suszono je przez 24 h w 105°C. Następnie ważono je z dokładnością do 0,001 g i wstawiano z powrotem

do suszarki na 20 minut w celu dosuszenia. Po tym czasie ważono je ponownie, a uzyskane wyniki były brane pod uwagę w późniejszych wyliczeniach.

Oznaczanie skrobi

W celu określenia zawartości skrobi wykorzystano osad z analizy fruktanów rozpuszczalnych w etanolu. Dodawano kolejno 2,5 ml 1 M H_2SO_4 . Probówki umieszczano we wrzącej łaźni wodnej na 20 minut. Po wyjęciu z łaźni dodawano po 5 ml wody destylowanej i wirowano przez 5 minut przy $12000 \text{ obr} \cdot \text{min}^{-1}$. Czynność powtarzano. Otrzymany supernatant zlewano do próbek miarowych i uzupełniano do 25 ml objętości wodą destylowaną. Do oznaczenia skrobi pobrano 0,1 ml ekstraktu wodnego. W przypadku próby kontrolnej użyto 0,1 ml wody destylowanej. Kolejno dodano 4 ml 0,1% antronu rozpuszczonego w 96% kwasie siarkowym (H_2SO_4). Probówki zamknięte szklanymi korkami umieszczono we wrzącej łaźni wodnej na 10 minut. Następnie ochłodzono roztwory. Absorbancję mierzono przy długości fali 625 nm za pomocą spektrofotometru UV-1280 (Shimadzu, Kioto, Japonia) w stosunku do próby kontrolnej. Zawartość skrobi w cebulach podawano w ekwiwalentach glukozy powstałej po hydrolizie skrobi ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{s.m.}$) (Samotus i in. 1988).

Oznaczanie fruktanów nierozpuszczalnych w etanolu

W celu określenia zawartości fruktanów nierozpuszczalnych w etanolu, naważki 0,25 g materiału z wcześniejszych doświadczeń *in vitro* rozcierano w moździerzu porcelanowym w obecności 10 ml 1% kwasu szczawowego o temperaturze 80°C . Próbkę kolejno wirowano przy $15000 \text{ obr} \cdot \text{min}^{-1}$ przez 10 minut, a supernatant zlewano do czystych probówek i uzupełniano do 10 ml 1% kwasu szczawowego o temperaturze 80°C . Supernatant wykorzystywano do oznaczania zawartości fruktanów nierozpuszczalnych w etanolu kolorymetrycznie za pomocą alkoholowej procedury rezorcynol/HCl opartej na metodzie McRary i Slatery (1945).

W tym celu dodawano 0,5 ml odczynnika rezorcynolowego oraz 1,5 ml 32% HCl. Probówki umieszczano na 2 minuty w zimnej wodzie, aby schłodzić mieszaninę. Następnie dodawano 0,04 ml ekstraktu i uzupełniano do objętości 0,5 ml wodą destylowaną i całość mieszano. Probówki zamykano szklanymi korkami i umieszczano w łaźni wodnej na 40 min w 80°C . Po inkubacji probówki schładzano w lodowatej wodzie przez 5 min. Absorbancję oznaczano przy długości fali 540 nm za pomocą

spektrofotometru UV-1280 (Shimadzu, Kioto, Japonia) w stosunku do próby ślepej, która stanowiła 0,5 ml odczynnika rezorcynolowego, 1,5 ml 32% HCl oraz 0,5 ml wody destylowanej. Stężenie fruktanów nierozpuszczalnych w etanolu, wyrażono w równoważnikach fruktozy w odniesieniu do krzywej wzorcowej fruktozy, która wynosiła od 10 do 60 μg . Zawartość fruktanów podawano w $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{s.m.}$

Oznaczanie fruktanów rozpuszczalnych w etanolu

W celu określenia zawartości fruktanów rozpuszczalnych w etanolu, naważki 0,25 g materiału z wcześniejszych doświadczeń *in vitro* rozcierano w moździerzu porcelanowym w obecności 10 ml 80% etanolu o temperaturze 80°C. Po ekstrakcji zawiesinę wirowano przy 15000 obr. $\cdot\text{min}^{-1}$ przez 10 min, a supernatant zlewano do czystych probówek i uzupełniano do 10 ml 80% etanolem o temperaturze 80°C. Supernatant wykorzystywano do oznaczania zawartości fruktanów rozpuszczalnych w etanolu kolorymetrycznie za pomocą alkoholowej procedury rezorcynol/HCl opartej na metodzie McRary i Slattery (1945).

Do 0,5 ml odczynnika rezorcynolowego wlanego do zamykanych szklanych probówek dodawano 1,5 ml 32% HCl. Probówki umieszczano w lodowatej wodzie na 2 min. Kolejno dodawano 0,04 ml ekstraktu alkoholowego i uzupełniano 0,460 ml wody destylowanej, a następnie mieszano. Probówki zamykano szklanymi korkami i umieszczano w łaźni wodnej w temperaturze 80°C na 40 min. Po inkubacji probówki chłodzono w zimnej wodzie przez 5 min. Absorbancję oznaczano przy długości fali 540 nm za pomocą tego samego spektrofotometru co fruktany nierozpuszczalne w etanolu w stosunku do próby ślepej zawierającej kolejno: 0,5 ml odczynnika rezorcynolowego, 1,5 ml 32% HCl oraz 0,5 ml wody destylowanej. Stężenie fruktanów rozpuszczalnych w etanolu, wyrażono w równoważnikach fruktozy w odniesieniu do krzywej wzorcowej fruktozy, która wynosiła od 10 do 60 μg . Zawartość fruktanów podawano w $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{s.m.}$

4.10. Opracowanie wyników

Wyniki zostały poddane analizie statystycznej za pomocą oprogramowania Statistica wersja 13.3, dla określenia istotnych różnic pomiędzy średnimi wykorzystano test HSD Tukey'a przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$. Wyniki doświadczeń (4.2 – analizy fenotypowe, 4.5.1 i 4.5.2 – mikrorozmnażanie, 4.6 – aparaty szparkowe, 4.8.1 – aklimatyzacja, 4.8.2 – uprawa) opracowane zostały przy użyciu analizy wariancji

1– czynnikiem. Wyniki doświadczenia 4.9 (zawartość skrobi i fruktanów – łącznie rozpuszczalnych i nierozpuszczalnych w etanolu) poddano analizie wariancji dwuczynnikowej. Wyniki pozostałych doświadczeń zostały poddane statystyce opisowej.

Wyniki analiz molekularnych zostały opracowane w programie XLStat 2018. Została utworzona macierz w systemie binarnym, gdzie 1 oznaczało obecność fragmentu DNA, a 0 jego brak. Określono podobieństwo genetyczne dzięki współczynnikowi Jaccarda (Jaccard 1908) dla reakcji markerowych RAPD oraz ISSR. Wartości podobieństwa wykorzystano do analizy skupień oraz wykonania dendrogramów.

5. Wyniki

5.1. Analiza fenotypowa

Analiza wybranych parametrów biometrycznych dla form rodzicielskich i uzyskanych trzech wybranych klonów z krzyżowania klonu 6 *H. ×chmielii* z odmianą 'Gervase' *H. hybridum* wykazała, że liście klonu hodowlanego 0033-10 były szersze niż liście formy matecznej - klonu 6 *H. ×chmielii* (Tab. 11). W przypadku parametru jakim jest długość pędu, dłuższe posiadały formy wyjściowe, czyli klon 6 oraz odmiana 'Gervase' w odniesieniu do klonów hodowlanych 0033-10 oraz 0037-13. Zaobserwowano również, że klon 0040-31 miał dłuższe pędy od klonu 0033-10. Odmiana 'Gervase' oraz klon 0037-13 cechowały się większą liczbą kwiatów niż klon 6 *H. ×chmielii*. 'Gervase' oraz klony 0033-10, 0037-13 i 0040-31 posiadały dłuższy okwiat niż forma mateczna. Forma ojcowska oraz klon 0037-13 miały szerszy okwiat niż pozostałe genotypy. Dodatkowo klony 0033-10 oraz 0040-31 posiadały szerszy okwiat niż klon 6 *H. ×chmielii*.

Współczynnik nie przekroczył wartości 25% dla żadnego z badanych parametrów, dlatego zmienność w obrębie cech jest bardzo mała (Tab. 11).

Tabela 11. Wybrane cechy morfologiczne form rodzicielskich i potomnych dla krzyżowania klonu 6 *H. ×chmielii* z *H. hybridum* 'Gervase'.

Genotyp	Szerokość liści [cm]	Długość pędu [cm]	Liczba kwiatów [szt.]	Maks. długość okwiatu [cm]	Maks. szerokość okwiatu [cm]
<i>H. ×chmielii</i> klon 6♀	4,04 a*	53,35 c	3,2 a	10,50 a	12,34 a
<i>H. hybridum</i> 'Gervase'♂	4,70 ab	53,46 c	4,6 b	13,20 b	17,00 c
0033-10	5,26 b	42,14 a	4,0 ab	13,88 b	15,22 b
0037-13	4,68 ab	46,74 ab	5,0 b	12,50 b	17,06 c
0040-31	4,62 ab	49,12 bc	4,0 ab	13,96 b	14,40 b
Średnia dla cechy w populacji	4,66	48,96	4,16	12,81	15,20
Odchylenie standardowe cechy w populacji	0,51	4,96	0,88	1,56	1,83
Współczynnik zmienności cechy w populacji [%]	11,03	10,13	21,15	12,22	12,01

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cech.

W przypadku trzech genotypów wyselekcjonowanych z krzyżowania *H. ×chmielii* klonu 6 z *H. hybridum* 'Royal Velvet' odnotowano, iż szerokość liści była wyższa u klonu hodowlanego 0072-17, w porównaniu z formami rodzicielskimi (Tab. 12). Dłuższe pędy posiadały formy wyjściowe – klon 6 oraz odmiana 'Royal Velvet' niż klony 0050-15 i 0050-16. Także klon 0072-17 miał dłuższe pędy kwiatostanowe w porównaniu z klonem 0050-16. Większą liczbę kwiatów uzyskano dla klonu 0072-17 w porównaniu z klonem 0050-16 oraz formą mateczną. W przypadku maksymalnej długości okwiatu wyższą wartość osiągnął klon 0072-17 w odniesieniu do pozostałych genotypów. Klon 0050-15 miał dłuższy okwiat w stosunku do okwiatu form rodzicielskich oraz klonu 0050-16. Odmiana 'Royal Velvet' miała dłuższy okwiat w odniesieniu do formy matecznej. W przypadku parametru jakim jest szerokość okwiatu większą wartość uzyskano dla 'Royal Velvet' niż dla wszystkich pozostałych genotypów.

Współczynnik nie przekroczył wartości 25% dla żadnego z badanych parametrów, dlatego zmienność w obrębie cech należy uznać za bardzo małą (Tab. 12).

Tabela 12. Wybrane cechy morfologiczne form rodzicielskich i potomnych dla krzyżowania klonu 6 *H. ×chmielii* 6 z *H. hybridum* 'Royal Velvet'.

Genotyp	Szerokość liści [cm]	Długość pędu [cm]	Liczba kwiatów [szt.]	Maks. długość okwiatu [cm]	Maks. szerokość okwiatu [cm]
<i>H. ×chmielii</i> klon 6♀	4,04 a*	53,35 c	3,2 a	10,50 a	12,34 a
<i>H. hybridum</i> 'Royal Velvet'♂	4,04 a	56,64 c	4,2 ab	12,16 b	17,50 e
0050-15	4,44 ab	45,46 ab	4,0 ab	13,36 c	14,06 b
0050-16	4,64 ab	42,66 a	3,2 a	11,54 ab	15,06 c
0072-17	4,88 b	51,24 bc	4,8 b	14,82 d	16,02 d
Średnia dla cechy w populacji	4,41	49,87	3,88	12,48	15,00
Odchylenie standardowe cechy w populacji	0,44	5,92	0,91	1,59	1,80
Współczynnik zmienności cechy w populacji [%]	9,92	11,87	23,42	12,78	12,02

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cech.

Analiza parametrów biometrycznych krzyżowanych genotypów klonu 18 *H. ×chmielii* z odmianą 'Gervase' *H. hybridum* oraz trzech wyselekcjonowanych klonów z tego krzyżowania nie wykazała różnic dla szerokości liści (Tab. 13). W przypadku

długości pędu kwiatostanowego wyższy wynik uzyskano dla formy matecznej oraz klonu hodowlanego 0003-13, w porównaniu z klonem 0004-05. Dla parametrów takich jak liczba kwiatów oraz długość okwiatu, odmiana 'Gervase' uzyskała wyższe wartości niż klon 18. Zarówno odmiana 'Gervase', jak i klon 0004-04 miały szerszy okwiat niż klon 0003-13 i forma mateczna. Dodatkowo klony 0003-13 i 0004-05 posiadały szerszy okwiat niż klon 18.

Współczynnik nie przekroczył wartości 25% dla żadnego z badanych parametrów, dlatego zmienność w obrębie cech należy uznać za bardzo małą (Tab. 13).

Tabela 13. Wybrane cechy morfologiczne form rodzicielskich i potomnych dla krzyżowania klonu 18 *H. ×chmielii* z *H. hybridum* 'Gervase'.

Genotyp	Szerokość liści [cm]	Długość pędu [cm]	Liczba kwiatów [szt.]	Maks. długość okwiatu [cm]	Maks. szerokość okwiatu [cm]
<i>H. ×chmielii</i> klon 18♀	4,54 a*	57,46 b	3,4 a	10,70 a	13,26 a
<i>H. hybridum</i> 'Gervase'♂	4,70 a	53,46 ab	4,6 b	13,20 b	17,00 c
0003-13	4,60 a	56,94 b	4,0 ab	12,04 ab	15,26 b
0004-04	4,48 a	53,62 ab	4,0 ab	12,10 ab	16,68 c
0004-05	4,94 a	51,70 a	4,0 ab	11,80 ab	16,14 bc
Średnia dla cechy w populacji	4,65	54,64	4,00	11,97	15,67
Odchylenie standardowe cechy w populacji	0,42	3,05	0,57	1,31	1,47
Współczynnik zmienności cechy w populacji [%]	9,08	5,58	14,14	10,93	9,38

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

Analiza parametrów dla krzyżowania klonu 18 *H. ×chmielii* z odmianą 'Rio Negro' oraz trzech wyselekcjonowanych klonów uzyskanych z tego krzyżowania wykazała, że liście klonu 18 były szersze niż liście odmiany 'Rio Negro' oraz dwóch klonów 0021-10 i 0062-10 (Tab. 14). Odmiana 'Rio Negro' posiadała szersze liście niż klon 0062-10. Dłuższe pędy uzyskano dla klonu 0021-10 w porównaniu z formami rodzicielskimi oraz klonem 0062-10. Krótsze pędy w porównaniu do wszystkich badanych genotypów zaobserwowano u odmiany 'Rio Negro'. Więcej kwiatów odnotowano dla klonu 0021-10 względem formy matecznej oraz klonów 0023-11 i 0062-10. Dodatkowo odmiana 'Rio Negro' cechowała się większą liczbą kwiatów niż klon 18.

Dłuższy okwiat zaobserwowano u odmiany 'Rio Negro' oraz klonu 0023-11 względem klonu 18 i klonu 0021-10. Dodatkowo odnotowano dłuższy okwiat u klonu 0062-10 niż u formy matecznej. Szerszy okwiat odnotowano dla odmiany 'Rio Negro' oraz klonów 0023-11 i 0062-10 niż dla klonu 18 oraz klonu 0021-10, który równocześnie miał szerszy okwiat niż forma mateczna.

Współczynnik nie przekroczył wartości 25% dla żadnego z badanych parametrów, dlatego zmienność w obrębie cech należy uznać za bardzo małą (Tab. 14).

Tabela 14. Wybrane cechy morfologiczne form rodzicielskich i potomnych dla krzyżowania klonu 18 *H. ×chmielii* z *H. hybridum* 'Rio Negro'.

Genotyp	Szerokość liści [cm]	Długość pędu [cm]	Liczba kwiatów [szt.]	Maks. długość okwiatu [cm]	Maks. szerokość okwiatu [cm]
<i>H. ×chmielii</i> klon 18♀	4,54 c*	57,46 b	3,4 a	10,70 a	13,26 a
<i>H. hybridum</i> 'Rio Negro'♂	3,86 b	49,75 a	4,6 bc	12,38 c	16,86 c
0021-10	3,80 ab	64,04 c	5,0 c	10,80 ab	14,54 b
0023-11	4,18 bc	58,48 bc	4,0 ab	12,36 c	15,84 c
0062-10	3,24 a	57,84 b	4,0 ab	12,22 bc	16,96 c
Średnia dla cechy w populacji	3,92	57,51	4,20	11,69	15,49
Odchylenie standardowe cechy w populacji	0,51	5,31	0,69	1,04	1,54
Współczynnik zmienności cechy w populacji [%]	13,02	9,23	16,50	8,90	9,92

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

Dla *H. ×chmielii* klon 18, odmiany 'Royal Velvet' oraz trzech genotypów wyselekcjonowanych z tego krzyżowania nie odnotowano różnic w szerokości liści (Tab. 15). Dłuższe pędy kwiatostanowe odnotowano dla klonu 0017-01 w porównaniu z formami rodzicielskimi oraz klonem 0075-25. Dodatkowo klon 0075-25 cechował się większą liczbą kwiatów niż klon hodowlany 0017-01 oraz forma mateczna. Dłuższy okwiat zanotowano dla klonów 0015-03 i 0017-01, w porównaniu z formami wyjściowymi oraz klonem 0075-25. Odmiana 'Royal Velvet' oraz klony 0015-03 i 0017-01 posiadały szerszy okwiat niż klon 18 *H. ×chmielii* oraz klon 0075-25.

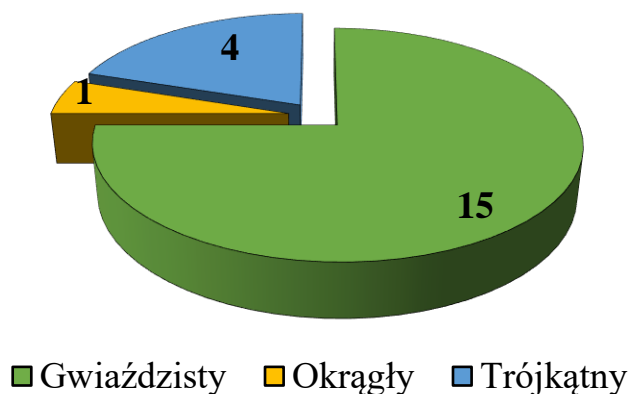
Współczynnik nie przekroczył wartości 25% dla każdego z badanych parametrów, dlatego zmienność w obrębie cech jest bardzo mała (Tab. 15).

Tabela 15. Wybrane cechy morfologiczne form rodzicielskich i potomnych dla krzyżowania *H. ×chmielii* klon 18 z *H. hybridum* 'Royal Velvet'.

Genotyp	Szerokość liści [cm]	Długość pędu [cm]	Liczba kwiatów [szt.]	Maks. długość okwiatu [cm]	Maks. szerokość okwiatu [cm]
<i>H. ×chmielii</i> klon 18♀	4,54 a*	57,46 a	3,4 a	10,70 a	13,26 a
<i>H. hybridum</i> 'Royal Velvet'♂	4,04 a	56,64 a	4,2 ab	12,16 a	17,50 b
0015-03	4,30 a	60,20 ab	4,0 ab	13,78 b	17,50 b
0017-01	4,36 a	64,80 b	3,8 a	14,02 b	16,70 b
0075-25	4,42 a	55,22 a	5,0 b	12,14 a	12,80 a
Średnia dla cechy w populacji	4,33	58,86	4,08	12,56	15,55
Odchylenie standardowe cechy w populacji	0,37	4,82	0,74	1,41	2,16
Współczynnik zmienności cechy w populacji [%]	8,56	8,19	18,24	11,20	13,91

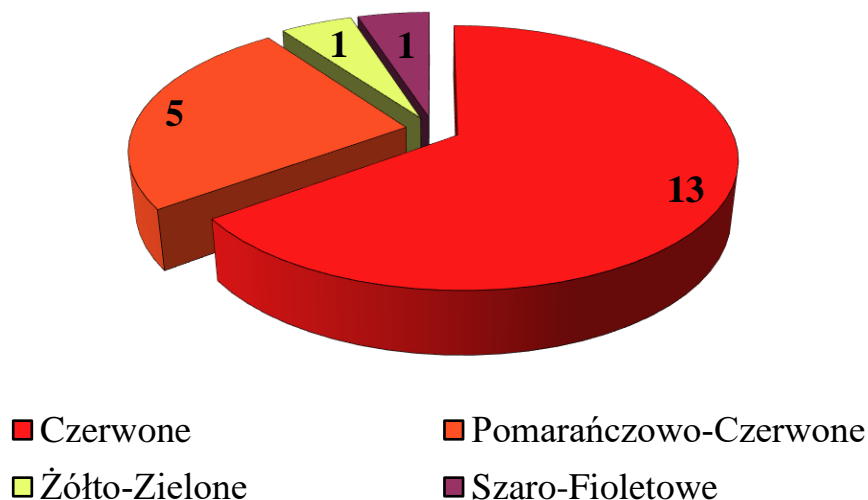
*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

Z analizy całej badanej populacji *Hippeastrum* pod względem kształtu okwiatu, najwięcej roślin (15 sztuk) posiadało kwiaty o kształcie gwiazdzistym, co stanowi 75% populacji. Następną grupę tworzyły genotypy o trójkątnym kształcie okwiatu, były to klony 0037-13, 0040-31, 0050-16, 0075-25, które stanowiły 20% populacji. Ostatnia grupa to klon 0017-01 (5%) o okrągłym kształcie okwiatu (Wykres 2).



Wykres 2. Podział populacji badanych genotypów *Hippeastrum* pod względem kształtu okwiatu widzianego z przodu [sztuki].

Barwa czerwona była najliczniej reprezentowana w badanej populacji – 13 sztuk (65%). Kolejną grupę tworzyła barwa pomarańczowo-czerwona, która liczyła 5 genotypów – klon 18 *H. ×chmielii* oraz 4 klony hodowlane: 0033-10, 0050-16, 0021-10, 0023-11 (25%). Po jednym genotypie (5%) znalazło się w grupie żółto-zielonej oraz szaro-fioletowej, odpowiednio 'Rio Negro' oraz klon 0037-13 (5%) (Wykres 3).



Wykres 3. Podział populacji badanych genotypów *Hippeastrum* pod względem głównej barwy okwiatu wg CC RHS [sztuki].

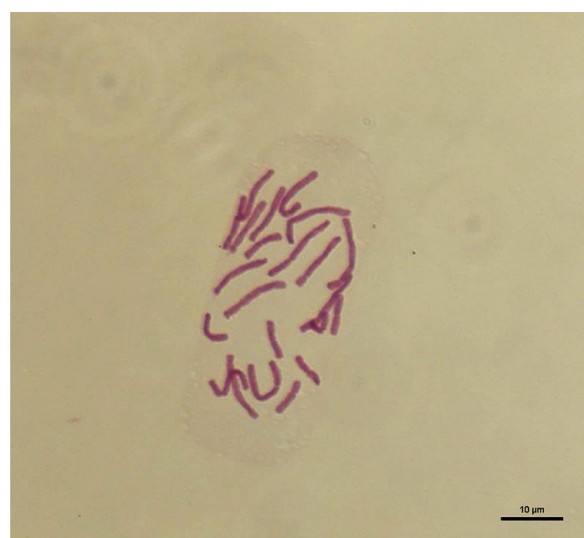
5.2. Poziom ploidalności oraz wielkość genomu

W podrozdziale przedstawione zostaną wyniki odnośnie liczby chromosomów, poziomu ploidalności oraz wielkości genomu dla 20 badanych genotypów *Hippeastrum*. W doświadczeniu wykorzystano metody barwienia chromosomów metafazowych oraz analizy z wykorzystaniem cytometrii przepływowej. Określono zróżnicowanie badanych roślin pod względem cytogenetycznym.

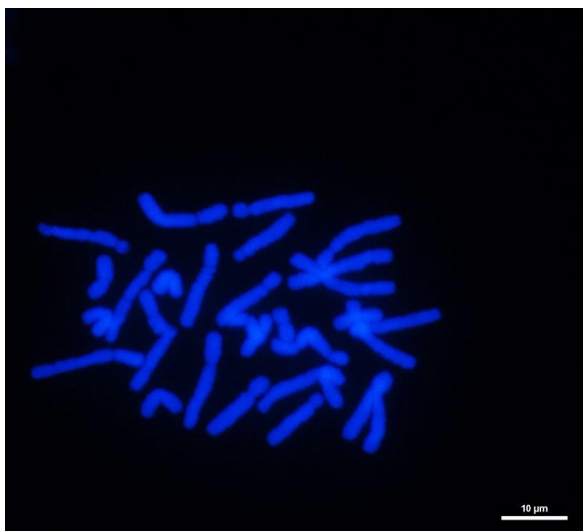
Wykazano, że wszystkie genotypy posiadają podstawową liczbę chromosomów - 11. Badania cytogenetyczne metodami barwienia chromosomów metafazowych w obrębie populacji wykazały obecność osobników diploidalnych (1 osobnik) o 22 chromosomach (Fot. 15), triploidalnych (4 osobniki) o 33 chromosomach (Fot. 16) oraz tetraploidalnych (15 osobników) o 44 chromosomach (Fot. 17), (Tab. 16).

Tabela 16. Poziom ploidalności oraz wielkości genomów 20 badanych genotypów *Hippeastrum*.

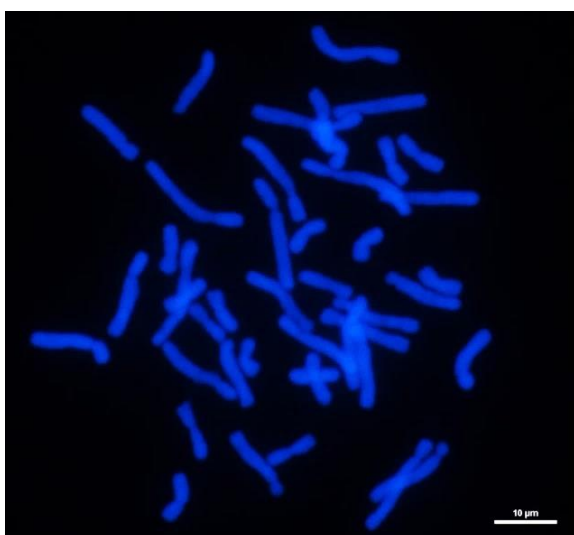
Genotyp	Poziom ploidalności	Wielkość genomu [pg]	Genotyp	Poziom ploidalności	Wielkość genomu [pg]
<i>H. ×chmielii</i> klon 6	2n = 4x = 44	59,64	0072-17	2n = 4x = 44	62,23
<i>H. ×chmielii</i> klon 18	2n = 4x = 44	59,30	0003-13	2n = 4x = 44	60,73
<i>H. hybridum</i> 'Gervase'	2n = 4x = 44	60,29	0004-04	2n = 4x = 44	61,41
	-	47,94			
<i>H. hybridum</i> 'Rio Negro'	2n = 2x = 22	32,63	0004-05	2n = 4x = 44	61,52
<i>H. hybridum</i> 'Royal Velvet'	2n = 4x = 44	59,85	0021-10	2n = 3x = 33	46,09
	0033-10	2n = 4x = 44	60,75	0023-11	2n = 3x = 33
0037-13	2n = 4x = 44	61,61	0062-10	2n = 3x = 33	43,68
0040-31	2n = 4x = 44	59,56	0015-03	2n = 4x = 44	61,70
0050-15	2n = 4x = 44	61,35	0017-01	2n = 4x = 44	59,76
0050-16	2n = 3x = 33	44,09	0075-25	2n = 4x = 44	58,57



Fot. 15. Chromosomy metafazowe wybarwione metodą DAPI oraz Feulgena *H. hybridum* 'Rio Negro' – przykład odmiany diploidalnej o 22 chromosomach (zdjęcia własne)

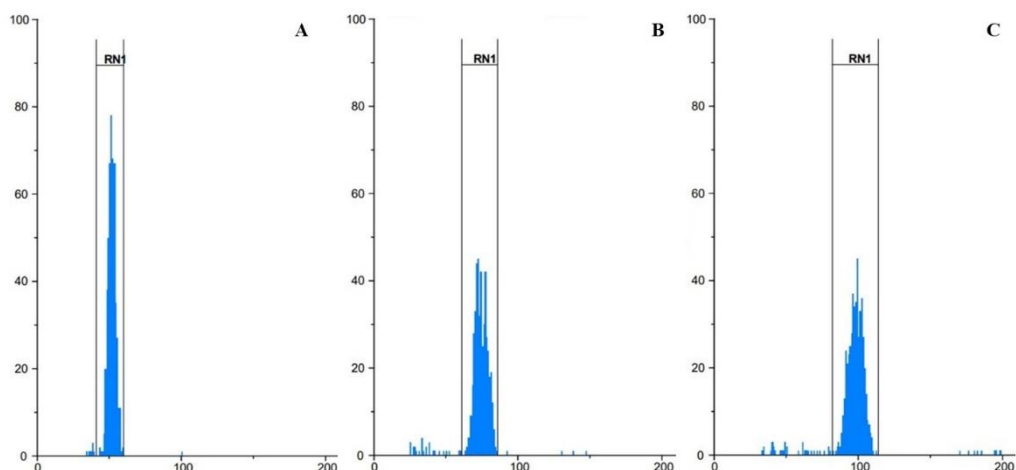


Fot. 16. Chromosomy metafazowe wybarwione metodą DAPI oraz Feulgena klonu hodowlanego 0062-10 – przykład genotypu triploidalnego o 33 chromosomach (zdjęcia własne)



Fot. 17. Chromosomy metafazowe wybarwione metodą DAPI oraz Feulgena klonu hodowlanego 0050-15 – przykład genotypu tetraploidalnego o 44 chromosomach (zdjęcia własne)

Wykonane badania na cytometrze przepływowym potwierdziły wcześniejsze wyniki uzyskane metodą barwienia chromosomów metafazowych DAPI oraz Feulgena (Wykres 4).



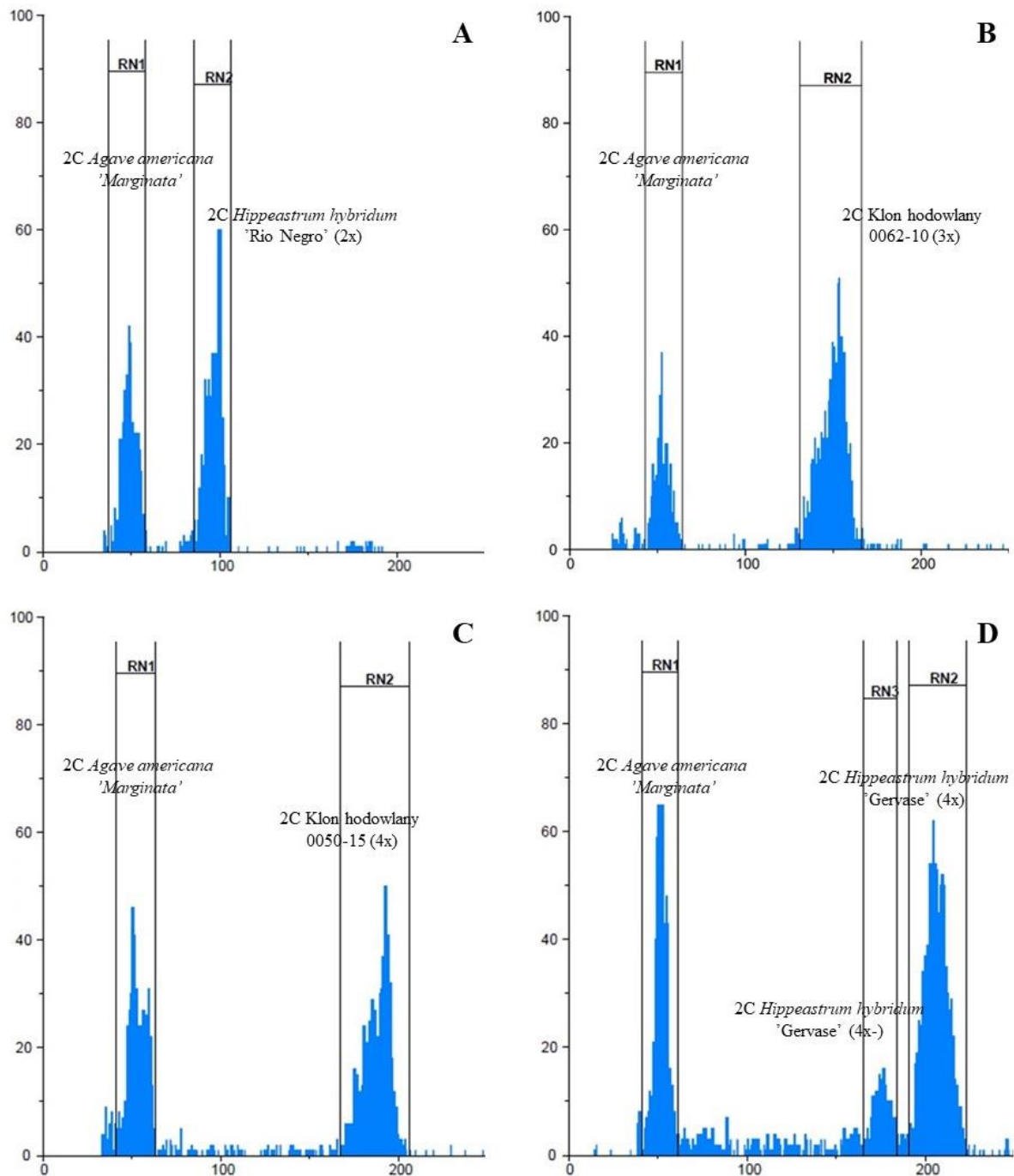
Wykres 4. Histogramy analizy cytometrii przepływowej *Hippeastrum*: diploidalna odmiana 'Rio Negro' (2x), triploidalna forma 0062-10 (3x) i tetraploidalna forma 0050-15 (4x).

Analiza wielkości genomu przy użyciu cytometrii przepływowej (FCM) pozwoliła określić wielkości genomu w odniesieniu do standardu wewnętrznego jakim była *Agave americana* 'Marginata' (2C DNA=15,9 pg). Oszacowano, że wielkość genomu formy diploidalnej *H. hybridum* 'Rio Negro' wynosiła 32,63 pg. Dla czterech form triploidalnych wielkość genomu wahała się w przedziale od 43,68 pg do 47,08 pg. Najlicniejsza grupa tetraploidalna, która reprezentowana jest przez 15 genotypów, odznaczała się wielkością genomu w przedziale od 58,57 pg do 62,23 pg (Tab. 16, Wykres 5).

Badania cytometryczne pozwoliły na wykrycie w badanej populacji chimery poliploidalnej. Odmiana 'Gervase' *H. hybridum* jest miksoploidem i posiada 2 genomy, jeden tetraploidalny (4x) o wielkości 60,29 pg oraz drugi aneuploidalny (4x-) o wielkości 47,94 pg (Wykres 5, Fot. 18, Tab. 16).



Fot. 18. Miksoploidalna odmiana *H. hybridum* 'Gervase' z widocznie zaznaczonymi dwoma genomami (zdjęcie własne)



Wykres 5. Histogramy oszacowania jądrowego DNA przy użyciu cytometrii przepływowej (FCM) dla (A) *H. hybridum* 'Rio Negro', (B) klonu hodowlanego 0062-10, (C) klonu hodowlanego 0050-15, (D) *H. hybridum* 'Gervase' ze standardem wewnętrznym - *Agave americana* 'Marginata' (2C DNA = 15,9 pg).

5.3. Ocena wpływu biostymulatorów na wybrane parametry efektywności mikrorozmnażania badanych genotypów

Poniżej prezentowane są wyniki doświadczenia, w którym określany był wpływ biostymulatorów (Goteo 2 ml·l⁻¹ i Folium 5 ml·l⁻¹) na wybrane parametry biometryczne badanej populacji *Hippeastrum* na etapie ich rozmnażania *in vitro*. Wykorzystana była pożywka MS bez regulatorów wzrostu jako kontrola oraz dodatkowo wzbogacona standardowymi regulatorami wzrostu (BA 2 mg·l⁻¹ z NAA 0,5 mg·l⁻¹) w celu określenia możliwości suplementacji pożywki biostymulatorami jako alternatywy dla syntetycznych regulatorów wzrostu.

Mikrosadzonki klonu 6 *H. ×chmielii* uzyskane na pożywce z dodatkiem Goteo uzyskały większą masę niż te na pożywce z BA i NAA (Tab. 17). Nie wykazano wpływu suplementacji pożywki MS standardowym zestawem regulatorów wzrostu oraz Goteo i Folium na masę cebul, współczynnik namnażania cebul i liczbę wytworzonych liści. Dodatek obu badanych biostymulatorów wpłynął jednak na uzyskanie większej liczby i dłuższych korzeni oraz dłuższych liści niż na pożywce kontrolnej.

Tabela 17. Wpływ suplementacji pożywki MS wybranymi biostymulatorami na parametry biometryczne uzyskanych mikrosadzonek *H. ×chmielii* klon 6.

Modyfikacja pożywki MS	Masa roślin [g]	Masa cebul [g]	Współczynnik namnażania cebul [szt.]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	0,33 ab*	0,23 a	1,6 a	1,41 a	3,44 a	1,48 b	4,67 b
BA + NAA	0,29 a	0,20 a	1,4 a	1,46 a	3,21 a	0,61 a	2,92 a
Goteo	0,42 b	0,22 a	1,7 a	1,58 a	5,15 b	2,25 c	5,79 c
Folium	0,37 ab	0,22 a	1,5 a	1,74 a	4,36 b	2,06 c	5,73 c

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

Analiza statystyczna wyników dla klonu 18 *H. ×chmielii* (Tab. 18) nie wykazała różnic w przypadku masy roślin i masy samych cebul, współczynnika namnażania cebul, a także liczby wytworzonych liści w zależności od zastosowanych modyfikacji pożywki MS. Dodatek regulatorów BA i NAA wpłynął na uzyskanie krótszych liści oraz mniejszej liczby i krótszych korzeni w porównaniu do tych samych parametrów uzyskanych na kontrolnej modyfikacji pożywki. Równocześnie najwyższe wartości obu badanych cech korzeni uzyskano na pożywce z dodatkiem Goteo.

Tabela 18. Wpływ suplementacji pożywki MS wybranymi biostymulatorami na parametry biometryczne uzyskanych mikrosadzonek *H. ×chmielii* klon 18.

Modyfikacja pożywki MS	Masa roślin [g]	Masa cebul [g]	Współczynnik namnażania cebul [szt.]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	0,30 a*	0,15 a	1,3 a	1,66 a	4,74 b	2,00 b	5,18 bc
BA + NAA	0,27 a	0,20 a	1,2 a	1,55 a	2,94 a	0,86 a	2,93 a
Goteo	0,31 a	0,17 a	1,5 a	1,38 a	4,62 b	2,45 c	6,06 c
Folium	0,34 a	0,20 a	1,4 a	1,64 a	4,87 b	2,05 bc	4,90 b

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

W przypadku odmiany 'Gervase' (Tab. 19) suplementacja Goteo spowodowała wzrost masy całych roślin, liczby korzeni oraz ich długości w stosunku do tych samych parametrów uzyskanych na pożywce kontrolnej. Dodatkowo, istotny wpływ na długość korzeni miało zastosowanie Folium, były one dłuższe w odniesieniu do długości korzeni uzyskanych na pożywce MS bez regulatorów. Krótsze liście uzyskano na pożywce z dodatkiem regulatorów BA oraz NAA, w porównaniu z uzyskanymi na pozostałych modyfikacjach pożywki. Nie wykazano różnic w masie cebul, współczynniku namnażania cebul i liczbie liści dla wszystkich zastosowanych modyfikacji pożywki MS.

Tabela 19. Wpływ suplementacji pożywki MS wybranymi biostymulatorami na parametry biometryczne uzyskanych mikrosadzonek *H. hybridum* 'Gervase'.

Modyfikacja pożywki MS	Masa roślin [g]	Masa cebul [g]	Współczynnik namnażania cebul [szt.]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	0,70 a*	0,38 a	1,5 ab	1,58 a	5,80 b	2,57 b	4,77 b
BA + NAA	0,58 a	0,35 a	1,2 a	1,75 a	4,42 a	1,01 a	2,75 a
Goteo	1,00 b	0,43 a	1,5 ab	1,88 a	6,62 b	3,73 c	6,02 c
Folium	0,68 a	0,33 a	1,6 b	1,87 a	5,95 b	2,06 b	6,73 c

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

U odmiany 'Rio Negro' dodanie do pożywki BA wraz z NAA wpłynęło na uzyskanie mniejszej masy roślin oraz mniejszej liczby korzeni niż na pozostałych pożywkach (Tab. 20). Odnotowano także krótsze liście oraz korzenie w porównaniu do tych obserwowanych na pozostałych modyfikacjach pożywki. Najwięcej korzeni uzyskano na pożywkach z dodatkiem Goteo oraz Folium. Suplementacja pożywki regulatorami i biostymulatorami nie wpłynęła na parametry, takie jak masa cebul, współczynnik namnażania cebul i liczba liści.

Tabela 20. Wpływ suplementacji pożywki MS wybranymi biostymulatorami na parametry biometryczne uzyskanych mikrosadzonek *H. hybridum* 'Rio Negro'.

Modyfikacja pożywki MS	Masa roślin [g]	Masa cebul [g]	Współczynnik namnażania cebul [szt.]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	0,71 b*	0,31 a	1,7 a	1,46 a	8,66 b	2,13 b	4,05 c
BA + NAA	0,39 a	0,24 a	1,8 a	1,42 a	5,88 a	0,83 a	1,54 a
Goteo	0,67 b	0,27 a	1,5 a	1,42 a	8,42 b	3,44 c	3,85 bc
Folium	0,59 b	0,27 a	1,5 a	1,57 a	8,15 b	2,91 c	3,58 b

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

W przypadku odmiany 'Royal Velvet' dodanie do pożywki Goteo spowodowało wzrost masy roślin, liczby liści, długości liści i korzeni oraz liczby korzeni w porównaniu do tych parametrów uzyskanych na pożywce kontrolnej (Tab. 21). Dodatkowo, na wzrost masy roślin wpłynęła suplementacja pożywki regulatorami oraz Goteo, ponieważ była ona na obu pożywkach wyższa niż masa roślin uzyskanych na pożywce bez regulatorów i suplementowanej Folium. Nie wykazano wpływu suplementacji pożywki regulatorami oraz biostymulatorami na masę cebul i współczynnik namnażania cebul.

Tabela 21. Wpływ suplementacji pożywki MS wybranymi biostymulatorami na parametry biometryczne uzyskanych mikrosadzonek *H. hybridum* 'Royal Velvet'.

Modyfikacja pożywki MS	Masa roślin [g]	Masa cebul [g]	Współczynnik namnażania cebul [szt.]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	0,36 a*	0,18 a	1,2 a	1,61 a	4,10 a	3,40 a	5,26 c
BA + NAA	0,47 b	0,22 a	1,1 a	1,99 bc	3,76 a	3,34 a	3,16 a
Goteo	0,56 b	0,19 a	1,2 a	2,24 c	4,98 b	5,70 c	6,16 d
Folium	0,36 a	0,18 a	1,1 a	1,75 ab	4,12 a	4,14 b	4,70 b

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

U klonu 0033-10 suplementacja pożywki Goteo spowodowała wzrost masy roślin, masy cebul, współczynnika namnażania cebul oraz długości liści i korzeni w porównaniu do tych samych parametrów uzyskanych na pożywce kontrolnej (Tab. 22). Co więcej, Goteo wpłynęło na uzyskanie najwyższych wartości długości liści i korzeni ze wszystkich rodzajów pożywki. Dodatek Folium skutkowało uzyskaniem większej liczby liści w porównaniu do wszystkich pozostałych modyfikacji pożywki MS, a także dłuższych niż na pożywkach kontrolnej i suplementowanej regulatorami wzrostu. Folium także wywołało identyczny skutek w przypadku długości korzeni. Suplementacja pożywki

BA i NAA skutkowała obniżeniem liczby korzeni i ich długości względem wszystkich pozostałych rodzajów pożywek.

Tabela 22. Wpływ suplementacji pożywki MS wybranymi biostymulatorami na parametry biometryczne uzyskanych mikrosadzonek klonu hodowlanego 0033-10.

Modyfikacja pożywki MS	Masa roślin [g]	Masa cebul [g]	Współczynnik namnażania cebul [szt.]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	045 a*	0,15 a	1,4 a	2,03 a	5,49 b	2,44 b	3,65 b
BA + NAA	0,36 a	0,18 a	1,3 a	1,97 a	3,07 a	0,99 a	2,21 a
Goteo	0,76 b	0,27 b	1,7 b	1,67 a	8,22 d	2,66 b	4,90 d
Folium	0,51 a	0,18 a	1,4 a	2,95 b	6,48 c	2,58 b	4,29 c

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

Masa roślin klonu 0037-13 uzyskana na pożywce z dodatkiem Goteo była wyższa niż masa uzyskana na pożywkach z regulatorami i kontrolnej, ale nie różniła się od tej uzyskanej na pożywce z Folium (Tab. 23). Pożywka suplementowana Folium spowodowała zwiększenie długości liści w porównaniu z długością liści na pożywce kontrolnej; jednocześnie były one najdłuższe ze wszystkich kombinacji doświadczalnych. Dodatek regulatorów wzrostu przyczynił się do zredukowania liczby i długości korzeni oraz długości liści w odniesieniu do tych parametrów uzyskanych na pozostałych pożywkach. Nie odnotowano wpływu zastosowanych modyfikacji pożywki dla masy cebul, współczynnika namnażania cebul i liczby liści.

Tabela 23. Wpływ suplementacji pożywki MS wybranymi biostymulatorami na parametry biometryczne uzyskanych mikrosadzonek klonu hodowlanego 0037-13.

Modyfikacja pożywki MS	Masa roślin [g]	Masa cebul [g]	Współczynnik namnażania cebul [szt.]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	0,40 a*	0,19 a	1,4 a	1,86 a	4,40 b	2,75 b	4,94 b
BA + NAA	0,38 a	0,20 a	1,3 a	2,16 a	3,26 a	1,10 a	2,90 a
Goteo	0,55 b	0,23 a	1,5 a	1,93 a	5,85 c	3,35 c	5,20 b
Folium	0,50 ab	0,25 a	1,4 a	2,28 a	6,72 d	2,87 bc	4,81 b

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

U klonu 0040-31 suplementacja pożywki preparatem Goteo spowodowała wzrost długości liści w porównaniu z długością liści mikrosadzonek uzyskanych na pożywce MS wzbogaconej regulatorami wzrostu (Tab. 24). Masa cebul uzyskana na pożywkach z dodatkiem obu biostymulatorów była niższa niż masa cebul na pożywce kontrolnej. Najwięcej liści wytworzyły rośliny z pożywki z dodatkiem BA i NAA, ale także dodatek

Goteo do pożywki wpłynął na wytworzenie większej liczby liści niż na pożywce kontrolnej oraz wzbogaconej Folium. Dodatek Goteo spowodował zwiększenie liczby oraz długości korzeni w odniesieniu do tych parametrów uzyskanych na pożywce MS bez regulatorów wzrostu. Zastosowane modyfikacje pożywki MS nie wykazały wpływu na uzyskaną masę roślin i współczynnik namnażania cebul.

Tabela 24. Wpływ suplementacji pożywki MS wybranymi biostymulatorami na parametry biometryczne uzyskanych mikrosadzonek klonu hodowlanego 0040-31.

Modyfikacja pożywki MS	Masa roślin [g]	Masa cebul [g]	Współczynnik namnażania cebul [szt.]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	0,53 a*	0,23 b	1,3 a	1,88 a	4,62 ab	2,61 b	5,14 c
BA + NAA	0,61 a	0,20 ab	1,2 a	2,68 c	3,93 a	0,92 a	2,54 a
Goteo	0,72 a	0,16 a	1,3 a	2,27 b	5,00 b	3,44 c	5,97 d
Folium	0,55 a	0,16 a	1,3 a	1,84 a	4,51 ab	2,66 b	4,25 b

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

Wykazano istotny wpływ suplementacji pożywki MS na oceniane parametry biometryczne klonu 0050-15 (Tab. 25). Wyższą masę roślin odnotowano na pożywce z Goteo niż na pożywce kontrolnej. Cięższe cebule niż w kontroli odnotowano na pożywce suplementowanej regulatorami wzrostu oraz Goteo. Współczynnik namnażania cebul dla klonu 0050-15 był istotnie wyższy na pożywce z dodatkiem BA i NAA niż pożywce kontrolnej. Dodatek Folium wpłynął na uzyskanie dłuższych liści i większej liczby korzeni niż na pożywce kontrolnej. Analogicznie jak Goteo, oddziaływał na liczbę korzeni preparat Folium. Krótsze korzenie zaobserwowano u pozostałych mikrosadzonek.

Tabela 25. Wpływ suplementacji pożywki MS wybranymi biostymulatorami na parametry biometryczne uzyskanych mikrosadzonek klonu hodowlanego 0050-15.

Modyfikacja pożywki MS	Masa roślin [g]	Masa cebul [g]	Współczynnik namnażania cebul [szt.]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	0,29 a*	0,15 a	1,2 a	1,72 ab	2,66 a	1,26 b	4,27 b
BA + NAA	0,36 ab	0,28 b	1,5 b	1,48 a	2,99 a	0,45 a	2,53 a
Goteo	0,43 b	0,30 b	1,3 ab	1,66 ab	3,05 a	2,49 c	5,12 b
Folium	0,36 ab	0,24 ab	1,3 ab	1,87 b	4,70 b	2,17 c	4,93 b

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

U klonu 0050-16 (Tab. 26) suplementacja pożywki Goteo wpłynęła na zwiększenie masy roślin, liczbę liści i korzeni w porównaniu do tych parametrów

uzyskanych na pożywce kontrolnej. Dodatkowo, identyczną zależność dla liczby liści odnotowano po zastosowaniu pożywki z Folium. Na zmodyfikowanej pożywce z regulatorami wzrostu uzyskano rośliny o mniejszej masie, z mniejszą liczbą korzeni oraz o krótszych liściach i korzeniach niż na pozostałych pożywkach. Nie wykazano wpływu rodzaju pożywki na masę cebul oraz współczynnik namnażania cebul.

Tabela 26. Wpływ suplementacji pożywki MS wybranymi biostymulatorami na parametry biometryczne uzyskanych mikrosadzonek klonu hodowlanego 0050-16.

Modyfikacja pożywki MS	Masa roślin [g]	Masa cebul [g]	Współczynnik namnażania cebul [szt.]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	0,42 b*	0,19 a	1,5 a	1,80 a	5,60 b	2,21 b	4,85 b
BA + NAA	0,30 a	0,21 a	1,4 a	1,77 a	3,11 a	0,77 a	2,55 a
Goteo	0,55 c	0,25 a	1,3 a	2,26 b	5,89 b	3,74 c	5,27 b
Folium	0,53 bc	0,22 a	1,5 a	2,37 b	6,03 b	2,49 b	4,89 b

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

W przypadku klonu 0072-17 wykazano wpływ biostymulatorów i regulatorów wzrostu na wszystkie badane cechy z wyjątkiem współczynnika namnażania cebul (Tab. 27). Suplementacja pożywki Goteo wpłynęła na zwiększenie masy roślin, masy cebul, liczby liści i korzeni oraz długość liści w odniesieniu do tych parametrów dla roślin uzyskanych na pożywce kontrolnej. Zastosowanie pożywki wzbogaconej Folium spowodowało identyczny efekt co do długości liści jak pożywka z dodatkiem Goteo. Suplementacja pożywki BA i NAA spowodowała wzrost masy cebul, zaś zmniejszyła liczbę i długość korzeni u roślin z pożywki kontrolnej

Tabela 27. Wpływ suplementacji pożywki MS wybranymi biostymulatorami na parametry biometryczne uzyskanych mikrosadzonek klonu hodowlanego 0072-17.

Modyfikacja pożywki MS	Masa roślin [g]	Masa cebul [g]	Współczynnik namnażania cebul [szt.]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	0,43 a*	0,17 a	1,2 a	1,52 a	4,92 a	4,62 b	5,82 b
BA + NAA	0,52 ab	0,27 c	1,3 a	1,71 ab	4,37 a	3,09 a	3,40 a
Goteo	0,63 b	0,24 bc	1,2 a	1,87 b	6,10 b	6,12 c	5,49 b
Folium	0,49 a	0,21 ab	1,2 a	1,63 ab	6,14 b	4,73 b	5,65 b

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

U klonu 0003-13 wykazano wpływ badanych regulatorów wzrostu i biostymulatorów na opisywane parametry (Tab. 28). Suplementacja pożywki Goteo wpłynęła na zwiększenie masy roślin oraz masy cebul, długość liści oraz liczbę liści

i korzeni w stosunku do tych parametrów u roślin na pożywce kontrolnej. Dodatek Folium do pożywki skutkowało zwiększeniem liczby liści w stosunku do roślin uzyskanych na pożywce kontrolnej. Zastosowanie BA z NAA wpłynęło na uzyskanie mniejszej masy roślin, krótszych liści i korzeni oraz liczby korzeni w porównaniu do roślin z pożywki kontrolnej oraz pozostałych modyfikacji pożywki MS.

Tabela 28. Wpływ suplementacji pożywki MS wybranymi biostymulatorami na parametry biometryczne uzyskanych mikrosadzonek klonu hodowlanego 0003-13.

Modyfikacja pożywki MS	Masa roślin [g]	Masa cebul [g]	Współczynnik namnażania cebul [szt.]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	0,85 b*	0,23 a	1,5 ab	1,99 a	8,77 b	3,57 b	5,97 b
BA + NAA	0,36 a	0,23 a	1,7 b	2,32 ab	3,52 a	0,98 a	2,86 a
Goteo	1,18 c	0,34 b	1,4 a	2,70 b	10,32 c	5,43 c	6,68 b
Folium	0,91 b	0,23 a	1,6 ab	2,49 b	9,01 b	3,33 b	5,99 b

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

W przypadku klonu 0004-04 dodatek Goteo do pożywki skutkowało uzyskaniem roślin o wyższej masie, dłuższych liściach oraz większej liczbie korzeni w stosunku do roślin z pożywki kontrolnej, a jednocześnie były to wartości najwyższe (Tab. 29). Dodatkowo wykazano, że suplementacja pożywki BA i NAA spowodowała zmniejszenie wszystkich badanych parametrów biometrycznych, oprócz masy cebul i współczynnika namnażania cebul. Folium dodane do pożywki MS spowodowało słabszy wzrost korzeni w stosunku do tego uzyskanego na pożywce kontrolnej. Nie wykazano wpływu badanych dodatków do pożywki MS na masę cebul i współczynnik namnażania cebul.

Tabela 29. Wpływ suplementacji pożywki MS wybranymi biostymulatorami na parametry biometryczne uzyskanych mikrosadzonek klonu hodowlanego 0004-04.

Modyfikacja pożywki MS	Masa roślin [g]	Masa cebul [g]	Współczynnik namnażania cebul [szt.]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	0,92 b*	0,22 a	1,6 a	2,16 ab	9,35 b	4,64 b	6,75 c
BA + NAA	0,47 a	0,25 a	1,4 a	2,06 a	2,78 a	3,30 a	4,42 a
Goteo	1,29 c	0,28 a	1,6 a	2,51 b	11,67 c	6,98 c	6,71 c
Folium	0,96 b	0,28 a	1,3 a	2,42 ab	9,92 b	5,35 b	5,78 b

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

U klonu 0004-05 zastosowanie regulatorów oraz Folium spowodowało zmniejszenie masy roślin oraz długości korzeni w stosunku do roślin pochodzących z pożywki kontrolnej (Tab. 30). W przypadku długości liści i liczby korzeni

i zastosowania regulatorów lub Folium, uzyskano wyniki niższe lub porównywalne do tych uzyskanych na pożywce kontrolnej. Dodatek Goteo skutkowało uzyskaniem przez rośliny wyższej masy, dłuższych liści oraz większej liczby korzeni w odniesieniu do roślin kontrolnych. Nie wykazano wpływu suplementacji pożywki MS regulatorami wzrostu oraz biostymulatorami na masę cebul i liczbę wytworzonych liści.

Tabela 30. Wpływ suplementacji pożywki MS wybranymi biostymulatorami na parametry biometryczne uzyskanych mikrosadzonek klonu hodowlanego 0004-5.

Modyfikacja pożywki MS	Masa roślin [g]	Masa cebul [g]	Współczynnik namnażania cebul [szt.]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	0,85 c*	0,28 a	1,4 ab	2,16 a	7,83 b	3,93 b	6,97 c
BA + NAA	0,41 a	0,30 a	1,2 a	2,17 a	3,12 a	1,94 a	3,73 a
Goteo	1,08 d	0,29 a	1,5 b	2,42 a	10,52 c	5,16 c	6,90 c
Folium	0,66 b	0,34 a	1,3 b	2,27 a	7,24 b	3,77 b	5,03 b

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

W przypadku klonu 0021-10 dodatek regulatorów wzrostu do pożywki skutkowało uzyskaniem mniejszej masy roślin, krótszych liści i korzeni oraz niższej liczby korzeni w porównaniu do tych parametrów uzyskanych na pożywce kontrolnej (Tab. 31). Dodatkowo stwierdzono, że na pożywce z Goteo masa roślin, masa samych cebul oraz liczba korzeni były wyższe w odniesieniu do wyników uzyskanych na pożywce kontrolnej. Suplementacja pożywki Folium spowodowała uzyskanie wyższej masy cebul niż w przypadku masy cebul na pożywce kontrolnej. Jednoczynnikowa analiza wariancji nie wykazała wpływu suplementacji pożywki MS regulatorami wzrostu oraz biostymulatorami na współczynnik namnażania cebul oraz liczbę liści.

Tabela 31. Wpływ suplementacji pożywki MS wybranymi biostymulatorami na parametry biometryczne uzyskanych mikrosadzonek klonu hodowlanego 0021-10.

Modyfikacja pożywki MS	Masa roślin [g]	Masa cebul [g]	Współczynnik namnażania cebul [szt.]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	0,88 b*	0,30 a	1,4 a	1,89 a	8,19 b	3,76 b	5,34 b
BA + NAA	0,56 a	0,39 ab	1,2 a	1,72 a	3,97 a	1,32 a	2,17 a
Goteo	1,10 c	0,40 b	1,4 a	2,02 a	9,14 b	5,08 c	6,04 b
Folium	0,98 bc	0,41 b	1,3 a	2,05 a	8,26 b	3,95 b	5,42 b

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

Suplementacja pożywki Goteo u klonu 0023-11 spowodowała wzrost masy roślin, masy samych cebul, długości liści oraz liczby korzeni w porównaniu do pożywki

kontrolnej (Tab. 32). Dodatek regulatorów do pożywki skutkowało uzyskaniem krótszych liści i korzeni oraz niższej liczby korzeni w odniesieniu do tych parametrów uzyskanych na pożywce kontrolnej. Zastosowanie Folium pozwoliło uzyskać większą liczbę liści w porównaniu do mikrosadzonek z pożywki kontrolnej. Nie wykazano różnic pomiędzy wszystkimi modyfikacjami pożywki MS dla współczynnika namnażania cebul.

Tabela 32. Wpływ suplementacji pożywki MS wybranymi biostymulatorami na parametry biometryczne uzyskanych mikrosadzonek klonu hodowlanego 0023-11.

Modyfikacja pożywki MS	Masa roślin [g]	Masa cebul [g]	Współczynnik namnażania cebul [szt.]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	0,81 a*	0,25 a	1,2 a	2,12 ab	7,39 b	5,13 b	5,63 b
BA + NAA	0,76 a	0,22 a	1,1 a	1,90 a	3,77 a	2,93 a	2,76 a
Goteo	1,23 b	0,45 b	1,1 a	2,38 bc	9,91 c	7,67 c	5,80 b
Folium	0,97 ab	0,33 ab	1,2 a	2,71 c	7,54 b	5,70 b	5,72 b

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

Suplementacja pożywki u klonu 0062-10 regulatorami wzrostu obniżyła wartość wszystkich badanych parametrów (z wyjątkiem współczynnika namnażania cebul) w stosunku do wartości uzyskanych na pożywce kontrolnej (Tab. 33). Zastosowanie regulatorów wpłynęło na uzyskanie wyższego współczynnika namnażania cebul niż zastosowanie Goteo. Dodatek Folium zmniejszył masę roślin oraz liczbę korzeni, zahamował wzrost liści oraz korzeni w porównaniu do pożywki kontrolnej. Goteo dodany do pożywki spowodował wzrost liczby korzeni oraz długości liści i korzeni w porównaniu do wyników uzyskanych na pożywce kontrolnej.

Tabela 33. Wpływ suplementacji pożywki MS wybranymi biostymulatorami na parametry biometryczne uzyskanych mikrosadzonek klonu hodowlanego 0062-10.

Modyfikacja pożywki MS	Masa roślin [g]	Masa cebul [g]	Współczynnik namnażania cebul [szt.]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	0,73 b*	0,34 bc	1,4 ab	2,39 b	6,78 c	4,21 c	4,00 c
BA + NAA	0,37 a	0,23 a	1,7 b	1,82 a	4,24 b	0,77 a	1,48 a
Goteo	0,89 b	0,38 c	1,3 a	2,34 b	8,24 d	5,42 d	4,91 d
Folium	0,40 a	0,34 bc	1,8 b	2,28 ab	3,13 a	2,99 b	3,05 b

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

W przypadku klonu 0015-03 dodatek regulatorów do pożywki spowodował obniżenie masy roślin, liczby liści i korzeni oraz długości liści (Tab. 34). Mikrosadzonki uzyskane na pożywce modyfikowanej Goteo charakteryzowały się większą liczbą

korzeni, jednak były one krótsze w odniesieniu do tych z kombinacji kontrolnej. Suplementacja pożywki Folium spowodowała wzrost długości liści w porównaniu do długości liści mikrosadzonek z pożywki kontrolnej i suplementowanej regulatorami wzrostu. Nie wykazano wpływu suplementacji pożywki MS regulatorami wzrostu oraz biostymulatorami na masę cebul oraz współczynnik namnażania cebul.

Tabela 34. Wpływ suplementacji pożywki MS wybranymi biostymulatorami na parametry biometryczne uzyskanych mikrosadzonek klonu hodowlanego 0015-03.

Modyfikacja pożywki MS	Masa roślin [g]	Masa cebul [g]	Współczynnik namnażania cebul [szt.]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	0,91 b*	0,36 a	1,1 a	2,16 b	9,17 b	5,83 b	4,68 c
BA + NAA	0,49 a	0,33 a	1,1 a	1,50 a	3,72 a	4,10 a	2,38 a
Goteo	0,83 b	0,43 a	1,2 a	2,10 b	9,58 bc	7,09 c	4,06 b
Folium	0,95 b	0,37 a	1,2 a	2,13 b	10,66 c	6,03 b	4,52 bc

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

U klonu 0017-01 zastosowanie regulatorów wzrostu w pożywce zmniejszyło masę uzyskanych roślin oraz zwiększyło liczbę liści i korzeni, ale również ich długość (Tab. 35). Suplementacja pożywki Goteo wpłynęła na zwiększenie liczby korzeni, mikrosadzonki z tej pożywki miały ich najwięcej ze wszystkich modyfikacji. Dłuższe liście zaobserwowano u sadzonek na pożywce z dodatkiem Folium niż na pożywce z regulatorami wzrostu i pożywce kontrolnej. Jednoczynnikowa analiza wariancji nie wykazała różnic w masie cebul i współczynniku namnażania cebul w zależności od zastosowanych modyfikacji pożywki MS.

Tabela 35. Wpływ suplementacji pożywki MS wybranymi biostymulatorami na parametry biometryczne uzyskanych mikrosadzonek klonu hodowlanego 0017-01.

Modyfikacja pożywki MS	Masa roślin [g]	Masa cebul [g]	Współczynnik namnażania cebul [szt.]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	0,68 bc*	0,29 a	1,2 a	1,97 ab	6,43 b	4,98 b	4,87 b
BA + NAA	0,48 a	0,29 a	1,3 a	1,79 a	3,07 a	2,11 a	2,27 a
Goteo	0,81 c	0,31 a	1,3 a	2,32 b	6,59 bc	6,64 c	5,30 b
Folium	0,56 ab	0,28 a	1,3 a	1,96 ab	7,35 c	4,98 b	5,01 b

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

W przypadku klonu 0075-25 zastosowanie regulatorów ograniczyło liczbę liści i korzeni oraz ich długość w stosunku do mikrosadzonek z pożywki kontrolnej (Tab. 36). W przypadku masy roślin wyższą wartość odnotowano u mikrosadzonek z pożywki

wzbogaconej Goteo. Dodatkowo, suplementacja ta pozwoliła na uzyskanie wyższej liczby korzeni oraz dłuższych liści i korzeni w odniesieniu do pożywki kontrolnej. Nie wykazano różnic w przypadku masy cebul oraz współczynnika namnażania cebul.

Tabela 36. Wpływ suplementacji pożywki MS wybranymi biostymulatorami na liczbę i parametry biometryczne uzyskanych mikrosadzonek klonu hodowlanego 0075-25.

Modyfikacja pożywki MS	Masa roślin [g]	Masa cebul [g]	Współczynnik namnażania cebul [szt.]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	0,63 a*	0,20 a	1,3 a	2,38 bc	6,51 b	5,38 b	4,27 b
BA + NAA	0,53 a	0,27 a	1,4 a	1,62 a	3,64 a	2,86 a	3,38 a
Goteo	0,93 b	0,26 a	1,3 a	2,66 c	8,05 c	6,81 c	4,72 c
Folium	0,58 a	0,24 a	1,3 a	2,21 b	7,38 bc	5,89 bc	4,38 bc

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

5.4. Ocena wpływu regulatorów wzrostu na wybrane parametry efektywności mikrorozmnażania badanych genotypów

Poniżej przedstawiono wyniki doświadczenia, w którym oceniony został wpływ dwóch regulatorów wzrostu (mT $2 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ i/lub KAR_1 10^{-9} M) na parametry biometryczne *Hippeastrum* na etapie rozmnażania w kulturach *in vitro*. Były to pionierskie badania z wykorzystaniem KAR_1 oraz jedne z nielicznych z wykorzystaniem mT na roślinach należących do tego rodzaju.

U klonu 6 *H. ×chmii* dodatek mT oraz mT w połączeniu z KAR_1 spowodował obniżenie masy całych roślin, zmniejszenie długości liści i korzeni oraz liczby korzeni (Tab. 37). Dodatkowo sam dodatek mT wpłynął na zmniejszenie masy cebul, ale na zwiększenie współczynnika namnażania cebul w odniesieniu do pozostałych modyfikacji pożywki MS. Nie wykazano różnic w liczbie liści na pożywkach modyfikowanych regulatorami wzrostu.

Tabela 37. Wpływ suplementacji pożywki MS wybranymi regulatorami wzrostu na parametry biometryczne uzyskanych mikrosadzonek *H. ×chmielii* klon 6.

Modyfikacja pożywki MS	Masa roślin [g]	Masa cebul [g]	Współczynnik namnażania cebul [szt.]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	0,30 b*	0,16 bc	1,6 a	2,3 a	3,94 b	2,3 b	4,33 b
mT	0,17 a	0,11 a	2,0 b	2,0 a	2,33 a	1,0 a	2,46 a
KAR ₁	0,29 b	0,17 c	1,6 a	2,0 a	3,56 b	2,2 b	4,04 b
mT + KAR ₁	0,18 a	0,12 ab	1,9 ab	1,9 a	2,26 a	1,0 a	2,24 a

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

W przypadku klonu 18 *H. ×chmielii* pożywka z samą mT wpłynęła na zmniejszenie masy roślin, liczby korzeni oraz ich długości w porównaniu do pożywki kontrolnej (Tab. 38). Dodanie KAR₁ do pożywki z mT spowodowało zmniejszenie liczby korzeni podobnie jak w przypadku samej mT. Odnotowano także różnicę w długości liści po zastosowaniu pożywki z dodatkiem mT i KAR₁. Były one krótsze niż na pożywce z mT. Nie wykazano różnic w masie cebul, współczynniku namnażania cebul oraz liczbie uzyskanych na modyfikowanych pożywkach.

Tabela 38. Wpływ suplementacji pożywki MS wybranymi regulatorami wzrostu na parametry biometryczne uzyskanych mikrosadzonek *H. ×chmielii* klon 18.

Modyfikacja pożywki MS	Masa roślin [g]	Masa cebul [g]	Współczynnik namnażania cebul [szt.]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	0,31 b*	0,12 a	1,6 a	1,8 a	5,35 ab	3,3 c	5,29 b
mT	0,14 a	0,09 a	1,5 a	2,1 a	5,47 b	1,3 a	3,32 a
KAR ₁	0,25 ab	0,12 a	1,7 a	1,6 a	4,33 ab	3,1 bc	4,31 ab
mT + KAR ₁	0,21 ab	0,11 a	1,5 a	2,3 a	3,47 a	2,2 ab	4,44 ab

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

U odmiany 'Gervase' dodatek do pożywki mT lub mT z KAR₁ obniżył masę roślin, zmniejszył długość liści oraz liczbę korzeni w porównaniu do pożywki kontrolnej (Tab. 39). Dodatkowo zaobserwowano, że pożywka z mT zmniejszała współczynnik namnażania cebul w porównaniu do współczynnika uzyskanego na pożywce kontrolnej. Dodatek KAR₁ do pożywki skutkowało zwiększeniem liczby korzeni w odniesieniu do kontroli i pozostałych suplementacji. Na liczbę liści wpłynęło zastosowanie KAR₁ w połączeniu z mT, ponieważ w odniesieniu do kontroli wartość ta była wyższa. Nie wykazano różnic między modyfikacjami pożywki dla masy cebul oraz długości korzeni.

Tabela 39. Wpływ suplementacji pożywki MS wybranymi regulatorami wzrostu na parametry biometryczne uzyskanych mikrosadzonek *H. hybridum* 'Gervase'.

Modyfikacja pożywki MS	Masa roślin [g]	Masa cebul [g]	Współczynnik namnażania cebul [szt.]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	0,88 b*	0,39 a	1,7 b	1,6 a	7,09 c	4,5 b	5,38 a
mT	0,50 a	0,31 a	1,2 a	1,9 ab	4,74 ab	1,8 a	4,88 a
KAR ₁	1,04 b	0,41 a	1,4 ab	2,1 ab	6,45 bc	5,7 c	5,36 a
mT + KAR ₁	0,45 a	0,28 a	1,4 ab	2,4 b	3,55 a	1,7 a	5,95 a

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

U odmiany 'Rio Negro' suplementacja pożywki mT oraz mT z KAR₁ spowodowała obniżenie masy roślin, masy cebul, zmniejszenie długości liści i korzeni oraz liczby korzeni w porównaniu do mikrosadzonek uzyskanych na pożywce kontrolnej (Tab. 40). Większą liczbą korzeni charakteryzowały się mikrosadzonki z pożywki suplementowanej KAR₁ niż mikrosadzonki z pożywki bez regulatorów wzrostu. Odnotowano również wyższy współczynnik namnażania cebul na pożywce suplementowanej mT wraz z KAR₁ niż na pożywkach z samą KAR₁ i kontrolnej. Dodatek KAR₁ do pożywki skutkowało uzyskaniem takich samych lub wyższych wartości badanych parametrów niż na pożywce kontrolnej.

Tabela 40. Wpływ suplementacji pożywki MS wybranymi regulatorami wzrostu na parametry biometryczne uzyskanych mikrosadzonek *H. hybridum* 'Rio Negro'.

Modyfikacja pożywki MS	Masa roślin [g]	Masa cebul [g]	Współczynnik namnażania cebul [szt.]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	0,68 b*	0,36 b	1,5 ab	1,63 ab	7,42 b	3,49 b	3,56 b
mT	0,28 a	0,17 a	1,9 bc	1,51 a	5,41 a	0,62 a	1,14 a
KAR ₁	0,68 b	0,35 b	1,4 a	2,01 b	6,37 ab	4,44 c	3,21 b
mT + KAR ₁	0,28 a	0,17 a	2,0 c	1,59 ab	5,45 a	0,51 a	1,01 a

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

U odmiany 'Royal Velvet' suplementacja pożywki mT lub mT z KAR₁ spowodowały obniżenie masy roślin, masy samych cebul, zmniejszenie długości liści i korzeni oraz liczby korzeni w porównaniu do pożywki kontrolnej (Tab. 41). Większą liczbę korzeni uzyskano na pożywce z dodatkiem KAR₁ niż na pozostałych pożywkach. Nie wykazano różnic w wartościach współczynnika namnażania cebul i liczby liści.

Tabela 41. Wpływ suplementacji pożywki MS wybranymi regulatorami wzrostu na parametry biometryczne uzyskanych mikrosadzonek *H. hybridum* 'Royal Velvet'.

Modyfikacja pożywki MS	Masa roślin [g]	Masa cebul [g]	Współczynnik namnażania cebul [szt.]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	0,33 b*	0,19 c	1,1 a	1,52 a	4,13 b	3,60 b	4,53 b
mT	0,16 a	0,08 a	1,1 a	1,84 a	3,11 a	1,31 a	2,55 a
KAR ₁	0,30 b	0,17 c	1,1 a	1,77 a	4,19 b	4,17 c	4,53 b
mT + KAR ₁	0,20 a	0,13 b	1,2 a	1,65 a	2,59 a	1,31 a	2,27 a

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

W przypadku klonu 0033-10 dodatek samej mT i mT z KAR₁ spowodował obniżenie masy roślin, masy cebul, zmniejszenie długości liści oraz liczby korzeni w odniesieniu do pożywki kontrolnej (Tab. 42). Wykazano, że dodatek KAR₁ wpłynął na wzrost liczby liści i korzeni w porównaniu do pozostałych pożywek. Odnotowano, że dodatek mT w połączeniu z KAR₁ wpływał także na ich skrócenie w odniesieniu do kontroli. Nie wykazano różnic we współczynniku namnażania cebul pomiędzy modyfikacjami pożywki.

Tabela 42. Wpływ suplementacji pożywki MS wybranymi regulatorami wzrostu na parametry biometryczne uzyskanych mikrosadzonek klonu hodowlanego 0033-10.

Modyfikacja pożywki MS	Masa roślin [g]	Masa cebul [g]	Współczynnik namnażania cebul [szt.]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	0,26 b*	0,10 b	1,5 a	1,77 a	4,75 b	2,53 b	3,69 b
mT	0,10 a	0,06 a	1,8 a	1,68 a	1,96 a	0,60 a	2,88 ab
KAR ₁	0,33 b	0,12 b	1,5 a	2,10 b	4,74 b	3,72 c	3,43 ab
mT + KAR ₁	0,10 a	0,06 a	1,6 a	1,71 a	1,88 a	0,61 a	2,70 a

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

U genotypu 0037-13 modyfikacje pożywki mT oraz mT z KAR₁ spowodowały obniżenie masy roślin, masy cebul, długości liści i korzeni oraz liczby korzeni w porównaniu do wartości uzyskanych na pożywce kontrolnej (Tab. 43). Wykazano, że dodatek KAR₁ spowodował wzrost długości liści oraz liczby korzeni, w porównaniu do pozostałych modyfikacji pożywki i były to najwyższe wartości. Nie wykazano wpływu suplementacji pożywki MS na współczynnik namnażania cebul i liczbę liści.

Tabela 43. Wpływ suplementacji pożywki MS wybranymi regulatorami wzrostu na parametry biometryczne uzyskanych mikrosadzonek klonu hodowlanego 0037-13.

Modyfikacja pożywki MS	Masa roślin [g]	Masa cebul [g]	Współczynnik namnażania cebul [szt.]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	0,31 b*	0,15 b	1,3 a	1,88 a	4,11 b	2,07 b	5,41 b
mT	0,17 a	0,09 a	1,5 a	2,00 a	2,55 a	0,69 a	2,11 a
KAR ₁	0,36 b	0,15 b	1,4 a	1,97 a	4,90 c	2,86 c	5,19 b
mT + KAR ₁	0,16 a	0,10 a	1,4 a	1,76 a	2,32 a	0,71 a	2,39 a

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

Suplementacja pożywki mT oraz mT z dodatkiem KAR₁ u klonu 0040-31 (Tab. 44) spowodowała obniżenie masy roślin, masy cebul, długości liści i korzeni oraz liczby korzeni w odniesieniu do tych parametrów na pożywce kontrolnej. Wykazano, że dodatek KAR₁ spowodował wzrost liczby korzeni, w porównaniu do pozostałych pożywek. W przypadku współczynnika namnażania cebul dodatek do pożywki mT w połączeniu z KAR₁ spowodował jego wzrost w odniesieniu do kontroli. Dodatkowo pożywka ta spowodowała obniżenie liczby liści w porównaniu do suplementacji pożywki samą KAR₁.

Tabela 44. Wpływ suplementacji pożywki MS wybranymi regulatorami wzrostu na parametry biometryczne uzyskanych mikrosadzonek klonu hodowlanego 0040-31.

Modyfikacja pożywki MS	Masa roślin [g]	Masa cebul [g]	Współczynnik namnażania cebul [szt.]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	0,49 b*	0,23 b	1,2 a	1,81 ab	5,28 b	3,65 b	3,56 b
mT	0,20 a	0,13 a	1,3 ab	1,76 ab	2,28 a	1,17 a	2,35 a
KAR ₁	0,50 b	0,22 b	1,4 ab	1,90 b	5,43 b	4,33 c	4,19 b
mT + KAR ₁	0,18 a	0,11 a	1,5 b	1,51 a	2,77 a	0,88 a	2,17 a

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

U klonu 0050-15 modyfikacje pożywki samą mT oraz mT z KAR₁ spowodowały zmniejszenie masy roślin, masy cebul, długości liści i korzeni oraz liczby korzeni w odniesieniu do tych parametrów uzyskanych na pożywce kontrolnej (Tab. 45). Wykazano, że dodatek samej KAR₁ spowodował wzrost liczby korzeni w porównaniu do pozostałych pożywek (i wpłynął na uzyskanie najwyższej wartości), a dodatkowo wpływał na zwiększenie liczby liści w stosunku do pożywki z samą mT. Suplementacja pożywki mT charakteryzowała się wyższym współczynnikiem namnażania cebul niż w przypadku pożywki kontrolnej oraz pożywki z dodatkiem KAR₁.

Tabela 45. Wpływ suplementacji pożywki MS wybranymi regulatorami wzrostu na parametry biometryczne uzyskanych mikrosadzonek klonu hodowlanego 0050-15.

Modyfikacja pożywki MS	Masa roślin [g]	Masa cebul [g]	Współczynnik namnażania cebul [szt.]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	0,37 b*	0,18 b	1,2 a	1,81 ab	3,63 b	3,24 b	3,88 b
mT	0,14 a	0,09 a	1,6 b	1,38 a	2,13 a	1,06 a	2,19 a
KAR ₁	0,36 b	0,16 b	1,3 a	2,03 b	3,40 b	4,00 c	3,90 b
mT + KAR ₁	0,17 a	0,11 a	1,3 ab	1,82 ab	1,97 a	1,25 a	2,33 a

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

U genotypu 0050-16 dodanie do pożywki samej mT oraz mT z KAR₁ spowodowało obniżenie masy roślin, masy cebul, długości liści i korzeni oraz liczby korzeni w odniesieniu do kontroli (Tab. 46). Największą liczbę korzeni odnotowano u mikrosadzonek na pożywce z dodatkiem KAR₁. Nie wykazano wpływu suplementacji pożywki na współczynnik namnażania cebul i liczbę liści.

Tabela 46. Wpływ suplementacji pożywki MS wybranymi regulatorami wzrostu na parametry biometryczne uzyskanych mikrosadzonek klonu hodowlanego 0050-16.

Modyfikacja pożywki MS	Masa roślin [g]	Masa cebul [g]	Współczynnik namnażania cebul [szt.]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	0,51 b*	0,26 b	1,5 a	2,25 a	5,19 b	2,80 b	4,20 b
mT	0,22 a	0,15 a	1,7 a	1,85 a	2,46 a	0,88 a	1,86 a
KAR ₁	0,54 b	0,25 b	1,6 a	2,15 a	4,80 b	3,26 c	4,14 b
mT + KAR ₁	0,22 a	0,15 a	1,8 a	1,92 a	2,56 a	0,96 a	1,77 a

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

U klonu 0072-17 suplementacja pożywki samą mT oraz mT z dodatkiem KAR₁ spowodowały obniżenie masy roślin, długości liści i korzeni oraz liczby korzeni w porównaniu do kontroli (Tab. 47). Dodatek samej mT zmniejszył także liczbę liści w odniesieniu do pożywki kontrolnej. Nie wykazano wpływu modyfikacji pożywki na masę cebul i współczynnik namnażania cebul.

Tabela 47. Wpływ suplementacji pożywki MS wybranymi regulatorami wzrostu na parametry biometryczne uzyskanych mikrosadzonek klonu hodowlanego 0072-17.

Modyfikacja pożywki MS	Masa roślin [g]	Masa cebul [g]	Współczynnik namnażania cebul [szt.]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	0,41 b*	0,18 a	1,1 a	1,66 b	5,73 b	4,66 b	6,34 b
mT	0,19 a	0,13 a	1,2 a	1,37 a	2,90 a	1,77 a	3,85 a
KAR ₁	0,35 b	0,18 a	1,2 a	1,60 ab	5,46 b	5,21 b	5,93 b
mT + KAR ₁	0,19 a	0,12 a	1,1 a	1,53 ab	2,65 a	1,47 a	3,59 a

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

W przypadku klonu 0003-13 (Tab. 48) suplementacja pożywki samą mT oraz mT z dodatkiem KAR₁ spowodowała obniżenie masy roślin, masy cebul, długości liści i korzeni oraz liczby korzeni w porównaniu do pożywki kontrolnej. Wykazano, że dodatek samej KAR₁ spowodował wzrost liczby korzeni w odniesieniu do pozostałych pożywek. Nie wykazano wpływu modyfikacji pożywki na współczynnik namnażania cebul i liczbę liści.

Tabela 48. Wpływ suplementacji pożywki MS wybranymi regulatorami wzrostu na parametry biometryczne uzyskanych mikrosadzonek klonu hodowlanego 0003-13.

Modyfikacja pożywki MS	Masa roślin [g]	Masa cebul [g]	Współczynnik namnażania cebul [szt.]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	0,75 b*	0,26 c	1,7 a	2,06 a	8,38 b	4,73 b	4,58 b
mT	0,29 a	0,17 ab	1,7 a	2,10 a	3,32 a	2,05 a	2,97 a
KAR ₁	0,73 b	0,24 bc	1,7 a	2,25 a	7,54 b	5,52 c	4,20 b
mT + KAR ₁	0,27 a	0,14 a	1,9 a	2,47 a	3,56 a	2,13 a	3,02 a

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

Pożywka z samą mT oraz mT z dodatkiem KAR₁ u klonu 0004-04 obniżyła masę roślin, masę cebul, długość liści i korzeni oraz liczbę korzeni w porównaniu do pożywki kontrolnej (Tab. 49). Więcej korzeni odnotowano w przypadku mikrosadzonek z pożywki z dodatkiem KAR₁ niż w pozostałych modyfikacjach. Więcej liści w porównaniu do pożywki kontrolnej wytworzyły mikrosadzonki na pożywce z mT i KAR₁. Współczynnik namnażania cebul był niższy na pożywce z samą KAR₁ niż na pożywce z samą mT.

Tabela 49. Wpływ suplementacji pożywki MS wybranymi regulatorami wzrostu na parametry biometryczne uzyskanych mikrosadzonek klonu hodowlanego 0004-04.

Modyfikacja pożywki MS	Masa roślin [g]	Masa cebul [g]	Współczynnik namnażania cebul [szt.]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	0,62 b*	0,29 b	1,5 ab	1,69 a	6,56 b	3,74 b	5,02 b
mT	0,27 a	0,17 a	1,7 b	1,82 ab	3,49 a	1,08 a	2,66 a
KAR ₁	0,70 b	0,29 b	1,4 a	1,74 ab	7,29 b	5,52 c	5,00 b
mT + KAR ₁	0,33 a	0,20 a	1,5 ab	2,08 b	3,53 a	1,48 a	2,95 a

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

U klonu 0004-05 suplementacje pożywki samą mT oraz mT w połączeniu z KAR₁ spowodowały obniżenie masy roślin, masy cebul, długości liści i korzeni oraz liczby korzeni w porównaniu do modyfikacji kontrolnej (Tab. 50). Wykazano, że dodatek samej KAR₁ do pożywki spowodował wzrost liczby korzeni w odniesieniu do pozostałych modyfikacji. Nie wykazano wpływu modyfikacji pożywki w przypadku współczynnika namnażania cebul i liczby liści.

Tabela 50. Wpływ suplementacji pożywki MS wybranymi regulatorami wzrostu na parametry biometryczne uzyskanych mikrosadzonek klonu hodowlanego 0004-05.

Modyfikacja pożywki MS	Masa roślin [g]	Masa cebul [g]	Współczynnik namnażania cebul [szt.]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	0,66 b*	0,23 b	1,3 a	1,74 a	8,14 b	4,32 b	5,99 b
mT	0,20 a	0,11 a	1,4 a	2,07 a	3,11 a	1,01 a	3,01 a
KAR ₁	0,62 b	0,22 b	1,2 a	1,83 a	7,76 b	5,29 c	5,59 b
mT + KAR ₁	0,16 a	0,09 a	1,5 a	1,78 a	3,08 a	0,65 a	2,72 a

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

W przypadku klonu 0021-10 dodatek mT oraz mT z KAR₁ spowodował obniżenie masy roślin, masy cebul, zmniejszenie długości liści i korzeni oraz liczby korzeni w porównaniu z kontrolą (Tab. 51). Nie wykazano wpływu modyfikacji pożywki regulatorami wzrostu na współczynnik namnażania cebul i liczbę liści.

Tabela 51. Wpływ suplementacji pożywki MS wybranymi regulatorami wzrostu na parametry biometryczne uzyskanych mikrosadzonek klonu hodowlanego 0021-10.

Modyfikacja pożywki MS	Masa roślin [g]	Masa cebul [g]	Współczynnik namnażania cebul [szt.]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	0,94 b*	0,35 b	1,2 a	1,98 a	9,26 b	5,22 b	4,70 b
mT	0,27 a	0,16 a	1,3 a	1,96 a	4,38 a	0,82 a	2,97 a
KAR ₁	0,93 b	0,38 b	1,2 a	2,05 a	9,25 b	5,77 b	4,51 b
mT + KAR ₁	0,35 a	0,19 a	1,3 a	2,19 a	4,94 a	0,76 a	2,57 a

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

U genotypu 0023-11 dodatek do pożywki samej mT oraz mT z dodatkiem KAR₁ spowodował obniżenie masy roślin, masy samych cebul, długości liści i korzeni oraz liczby korzeni w porównaniu do pożywki kontrolnej (Tab. 52). Sama KAR₁ wpłynęła na zwiększenie liczby liści i korzeni w odniesieniu do pozostałych wariantów pożywki MS, przy czym liczba korzeni była największa ze wszystkich modyfikacji. Nie wykazano wpływu suplementacji pożywki badanymi regulatorami tylko w przypadku współczynnika namnażania cebul.

Tabela 52. Wpływ suplementacji pożywki MS wybranymi regulatorami wzrostu na parametry biometryczne uzyskanych mikrosadzonek klonu hodowlanego 0023-11.

Modyfikacja pożywki MS	Masa roślin [g]	Masa cebul [g]	Współczynnik namnażania cebul [szt.]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	0,76 b*	0,37 b	1,3 a	1,94 a	8,06 b	5,48 b	5,56 b
mT	0,31 a	0,21 a	1,3 a	1,93 a	3,46 a	2,06 a	3,64 a
KAR ₁	0,83 b	0,40 b	1,6 a	2,44 b	7,41 b	6,76 c	5,43 b
mT + KAR ₁	0,31 a	0,20 a	1,5 a	1,87 a	3,56 a	2,26 a	3,10 a

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

W przypadku klonu 0062-10 suplementowanie pożywki samą mT i mT w połączeniu z KAR₁ spowodowało obniżenie masy roślin, masy cebul, długości liści i korzeni oraz liczby korzeni w odniesieniu do kontroli (Tab. 53). Równocześnie dodatek KAR₁ pobudził mikrosadzonki do wytworzenia największej liczby korzeni. Nie wykazano wpływu badanych regulatorów na współczynnik namnażania cebul i liczbę liści.

Tabela 53. Wpływ suplementacji pożywki MS wybranymi regulatorami wzrostu na parametry biometryczne uzyskanych mikrosadzonek klonu hodowlanego 0062-10.

Modyfikacja pożywki MS	Masa roślin [g]	Masa cebul [g]	Współczynnik namnażania cebul [szt.]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	0,72 b*	0,31 b	1,4 a	2,23 a	7,38 b	4,91 b	3,56 b
mT	0,22 a	0,14 a	1,3 a	2,36 a	2,69 a	1,55 a	2,23 a
KAR ₁	0,59 b	0,25 b	1,5 a	2,07 a	7,29 b	5,71 c	3,57 b
mT + KAR ₁	0,19 a	0,11 a	1,4 a	2,27 a	2,75 a	1,00 a	2,03 a

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

U klonu 0015-03 dodatek do pożywki samej mT oraz mT w połączeniu z KAR₁ spowodował obniżenie masy całych roślin, masy cebul, długości liści i korzeni oraz liczby korzeni w odniesieniu do pożywki kontrolnej (Tab. 54). Zaobserwowano wzrost liczby korzeni w traktowaniu KAR₁ w porównaniu do pozostałych pożywek, a dodatkowo był on najwyższy. Suplementacja pożywki samą mT wpłynęła na wzrost liczby liści w stosunku do kontroli. Nie wykazano różnic we współczynniku namnażania cebul w zależności od modyfikacji pożywki.

Tabela 54. Wpływ suplementacji pożywki MS wybranymi regulatorami wzrostu na parametry biometryczne uzyskanych mikrosadzonek klonu hodowlanego 0015-03.

Modyfikacja pożywki MS	Masa roślin [g]	Masa cebul [g]	Współczynnik namnażania cebul [szt.]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	0,50 b*	0,24 b	1,0 a	1,56 a	8,06 b	3,65 b	3,85 c
mT	0,22 a	0,14 a	1,1 a	1,90 b	2,91 a	0,94 a	3,02 ab
KAR ₁	0,46 b	0,23 b	1,1 a	1,58 ab	7,39 b	4,53 c	3,72 bc
mT + KAR ₁	0,20 a	0,15 a	1,2 a	1,78 ab	2,90 a	0,77 a	2,84 a

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

U klonu 0017-01 użycie w pożywce samej mT oraz mT z KAR₁ spowodowało obniżenie masy roślin, długości liści i korzeni oraz liczby korzeni w odniesieniu do tych parametrów uzyskanych na pożywce kontrolnej (Tab. 55). W przypadku liczby liści zastosowanie mT spowodowało jej zmniejszenie w porównaniu do wszystkich innych modyfikacji pożywki MS. Dodatkowo, traktowanie mT w połączeniu z KAR₁ spowodowało obniżenie współczynnika namnażania cebul w odniesieniu do traktowania samą mT. Najdłuższe liście zanotowano u mikrosadzonek z pożywki kontrolnej, ale dłuższe niż na pożywce z samą mT oraz z mT w połączeniu z KAR₁ odnotowano

u mikrosadzonek z pożywki suplementowanej samą KAR₁. Nie wykazano wpływu regulatorów wzrostu na masę cebul.

Tabela 55. Wpływ suplementacji pożywki MS wybranymi regulatorami wzrostu na parametry biometryczne uzyskanych mikrosadzonek klonu hodowlanego 0017-01.

Modyfikacja pożywki MS	Masa roślin [g]	Masa cebul [g]	Współczynnik namnażania cebul [szt.]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	0,58 b*	0,22 a	1,4 ab	1,74 b	6,45 c	4,55 b	5,31 b
mT	0,23 a	0,14 a	1,6 b	1,44 a	2,97 a	1,19 a	2,77 a
KAR ₁	0,54 b	0,21 a	1,3 ab	1,83 b	5,37 b	5,57 b	5,04 b
mT + KAR ₁	0,27 a	0,17 a	1,2 a	1,78 b	3,09 a	1,60 a	2,99 a

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

U klonu 0075-25 suplementacja pożywki samą mT oraz mT z KAR₁ spowodowała obniżenie masy roślin, masy samych cebul, długości liści oraz liczby korzeni w odniesieniu do kontroli (Tab. 56). Najwięcej korzeni wytworzyły mikrosadzonki na pożywce z KAR₁. Dodatkowo na zmniejszenie liczby liści względem kontroli wpłynęło dodanie do pożywki samej mT. Nie wykazano wpływu badanych regulatorów wzrostu na współczynnik namnażania cebul oraz długość korzeni.

Tabela 56. Wpływ suplementacji pożywki MS wybranymi regulatorami wzrostu na parametry biometryczne uzyskanych mikrosadzonek klonu hodowlanego 0075-25.

Modyfikacja pożywki MS	Masa roślin [g]	Masa cebul [g]	Współczynnik namnażania cebul [szt.]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	0,66 b*	0,20 b	1,5 a	2,23 b	6,55 b	4,81 b	4,82 a
mT	0,20 a	0,12 a	1,6 a	1,68 a	2,76 a	1,86 a	4,12 a
KAR ₁	0,64 b	0,21 b	1,5 a	2,13 ab	6,63 b	5,98 c	4,58 a
mT + KAR ₁	0,24 a	0,12 a	1,4 a	1,94 ab	2,91 a	2,34 a	4,22 a

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

5.5. Ocena liczby i długości aparatów szparkowych badanych genotypów

Poniżej zaprezentowano wyniki zróżnicowania w liczbie oraz długości aparatów szparkowych u różnych genotypów badanej populacji. Wykazano zależność między ich długością, a liczbą na 1 mm². Dodatkowo wskazano ich przydatność jako markerów morfologicznych do określania poziomu ploidalności oraz wykrywania euploidów na wczesnym etapie rozwoju roślin.

Mikroskopowa analiza długości aparatów szparkowych wykazała, że wszystkie wykryte we wcześniejszych badaniach formy tetraploidalne charakteryzują się najdłuższymi aparatami szparkowymi – powyżej 49,57 μm (Fot. 21). U form triploidalnych odnotowano długość w przedziale – 42,48-46,76 μm (Fot. 20). Forma diploidalna posiadała aparaty szparkowe o średniej długości 35,73 μm (Fot. 19), (Tab. 57).

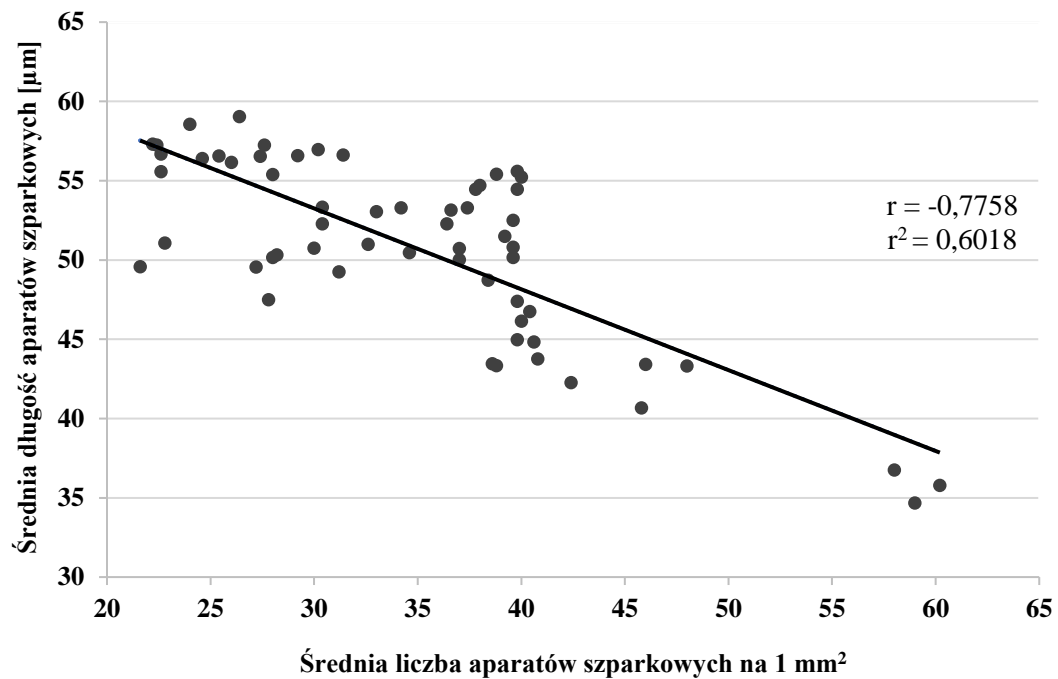
W przypadku liczby aparatów szparkowych na 1 mm^2 analiza mikroskopowa wykazała, że diploidalna odmiana 'Rio Negro' posiada największą średnią liczbę aparatów szparkowych – 59,07 szt. U pozostałych badanych genotypów wartość ta wahała się w przedziale od 23,40 do 41,07 szt. (Tab. 57).

Tabela 57. Długość oraz liczba aparatów szparkowych 20 badanych genotypów *Hippeastrum*.

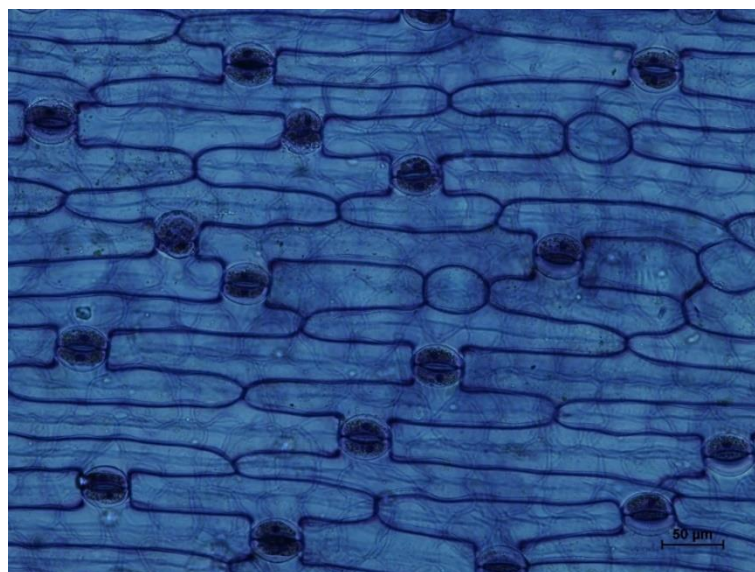
Genotyp	Długość aparatów szparkowych [μm]	Liczba aparatów szparkowych na 1 mm^2 [szt.]	Genotyp	Długość aparatów szparkowych [μm]	Liczba aparatów szparkowych na 1 mm^2 [szt.]
<i>H. ×chmielii</i> klon 6	49,88 e*	39,20 efg	0072-17	51,77 f	35,47 de
<i>H. ×chmielii</i> klon 18	54,10 hi	37,47 efg	0003-13	49,81 e	25,67 ab
<i>H. hybridum</i> 'Gervase'	55,40 ij	39,53 fg	0004-04	56,91 jk	28,40 bc
<i>H. hybridum</i> 'Rio Negro'	35,73 a	59,07 i	0004-05	56,03 j	24,40 a
<i>H. hybridum</i> 'Royal Velvet'	50,15 e	31,93 cd	0021-10	42,99 bc	45,47 h
0033-10	56,84 jk	23,40 a	0023-11	42,48 b	41,07 g
0037-13	49,57 e	26,20 ab	0062-10	44,51 c	40,40 g
0040-31	58,28 k	24,27 a	0015-03	53,41 h	38,93 efg
0050-15	56,91 jk	29,53 bc	0017-01	51,06 ef	36,27 ef
0050-16	46,76 d	40,07 fg	0075-25	52,96 gh	31,67 cd

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

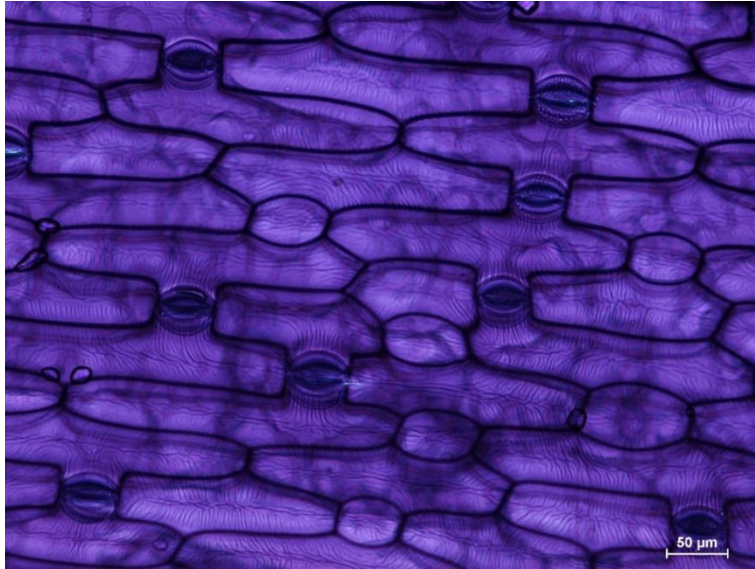
Przeprowadzona analiza zależności między długością aparatów szparkowych, a ich liczbą na 1 mm², przy użyciu metody korelacji wykazała, że współczynnik korelacji Pearsona wynosi -0,78, co świadczy o silnej zależności liniowej średniej długości aparatów szparkowych od ich liczby. Współczynnik determinacji (r²) wynosi 0,60, co oznacza, że zmienność średniej długości aparatów szparkowych jest w 60% wyjaśniona zmiennością liczby aparatów na 1 mm² (Wykres 6).



Wykres 6. Wykres rozrzutu średniej długości aparatów szparkowych w stosunku do ich liczby na 1 mm² dla 20 badanych genotypów hipeastrum.



Fot. 19. Mikroskopowy obraz aparatów szparkowych widocznych na dolnej stronie liścia diploidalnej odmiany 'Rio Negro' (zdjęcie własne)



Fot. 20. Mikroskopowy obraz aparatów szparkowych widocznych na dolnej stronie liścia triploidalnego klonu hodowlanego 0062-10 (zdjęcie własne)



Fot. 21. Mikroskopowy obraz aparatów szparkowych widocznych na dolnej stronie liścia tetraploidalnego klonu hodowlanego 0050-15 (zdjęcie własne)

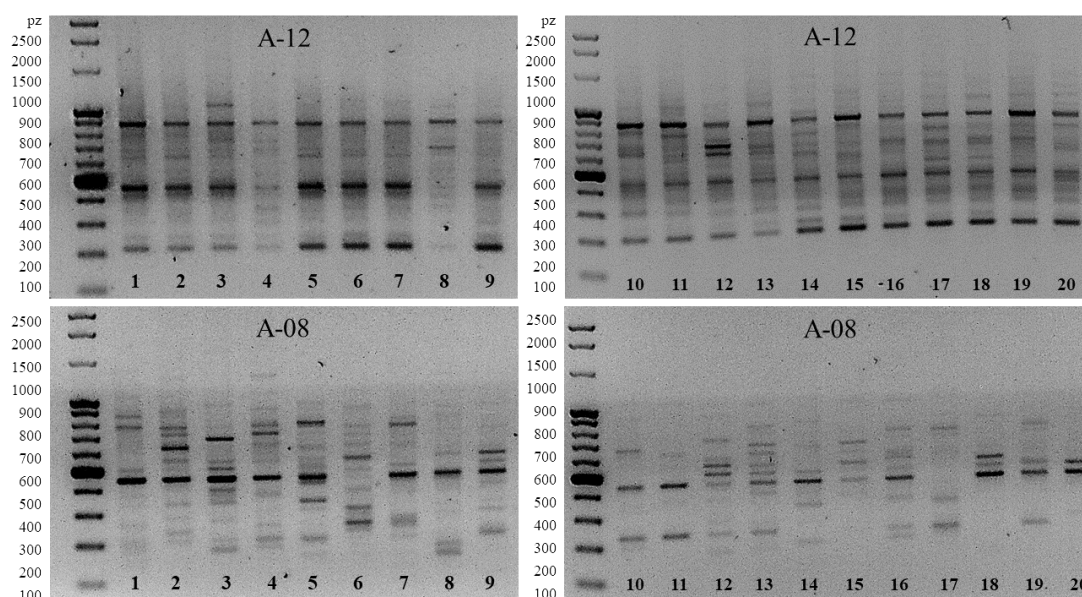
5.6. Ocena stopnia pokrewieństwa metodami RAPD i ISSR

Przeprowadzone analizy RAPD (Fot. 22) pozwoliły uzyskać ogółem 3926 produktów przy użyciu 30 starterów (Tab. 58) oraz 4612 produktów w przypadku analizy ISSR (Fot. 23), gdzie wykorzystano tyle samo starterów. W wyniku analizy RAPD uzyskano łącznie 221 prążków polimorficznych, co stanowi 5,6% zamplifikowanych produktów. Podobnie dla analiz ISSR uzyskano łącznie 147 prążków polimorficznych, co stanowiło 3,1% zamplifikowanych produktów. W przypadku analizy RAPD

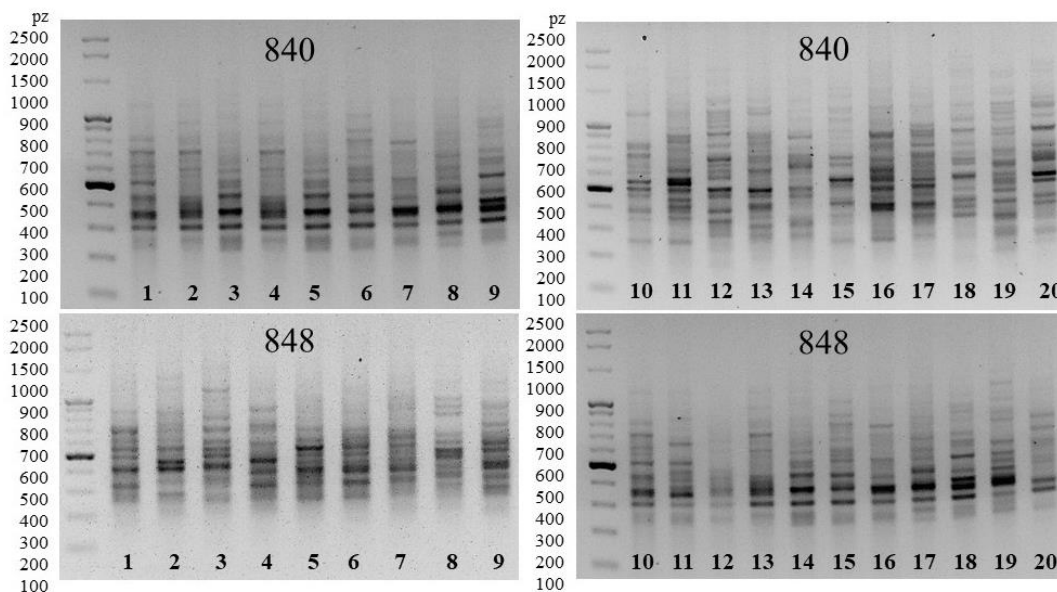
pojedynczy starter średnio generował 7,4 fragmentów polimorficznych, a ISSR – 4,9. Wartość współczynnika podobieństwa genetycznego wg Jaccarda (Jaccard 1908) uzyskanego dla obu technik (RAPD oraz ISSR) wynosiła 0,768.

Tabela 58. Charakterystyka produktów PCR dla 20 badanych genotypów *Hippeastrum* uzyskanych przy zastosowaniu markerów RAPD oraz ISSR.

Parametry	Typ markera	
	RAPD	ISSR
Całkowita liczba użytych starterów:	30	30
Całkowita liczba uzyskanych prążków:	3926	4612
Wielkości generowanych produktów	200-2000 pz	100-2500 pz
Liczba prążków polimorficznych:	221	147
Liczba prążków monomorficznych:	62	124
Średnia liczba prążków polimorficznych na starter	7,4	4,9
Procentowy udział produktów polimorficznych	5,6	3,1
Średnia współczynnika podobieństwa wg Jaccarda	0,768	

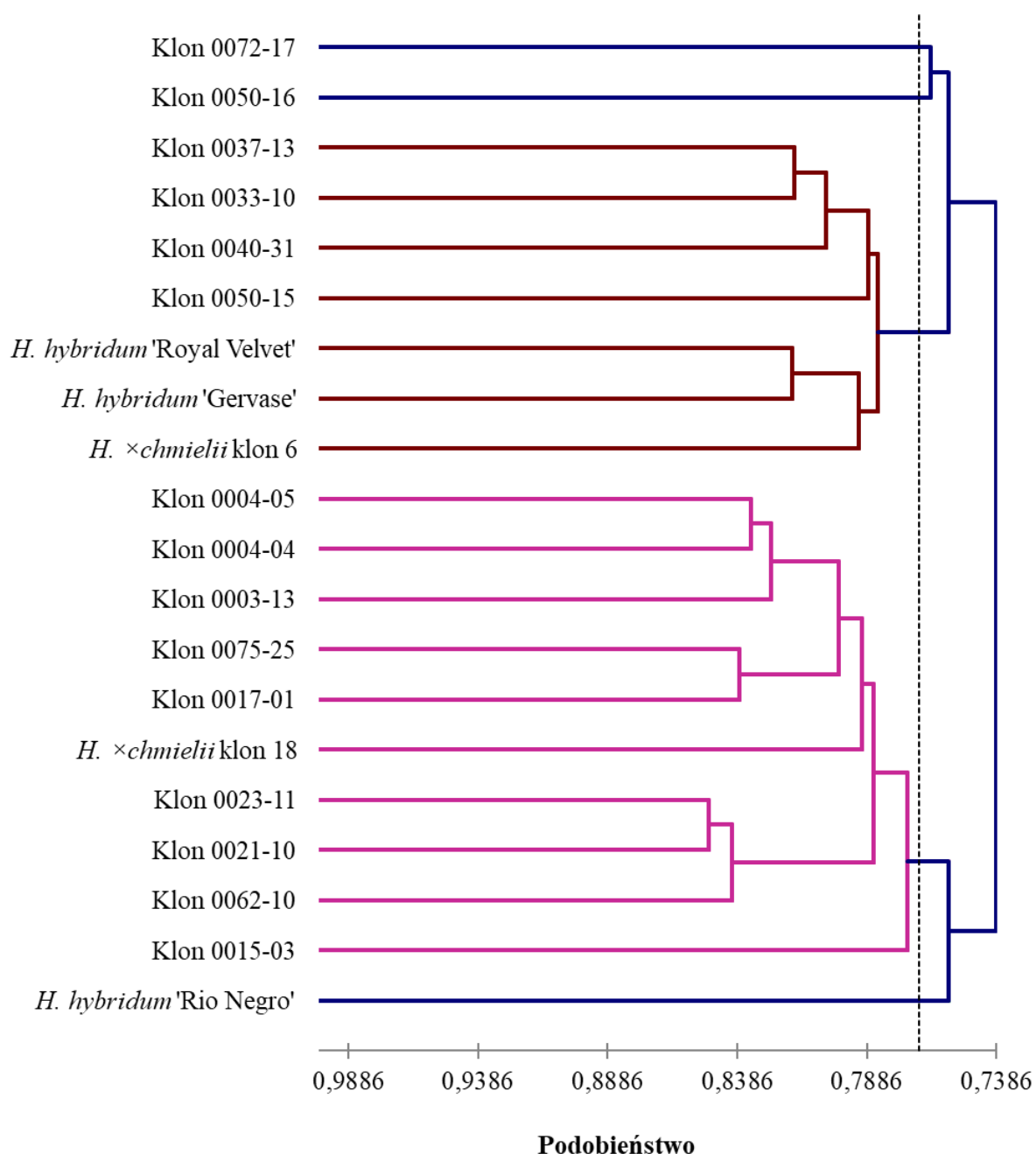


Fot. 22. Polimorfizm DNA 20 badanych genotypów *Hippeastrum* po reakcjach PCR-RAPD ze starterami A-08 oraz A-12; **1** - *H. ×chmielii* klon 6, **2** - *H. hybridum* 'Gervase', **3** - *H. hybridum* 'Royal Velvet' **4** - klon 0033-10, **5** - klon 0037-13, **6** - klon 0040-31, **7** - klon 0050-15, **8** - klon 0050-16, **9** - klon 0072-17, **10** - *H. ×chmielii* klon 18, **11** - *H. hybridum* 'Rio Negro', **12** - klon 0003-13, **13** - klon 0004-04, **14** - klon 0004-05, **15** - klon 0021-10, **16** - klon 0023-11, **17** - klon 0062-10, **18** - klon 0015-03, **19** - klon 0017-01, **20** - klon 0075-25 (zdjęcia własne).



Fot. 23. Polimorfizm DNA 20 badanych genotypów *Hippeastrum* po reakcjach PCR-ISSR ze starterami 840 oraz 848; **1** - *H. xchmielii* klon 6, **2** - *H. hybridum* 'Gervase', **3** - *H. hybridum* 'Royal Velvet' **4** - klon 0033-10, **5** - klon 0037-13, **6** - klon 0040-31, **7** - klon 0050-15, **8** - klon 0050-16, **9** - klon 0072-17, **10** - *H. xchmielii* klon 18, **11** - *H. hybridum* 'Rio Negro', **12** - klon 0003-13, **13** - klon 0004-04, **14** - klon 0004-05, **15** - klon 0021-10, **16** - klon 0023-11, **17** - klon 0062-10, **18** - klon 0015-03, **19** - klon 0017-01, **20** - klon 0075-25 (zdjęcia własne).

Dzięki analizie skupień metodą UPGMA sporządzono na podstawie analiz RAPD oraz ISSR dendrogram, z którego wyodrębnione zostało 5 grup (Wykres 7). Pierwszą grupę tworzą klon 6, odmiany 'Gervase' i 'Royal Velvet' oraz klony hodowlane 0033-10, 0037-13, 0040-31, 0050-15. Drugą i najbardziej liczną grupę tworzą klon 18 *H. xchmielii* oraz klony 0003-13, 0004-04, 0004-05, 0021-10, 0023-11, 0062-10, 0015-03 oraz 0075-25. W skład trzeciej, czwartej i piątej grupy, samotnie znajduje się kolejno odmiana 'Rio Negro', klon 0050-16 i klon 0072-17. Największe podobieństwo genetyczne (85%) występuje w grupie drugiej między klonami 0021-10 i 0023-11. Najmniejsze pokrewieństwo, które wyniosło 76%, wykazały klony 0072-17 i 0050-16.



Wykres 7. Dendrogram analizy skupień wykonany metodą UPGMA w oparciu o polimorfizm markerów RAPD oraz ISSR dla 20 badanych genotypów *Hippeastrum*.

5.7. Ocena wpływu biostymulatorów i KAR₁ na wybrane cechy mikrosadzonek po aklimatyzacji *ex vitro*

W badaniach nad aklimatyzacją do warunków *ex vitro* określony został wpływ biostymulatorów (Goteo 0,2% i Folium 0,5%) oraz KAR₁ 10⁻⁹ M na przeżywalność mikrosadzonek, ale również i na wybrane parametry biometryczne roślin. Uzyskane wyniki

pozwalają na ulepszenie protokołu mikrorozmnażania i uzyskanie lepszych jakościowo roślin sadzonek.

Proces aklimatyzacji w zaproponowanych warunkach i we wszystkich kombinacjach doświadczalnych przebiegł pomyślnie i skutkował 100% przeżywalnością mikrosadzonek wszystkich badanych genotypów.

U klonu 6 *H. ×chmielii* (Tab. 59) traktowanie mikrosadzonek Goteo spowodowało wzrost masy roślin po 3 tygodniach aklimatyzacji w stosunku do masy roślin traktowanych KAR₁ oraz wzrost liczby liści w porównaniu do kontroli. Zastosowanie Goteo oraz Folium wpłynęło na uzyskanie dłuższych korzeni w porównaniu do kontroli oraz traktowania KAR₁. Nie wykazano wpływu badanych biostymulatorów i KAR₁ na długość liści oraz liczbę korzeni.

Tabela 59. Wpływ traktowania biostymulatorami i KAR₁ na parametry biometryczne mikrosadzonek klonu 6 *H. ×chmielii*, po 3 tygodniach aklimatyzacji *ex vitro*.

Traktowania	Masa roślin [g]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	0,92 ab*	2,19 a	12,88 a	4,86 a	3,27 a
Goteo	1,06 b	2,81 b	12,53 a	4,71 a	4,56 b
Folium	0,86 ab	2,38 ab	12,59 a	4,71 a	4,45 b
KAR ₁	0,74 a	2,62 ab	10,22 a	4,29 a	2,74 a

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

W przypadku klonu 18 *H. ×chmielii* (Tab. 60) wykorzystanie KAR₁ w procesie aklimatyzacji spowodowało wzrost masy roślin oraz liczby korzeni, a zastosowanie Goteo spowodowało zmniejszenie liczby korzeni w porównaniu do pozostałych traktowań. Nie wykazano wpływu biostymulatorów i KAR₁ na liczbę i długość liści oraz korzeni.

Tabela 60. Wpływ traktowania biostymulatorami i KAR₁ na parametry biometryczne mikrosadzonek klonu 18 *H. ×chmielii*, po 3 tygodniach aklimatyzacji *ex vitro*.

Traktowania	Masa roślin [g]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	1,00 a*	2,38 a	12,82 a	5,33 b	4,10 a
Goteo	1,02 a	1,95 a	11,96 a	3,86 a	4,32 a
Folium	0,96 a	2,05 a	12,30 a	4,81 b	4,36 a
KAR ₁	1,27 b	2,24 a	12,53 a	6,52 c	5,17 a

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

U odmiany 'Gervase' (Tab. 61) zastosowanie Goteo spowodowało wzrost masy roślin oraz długości ich korzeni w porównaniu do roślin kontrolnych. Dodatkowo odnotowano wzrost liczby korzeni, w odniesieniu do roślin traktowanych Folium. Najliczniejsze korzenie wytworzyły rośliny podlewane i opryskiwane KAR₁. Nie odnotowano istotnych różnic pomiędzy traktowaniami w liczbie liści oraz ich długości.

Tabela 61. Wpływ traktowania biostymulatorami i KAR₁ na parametry biometryczne mikrosadzonek *H. hybridum* 'Gervase', po 3 tygodniach aklimatyzacji *ex vitro*.

Traktowania	Masa roślin [g]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	1,49 a*	2,33 a	13,50 a	6,43 ab	3,69 a
Goteo	1,97 b	2,38 a	13,21 a	6,67 b	4,86 b
Folium	1,79 ab	2,43 a	13,28 a	5,90 a	4,14 ab
KAR ₁	1,59 a	2,71 a	12,88 a	7,86 c	4,03 ab

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

U odmiany 'Rio Negro' (Tab. 62) zastosowanie obu biostymulatorów spowodowało zmniejszenie liczby liści w porównaniu do kontroli. Jednakże zastosowanie Goteo oraz KAR₁ wpłynęło na zwiększenie liczby korzeni oraz ich długości, w odniesieniu do wyników uzyskanych dla roślin kontrolnych. Najwięcej korzeni ze wszystkich traktowań wytworzyły rośliny podlewane i opryskiwane KAR₁. Nie odnotowano różnic w przypadku masy roślin oraz długości liści.

Tabela 62. Wpływ traktowania biostymulatorami i KAR₁ na parametry biometryczne mikrosadzonek *H. hybridum* 'Rio Negro', po 3 tygodniach aklimatyzacji *ex vitro*.

Traktowania	Masa roślin [g]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	1,41 a*	2,90 b	12,59 a	5,76 a	4,12 a
Goteo	1,45 a	2,24 a	13,39 a	6,90 b	5,05 bc
Folium	1,35 a	2,38 a	12,69 a	5,71 a	4,15 ab
KAR ₁	1,28 a	2,62 ab	12,88 a	7,95 c	5,45 c

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

W przypadku odmiany 'Royal Velvet' (Tab. 63) zastosowanie KAR₁ wpłynęło na uzyskanie większej masy roślin w stosunku do pozostałych traktowań. Większą liczbę liści niż w kontroli wytworzyły rośliny traktowane Goteo oraz KAR₁. Rośliny opryskiwane oraz podlewane KAR₁ miały dłuższe liście niż te traktowane Folium oraz rośliny kontrolne. Największą liczbę korzeni wytworzyły rośliny traktowane KAR₁, chociaż zastosowanie obu biostymulatorów także spowodowało wzrost liczby korzeni

względem roślin kontrolnych. Nie wykazano wpływu badanych traktowań na długości korzeni.

Tabela 63. Wpływ traktowania biostymulatorami i KAR₁ na parametry biometryczne mikrosadzonek *H. hybridum* 'Royal Velvet', po 3 tygodniach aklimatyzacji *ex vitro*.

Traktowania	Masa roślin [g]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	3,34 a*	3,48 ab	14,21 a	8,43 a	7,41 a
Goteo	3,75 a	3,86 c	15,12 ab	10,19 b	7,88 a
Folium	3,70 a	3,71 bc	14,31 a	10,09 b	7,53 a
KAR ₁	4,63 b	3,95 c	17,35 b	13,14 c	6,61 a

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

U klonu 0033-10 (Tab. 64) zastosowanie biostymulatorów oraz KAR₁ spowodowało wzrost masy roślin w odniesieniu do masy roślin w traktowaniu kontrolnym. Wzrost liczby liści odnotowano jedynie w przypadku traktowania roślin KAR₁. Zastosowanie biostymulatora Folium oraz KAR₁ zwiększyło długość liści w porównaniu do długości liści roślin kontrolnych. Największą liczbę korzeni uzyskano po zastosowaniu KAR₁. Także użycie Goteo wpłynęło na wytworzenie większej liczby korzeni niż w traktowaniu kontrolnym oraz Folium. Nie odnotowano wpływu badanych biostymulatorów oraz KAR₁ na długość korzeni.

Tabela 64. Wpływ traktowania biostymulatorami i KAR₁ na parametry biometryczne mikrosadzonek klonu hodowlanego 0033-10, po 3 tygodniach aklimatyzacji *ex vitro*.

Traktowania	Masa roślin [g]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	0,51 a*	2,71 a	10,75 a	7,52 a	3,99 a
Goteo	1,41 b	2,67 a	13,96 ab	9,62 b	4,54 a
Folium	1,58 b	3,00 a	16,38 b	7,86 a	4,11 a
KAR ₁	1,37 b	3,71 b	16,61 b	11,52 c	4,21 a

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

W przypadku klonu 0037-13 (Tab. 65) zastosowanie Goteo oraz KAR₁ wpłynęło na zwiększenie liczby korzeni w porównaniu do liczby korzeni uzyskanych w roślinach kontrolnych oraz traktowanych Folium. Nie odnotowano wpływu traktowań na pozostałe badane parametry biometryczne.

Tabela 65. Wpływ traktowania biostymulatorami i KAR₁ na parametry biometryczne mikrosadzonek klonu hodowlanego 0037-13, po 3 tygodniach aklimatyzacji *ex vitro*.

Traktowania	Masa roślin [g]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	1,06 a*	2,38 a	9,23 a	6,86 a	4,01 a
Goteo	1,10 a	2,24 a	8,76 a	8,10 b	4,35 a
Folium	1,50 a	2,67 a	10,02 a	6,90 a	4,23 a
KAR ₁	1,45 a	2,48 a	9,48 a	9,05 c	4,37 a

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

Klon 0040-31 (Tab. 66) zareagował pod wpływem Goteo oraz KAR₁ obniżeniem masy roślin i równoczesnym zwiększeniem liczby korzeni w odniesieniu do kontroli oraz traktowania preparatem Folium. Więcej liści wytworzyły mikrosadzonki traktowane Folium oraz KAR₁ niż mikrosadzonki traktowane Goteo, choć była to wartość porównywalna z kontrolą. Nie odnotowano wpływu biostymulatorów oraz KAR₁ na długość liści i korzeni.

Tabela 66. Wpływ traktowania biostymulatorami i KAR₁ na parametry biometryczne mikrosadzonek klonu hodowlanego 0040-31, po 3 tygodniach aklimatyzacji *ex vitro*.

Traktowania	Masa roślin [g]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	1,13 b*	2,38 ab	10,41 a	5,95 a	4,24 a
Goteo	0,99 a	2,00 a	9,67 a	7,52 b	4,79 a
Folium	1,04 ab	2,57 b	11,32 a	6,48 a	3,92 a
KAR ₁	0,95 a	2,86 b	10,64 a	8,05 b	3,97 a

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

U klonu 0050-15 (Tab. 67) po zastosowaniu obu biostymulatorów liście były krótsze w porównaniu do liści mikrosadzonek kontrolnych. Traktowanie Goteo wpłynęło na zwiększenie liczby liści w porównaniu do traktowania KAR₁. Rośliny traktowane Goteo oraz KAR₁ wytworzyły więcej i dłuższych korzeni w odniesieniu do roślin kontrolnych. Nie wykazano wpływu badanych biostymulatorów oraz KAR₁ na masę roślin.

Tabela 67. Wpływ traktowania biostymulatorami i KAR₁ na parametry biometryczne mikrosadzonek klonu hodowlanego 0050-15, po 3 tygodniach aklimatyzacji *ex vitro*.

Traktowania	Masa roślin [g]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	0,64 a*	2,76 ab	8,13 c	3,67 a	2,99 a
Goteo	0,60 a	3,05 b	6,33 a	4,57 b	3,91 b
Folium	0,57 a	2,81 ab	6,91 ab	4,10 ab	3,66 ab
KAR ₁	0,64 a	2,43 a	7,91 bc	5,33 c	3,95 b

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

W przypadku klonu 0050-16 (Tab. 68) zastosowanie KAR₁ spowodowało wzrost liczby liści oraz korzeni w odniesieniu do roślin kontrolnych. Dodatkowo na wzrost liczby korzeni w stosunku do roślin kontrolnych wpłynęło zastosowanie Folium. Nie odnotowano różnic w masie roślin, długość liści i korzeni.

Tabela 68. Wpływ traktowania biostymulatorami i KAR₁ na parametry biometryczne mikrosadzonek klonu hodowlanego 0050-16, po 3 tygodniach aklimatyzacji *ex vitro*.

Traktowania	Masa roślin [g]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	1,59 a*	2,71 a	10,56 a	5,29 a	5,40 a
Goteo	1,66 a	2,81 ab	11,03 a	5,57 ab	5,48 a
Folium	1,45 a	3,05 ab	10,23 a	6,00 b	5,14 a
KAR ₁	1,35 a	3,14 b	9,74 a	6,00 b	5,04 a

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

Mikrosadzonki klonu 0072-17 wytworzyły najwięcej korzeni pod wpływem KAR₁, dodatkowo więcej korzeni niż w kontroli wytworzyły rośliny traktowane obydwoma biostymulatorami (Tab. 69). Nie wykazano różnic w masie roślin, liczbie liści oraz długości liści i korzeni po trzytygodniowej aklimatyzacji.

Tabela 69. Wpływ traktowania biostymulatorami i KAR₁ na parametry biometryczne mikrosadzonek klonu hodowlanego 0072-17, po 3 tygodniach aklimatyzacji *ex vitro*.

Traktowania	Masa roślin [g]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	1,12 a*	2,91 a	12,89 a	4,57 a	4,12 a
Goteo	1,17 a	3,04 ab	13,24 a	5,21 b	4,34 a
Folium	1,09 a	3,12 ab	12,98 a	5,18 b	4,38 a
KAR ₁	1,14 a	2,83 a	12,67 a	6,12 c	5,19 a

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

W przypadku klonu 0003-13, większą masę roślin oraz więcej liści zanotowano u mikrosadzonek traktowanych KAR₁ w porównaniu do tych cech u mikrosadzonek traktowanych odpowiednio obydwoma biostymulatorami i samym Goteo (Tab. 70). Dłuższe korzenie, ale nie dłuższe niż w kontroli, zaobserwowano w przypadku zastosowania KAR₁. Najwięcej korzeni wytworzyły mikrosadzonki traktowane KAR₁. Nie wykazano wpływu badanych biostymulatorów i KAR₁ na długość liści.

Tabela 70. Wpływ traktowania biostymulatorami i KAR₁ na parametry biometryczne mikrosadzonek klonu hodowlanego 0003-13, po 3 tygodniach aklimatyzacji *ex vitro*.

Traktowania	Masa roślin [g]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	1,18 ab*	2,05 ab	12,97 a	5,43 a	4,61 bc
Goteo	1,03 a	1,95 a	12,26 a	5,86 b	3,86 a
Folium	0,99 a	2,10 ab	12,80 a	5,52 a	4,03 ab
KAR ₁	1,41 b	2,48 b	14,30 a	6,24 c	5,31 c

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

U klonu 0004-04 większą masę roślin po aklimatyzacji uzyskano po zastosowaniu Goteo, dodatkowo biostymulator ten wpłynął na uzyskanie dłuższych korzeni w porównaniu do kontroli (Tab. 71). Dłuższe liście osiągnęły rośliny traktowane Folium niż rośliny podlewane Goteo czy KAR₁. Najwięcej korzeni wytworzyły mikrosadzonki opryskiwane i podlewane KAR₁, równocześnie użycie obydwu biostymulatorów wpłynęło na uzyskanie większej liczby korzeni niż w kontroli. Nie odnotowano różnic w liczbie liści.

Tabela 71. Wpływ traktowania biostymulatorami i KAR₁ na parametry biometryczne mikrosadzonek klonu hodowlanego 0004-04, po 3 tygodniach aklimatyzacji *ex vitro*.

Traktowania	Masa roślin [g]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	0,96 a*	2,24 a	13,13 ab	4,10 a	3,80 a
Goteo	1,34 b	2,43 a	11,17 a	5,14 b	4,63 b
Folium	1,10 ab	2,38 a	14,49 b	5,57 b	4,24 ab
KAR ₁	1,07 ab	2,43 a	12,18 a	6,43 c	4,45 ab

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

Po zastosowaniu Goteo oraz KAR₁ w przypadku klonu 0004-05 (Tab. 72) masa roślin oraz liczba i długość korzeni wzrosły w odniesieniu do Folium i kontroli. Nie wykazano różnic w liczbie i długości liści.

Tabela 72. Wpływ traktowania biostymulatorami i KAR₁ na parametry biometryczne mikrosadzonek klonu hodowlanego 0004-05, po 3 tygodniach aklimatyzacji *ex vitro*.

Traktowania	Masa roślin [g]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	1,44 a*	2,33 a	12,85 a	5,53 a	4,04 a
Goteo	2,26 b	2,24 a	12,90 a	6,29 b	4,91 b
Folium	143 a	2,38 a	12,85 a	5,57 a	4,03 a
KAR ₁	2,13 b	2,48 a	13,36 a	6,48 b	5,26 b

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

W przypadku klonu 0021-10 na wzrost liczby liści w porównaniu do traktowania biostymulatorami Goteo i Folium miało wpływ zastosowanie KAR₁ (Tab. 73). Dodatkowo regulator ten spowodował wzrost liczby korzeni w odniesieniu do wszystkich pozostałych traktowań. Zastosowanie KAR₁ skutkowało uzyskaniem dłuższych korzeni niż po zastosowaniu obu biostymulatorów. Nie wykazano wpływu badanych biostymulatorów oraz KAR₁ na masę roślin oraz długość liści.

Tabela 73. Wpływ traktowania biostymulatorami i KAR₁ na parametry biometryczne mikrosadzonek klonu hodowlanego 0021-10, po 3 tygodniach aklimatyzacji *ex vitro*.

Traktowania	Masa roślin [g]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	1,32 a*	2,48 ab	14,89 a	4,71 a	5,20 bc
Goteo	1,40 a	2,33 a	15,09 a	5,14 a	4,84 b
Folium	1,31 a	2,29 a	15,43 a	4,86 a	4,27 a
KAR ₁	1,42 a	2,86 b	15,42 a	5,71 b	5,71 c

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

W przypadku klonu 0023-11 zastosowanie KAR₁ wpłynęło na zwiększenie liczby korzeni w porównaniu do Folium oraz kontroli (Tab. 74). Dodatkowo, traktowanie KAR₁ spowodowało wzrost długości korzeni w odniesieniu do roślin traktowanych Goteo oraz Folium. Nie odnotowano różnic w masie roślin, liczbie liści oraz ich długości.

Tabela 74. Wpływ traktowania biostymulatorami i KAR₁ na parametry biometryczne mikrosadzonek klonu hodowlanego 0023-11, po 3 tygodniach aklimatyzacji *ex vitro*.

Traktowania	Masa roślin [g]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	1,33 a*	2,29 a	15,84 a	4,38 a	4,52 ab
Goteo	1,40 a	2,14 a	15,03 a	4,90 ab	4,14 a
Folium	1,35 a	2,29 a	15,73 a	4,71 a	4,06 a
KAR ₁	1,44 a	2,38 a	15,59 a	5,38 b	4,84 b

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

Rośliny klonu 0062-10 (Tab. 75) podlewane i opryskiwane KAR₁ uzyskały większą masę po 3 tygodniach aklimatyzacji niż rośliny kontrolne. Najwięcej korzeni wytworzyły mikrosadzonki traktowane KAR₁. Goteo oraz KAR₁ wpłynęły na wzrost długości korzeni w porównaniu do zastosowania Folium. Nie wykazano różnic pomiędzy traktowaniami w liczbie liści oraz ich długości.

Tabela 75. Wpływ traktowania biostymulatorami i KAR₁ na parametry biometryczne mikrosadzonek klonu hodowlanego 0062-10, po 3 tygodniach aklimatyzacji *ex vitro*.

Traktowania	Masa roślin [g]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	1,49 a*	3,24 a	14,56 a	7,19 a	4,38 ab
Goteo	1,52 ab	3,19 a	13,34 a	9,05 b	4,47 b
Folium	1,50 ab	3,48 a	13,55 a	7,19 a	3,59 a
KAR ₁	1,76 b	3,62 a	15,48 a	10,38 c	5,21 b

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

Zastosowanie Goteo oraz KAR₁ u klonu 0015-03 (Tab. 76) spowodowało zwiększenie masy roślin po trzytygodniowej aklimatyzacji względem roślin kontrolnych oraz traktowanych Folium. Dłuższe liście uzyskano poprzez zastosowanie Goteo, w porównaniu do roślin kontrolnych oraz traktowanych Folium. Największą liczbą korzeni charakteryzowały się rośliny opryskiwane i podlewane KAR₁. Dodatkowo na zwiększenie wartości tego parametru względem kontroli oraz Folium wpłynęło Goteo. Dłuższe korzenie uzyskano poprzez traktowanie roślin Goteo w porównaniu do roślin kontrolnych. Nie wykazano różnic pomiędzy traktowaniami w przypadku liczby liści.

Tabela 76. Wpływ traktowania biostymulatorami i KAR₁ na parametry biometryczne mikrosadzonek klonu hodowlanego 0015-03, po 3 tygodniach aklimatyzacji *ex vitro*.

Traktowania	Masa roślin [g]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	1,19 a*	2,43 a	15,13 a	4,76 a	3,85 a
Goteo	1,39 b	2,48 a	15,72 b	5,91 b	4,68 b
Folium	1,16 a	2,53 a	15,12 a	4,71 a	4,29 ab
KAR ₁	1,43 b	2,61 a	15,23 ab	6,92 c	4,50 ab

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

Zastosowanie Goteo oraz regulatora wzrostu KAR₁ w przypadku klonu 0017-01 (Tab. 77) wpłynęło jedynie na zwiększenie liczby korzeni roślin w porównaniu do roślin kontrolnych oraz traktowanych Folium. Nie wykazano wpływu badanych biostymulatorów i KAR₁ dla pozostałych badanych parametrów.

Tabela 77. Wpływ traktowania biostymulatorami i KAR₁ na parametry biometryczne mikrosadzonek klonu hodowlanego 0017-01, po 3 tygodniach aklimatyzacji *ex vitro*.

Traktowania	Masa roślin [g]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	0,96 a*	2,21 a	14,50 a	5,92 a	5,93 a
Goteo	1,03 a	2,27 a	14,21 a	7,59 b	5,98 a
Folium	1,11 a	2,33 a	14,28 a	6,56 a	5,86 a
KAR ₁	1,06 a	2,44 a	13,98 a	7,63 b	6,04 a

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

Zastosowanie KAR₁ u klonu 0075-25 (Tab. 78) spowodowało wzrost liczby liści względem wszystkich pozostałych traktowań. Największą liczbę korzeni uzyskano pod wpływem KAR₁. Dodatkowo Goteo zwiększył ten parametr w odniesieniu do roślin kontrolnych oraz traktowanych Folium. Dłuższe korzenie niż kontrolne wytworzyły rośliny podlewane i opryskiwane Goteo oraz regulatorem KAR₁. Nie wykazano wpływu badanych preparatów na masę roślin oraz długość liści.

Tabela 78. Wpływ traktowania biostymulatorami i KAR₁ na parametry biometryczne mikrosadzonek klonu hodowlanego 0075-25, po 3 tygodniach aklimatyzacji *ex vitro*.

Traktowania	Masa roślin [g]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	1,38 a*	3,13 a	15,89 a	4,67 a	4,03 a
Goteo	1,41 a	3,28 a	16,09 a	5,19 b	4,92 b
Folium	1,42 a	3,23 a	15,44 a	4,17 a	4,67 ab
KAR ₁	1,32 a	3,61 b	15,43 a	6,69 c	4,96 b

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

5.8. Ocena wpływu nawożenia, biostymulacji i traktowania KAR₁ na wybrane cechy roślin po 7 tygodniach uprawy

W doświadczeniu oceniony został wpływ nawozu Kristalon Zielony (1 g·l⁻¹), biostymulatorów Goteo (0,2%) i Folium (0,5%) oraz KAR₁ (10⁻⁹ M) na wybrane parametry biometryczne roślin rozmnożonych metodą *in vitro*, po 7 tygodniowym cyklu uprawy. Uzyskane wyniki w przypadku zastosowanego nawozu i biostymulatorów przyczynią się do rozwoju zaleceń uprawowych, a w przypadku KAR₁ są pierwszym doniesieniem odnośnie wpływu tego regulatora *ex vitro* na badane rośliny *Hippeastrum*.

W przypadku klonu 6 *H. ×chmielii* (Tab. 79) zastosowanie nawozu Kristalon Zielony oraz biostymulatora Folium wpłynęło na zwiększenie masy roślin względem

pozostałych traktowań. Najwięcej liści wytworzyły rośliny nawożone Kristalonem. Także zastosowanie Folium pozwoliło na uzyskanie większej liczby liści w odniesieniu do roślin kontrolnych. Największą liczbę korzeni uzyskano po zastosowaniu nawożenia. Zastosowanie obu biostymulatorów oraz KAR₁ spowodowało wzrost liczby korzeni w porównaniu do kontroli, jednak po zastosowaniu biostymulatora Folium rośliny charakteryzowały się mniejszą liczbą korzeni niż rośliny traktowane Goteo czy KAR₁. Dłuższe korzenie wytworzyły rośliny traktowane KAR₁, w porównaniu z roślinami traktowanymi Folium oraz nawozem. W przypadku tego klonu nie wykazano różnic w długości liści pomiędzy traktowaniami.

Tabela 79. Wpływ biostymulatorów, nawozu i KAR₁ na parametry biometryczne zaaklimatyzowanych roślin klonu 6 *H. ×chmielii*, po 7 tygodniach uprawy.

Traktowania	Masa roślin [g]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	2,42 a*	2,76 a	17,84 a	7,71 a	7,48 abc
Kristalon Zielony	5,19 c	4,19 c	18,89 a	11,95 d	6,50 a
Goteo	2,79 a	3,19 ab	18,57 a	10,33 c	7,79 bc
Folium	3,80 b	3,43 b	18,00 a	9,52 b	7,05 ab
KAR ₁	2,79 a	3,00 ab	15,33 a	10,43 c	8,21 c

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

W przypadku klonu 18 *H. ×chmielii* (Tab. 80) podlewanie i opryskiwanie nawozem Kristalon spowodowało uzyskanie największej masy roślin ze wszystkich kombinacji. Dodatkowo, na zwiększenie masy roślin w odniesieniu do kontroli, Goteo oraz KAR₁ wpłynęło zastosowanie Folium. Nawożenie Kristalonem oraz biostymulacja preparatem Folium spowodowały zwiększenie liczby liści w porównaniu do pozostałych traktowań. Dłuższe liście w stosunku do roślin kontrolnych oraz traktowanych KAR₁ wytworzyły rośliny nawożone. Także Folium wpłynęła na wytworzenie dłuższych liści niż rośliny kontrolne. Najwięcej korzeni uzyskano w roślinach traktowanych Folium oraz KAR₁, w porównaniu do pozostałych traktowań. Dodatkowo, po zastosowaniu nawozu Kristalon zwiększyła się liczba korzeni w odniesieniu do kontroli oraz traktowania Goteo. Dłuższe korzenie zaobserwowano u roślin kontrolnych oraz traktowanych nawozem i Goteo niż u roślin traktowanych Folium.

Tabela 80. Wpływ biostymulatorów, nawozu i KAR₁, na parametry biometryczne zaaklimatyzowanych roślin klonu 18 *H. ×chmielii*, po 7 tygodniach uprawy.

Traktowania	Masa roślin [g]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	3,79 a*	2,90 a	17,03 a	6,14 a	12,33 b
Kristalon Zielony	8,62 c	4,67 b	23,38 c	7,29 b	12,25 b
Goteo	3,63 a	2,57 a	19,29 abc	6,14 a	12,22 b
Folium	7,14 b	4,38 b	22,74 bc	8,33 c	10,40 a
KAR ₁	4,06 a	2,67 a	18,53 ab	8,76 c	11,25 ab

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

W przypadku odmiany 'Gervase' (Tab. 81) większą masę odnotowano u roślin ze wszystkich kombinacji w porównaniu do masy roślin traktowanych KAR₁. Najwięcej liści wytworzyły rośliny podlewane i opryskiwane nawozem Kristalon Zielony. Także Folium zwiększyło ich liczbę w porównaniu do roślin kontrolnych i traktowanych KAR₁. Dłuższe liście wytworzyły rośliny traktowane Kristalonem oraz Goteo w porównaniu do traktowanych KAR₁. Najwięcej korzeni wytworzyły rośliny po zastosowaniu KAR₁, następnie nawozu oraz Goteo. Najmniejszą liczbą korzeni charakteryzowały się rośliny traktowane Folium. Jednak Folium wpłynęło na wydłużenie korzeni w odniesieniu do roślin kontrolnych, a także podlewanych i opryskiwanych Kristalonem oraz traktowanych Goteo.

Tabela 81. Wpływ biostymulatorów, nawozu i KAR₁, na parametry biometryczne zaaklimatyzowanych roślin *H. hybridum* 'Gervase', po 7 tygodniach uprawy.

Traktowania	Masa roślin [g]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	4,70 b*	3,00 a	21,05 ab	8,48 b	7,56 a
Kristalon Zielony	5,15 b	3,95 c	22,08 b	9,90 c	7,06 a
Goteo	5,11 b	3,38 ab	22,77 b	9,52 c	7,20 a
Folium	4,95 b	3,62 bc	21,16 ab	7,31 a	9,19 b
KAR ₁	3,95 a	3,05 a	18,09 a	11,67 d	8,02 ab

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

Największą masę roślin odmiany 'Rio Negro' uzyskano po zastosowaniu Kristalonu i była ona o 70% większa niż w kontroli (Tab. 82). Masa roślin kontrolnych po 7 tygodniach uprawy była wyższa niż masa roślin stymulowanych Folium. Zastosowanie nawozu spowodowało uzyskanie największej liczby liści. Wyższą liczbę liści odnotowano również u roślin kontrolnych oraz traktowanych Folium i KAR₁, a najniższą u roślin podlewanych i opryskiwanych Goteo. Nawóz wpłynął na wydłużenie

liści, ale tylko w porównaniu do roślin traktowanych KAR₁. Największą liczbę korzeni odnotowano u roślin traktowanych regulatorem wzrostu KAR₁, a najniższą u roślin stymulowanych Folium. Nie wykazano wpływu badanych traktowań na długość korzeni.

Tabela 82. Wpływ biostymulatorów, nawozu i KAR₁, na parametry biometryczne zaaklimatyzowanych roślin *H. hybridum* 'Rio Negro', po 7 tygodniach uprawy.

Traktowania	Masa roślin [g]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	4,32 b*	2,86 b	20,29 ab	8,29 b	7,15 a
Kristalon Zielony	6,10 c	3,62 c	21,90 b	8,14 b	6,60 a
Goteo	3,66 ab	2,19 a	20,38 ab	8,29 b	6,57 a
Folium	3,25 a	2,81 b	20,66 ab	7,24 a	5,34 a
KAR ₁	3,89 ab	2,81 b	18,00 a	10,00 c	6,75 a

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

U odmiany 'Royal Velvet' (Tab. 83) zastosowanie Folium jako jedyne spowodowało wzrost masy roślin w porównaniu do pozostałych traktowań. Wyższą liczbą liści charakteryzowały się rośliny nawożone oraz biostymulowane Folium w odniesieniu do roślin kontrolnych oraz traktowanych KAR₁. Dodatkowo zaobserwowano, że rośliny podlewane i opryskiwane Goteo miały więcej liści niż te traktowane KAR₁. Rośliny stymulowane Folium wytworzyły dłuższe liście niż rośliny kontrolne, podlewane i opryskiwane Goteo i KAR₁. Najwyższą liczbę korzeni zanotowano u roślin stymulowanych Goteo oraz KAR₁, a najniższą u roślin kontrolnych. Nie wykazano różnic w długości korzeni pomiędzy traktowaniami.

Tabela 83. Wpływ biostymulatorów, nawozu i KAR₁, na parametry biometryczne zaaklimatyzowanych roślin *H. hybridum* 'Royal Velvet', po 7 tygodniach uprawy.

Traktowania	Masa roślin [g]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	3,34 a*	3,48 ab	14,21 a	8,43 a	7,41 a
Kristalon Zielony	3,75 a	3,86 c	15,12 ab	10,19 b	7,88 a
Goteo	3,70 a	3,71 bc	14,31 a	13,14 c	7,53 a
Folium	4,63 b	3,95 c	17,35 b	10,19 b	6,61 a
KAR ₁	3,58 a	3,29 a	14,57 a	13,00 c	7,83 a

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

W przypadku klonu 0033-10 (Tab. 84) najwyższą masę uzyskały rośliny po zastosowaniu Folium, kolejno traktowane KAR₁, Goteo i nawożonych Kristalonem. Liczba liści była wyższa we wszystkich traktowaniach niż w kontroli. Rośliny traktowane

Folium charakteryzowały się dłuższymi liśćmi niż rośliny kontrolne oraz nawożone, także po zastosowaniu Goteo oraz KAR₁ uzyskano dłuższe liści niż u roślin kontrolnych. Najwięcej korzeni odnotowano u roślin traktowanych KAR₁ w porównaniu do wszystkich pozostałych kombinacji. W odniesieniu do kontroli większą liczbą korzeni charakteryzowały się również rośliny traktowane Goteo, następnie Folium oraz Kristalonem. Nie wykazano różnic w długości korzeni w zależności od traktowania roślin.

Tabela 84. Wpływ biostymulatorów, nawozu i KAR₁, na parametry biometryczne zaaklimatyzowanych roślin klonu hodowlanego 0033-10, po 7 tygodniach uprawy.

Traktowania	Masa roślin [g]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	3,75 a*	3,48 a	17,47 a	11,57 a	7,00 a
Kristalon Zielony	5,09 b	3,95 b	19,76 ab	13,95 b	7,19 a
Goteo	7,08 c	3,95 b	23,62 bc	18,86 d	7,83 a
Folium	9,01 e	4,38 b	25,89 c	14,71 c	7,19 a
KAR ₁	7,90 d	4,24 b	23,27 bc	19,76 e	7,44 a

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

W przypadku klonu 0037-13 (Tab. 85) najwyższą masę roślin uzyskano po traktowaniu Folium, kolejno po zastosowaniu Kristalonu oraz KAR₁, następnie stosując Goteo. Najniższą masę osiągnęły rośliny kontrolne. Zastosowanie Folium spowodowało zwiększenie liczby liści w odniesieniu do roślin kontrolnych oraz traktowanych Goteo, natomiast zastosowanie nawożenia spowodowało wzrost liczby korzeni w stosunku do kontroli. Najwięcej korzeni uzyskano po traktowaniu roślin KAR₁, kolejno po zastosowaniu nawożenia i preparatu Goteo, następnie – po traktowaniu roślin Folium. Najmniejszą liczbę korzeni odnotowano w kontroli. Nie wykazano różnic w długości liści oraz korzeni w zależności od zastosowanych traktowań.

Tabela 85. Wpływ biostymulatorów, nawozu i KAR₁, na parametry biometryczne zaaklimatyzowanych roślin klonu hodowlanego 0037-13, po 7 tygodniach uprawy.

Traktowania	Masa roślin [g]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	4,08 a*	3,05 a	14,07 a	9,19 a	7,56 a
Kristalon Zielony	5,75 c	4,00 bc	16,51 a	12,05 c	9,35 a
Goteo	4,94 b	3,38 ab	15,07 a	11,67 c	9,34 a
Folium	6,57 d	4,05 c	17,03 a	10,24 b	8,47 a
KAR ₁	5,62 c	3,67 abc	15,48 a	13,43 d	9,41 a

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

Wszystkie traktowania miały wpływ na badane parametry klonu 0040-31 (Tab. 86). Najwyższą masę uzyskano w przypadku roślin nawożonych, następnie traktowanych Folium w odniesieniu do roślin traktowanych Goteo i KAR₁. Najmniejszą masę, mniejszą nawet od roślin kontrolnych, odnotowano u roślin traktowanych KAR₁. Więcej liści wytworzyły rośliny nawożone oraz traktowane Folium, w stosunku do pozostałych traktowań. Najdłuższe liście uzyskano u roślin nawożonych, a dodatkowo rośliny kontrolne miały dłuższe liście niż rośliny traktowane KAR₁. Najwięcej korzeni odnotowano u roślin po zastosowaniu regulatora KAR₁, kolejno u roślin biostymulowanych Goteo, nawożonych oraz kontrolnych, a najmniej korzeni u roślin traktowanych Folium, które to były jednocześnie najdłuższymi. Nawożenie zwiększyło długość korzeni w porównaniu do korzeni roślin traktowanych Goteo oraz KAR₁. Dodatkowo rośliny kontrolne posiadały dłuższe korzenie niż rośliny traktowane Goteo.

Tabela 86. Wpływ biostymulatorów, nawozu i KAR₁ na parametry biometryczne zaaklimatyzowanych roślin klonu hodowlanego 0040-31, po 7 tygodniach uprawy.

Traktowania	Masa roślin [g]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	4,55 bc*	3,05 a	18,89 b	7,95 b	8,36 bc
Kristalon Zielony	7,27 d	3,90 b	22,79 c	9,24 c	8,62 c
Goteo	4,00 ab	3,05 a	16,40 ab	10,81 d	7,12 a
Folium	4,76 c	3,95 b	18,89 ab	6,94 a	9,95 d
KAR ₁	3,66 a	3,24 a	15,41 a	12,05 e	7,45 ab

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

W przypadku klonu 0050-15 (Tab. 87) największą masę roślin uzyskano po zastosowaniu nawożenia, kolejno u roślin traktowanych Folium, Goteo oraz regulatorem KAR₁. Najwięcej liści wytworzyły rośliny traktowane Kristalonem. Zastosowanie obu biostymulatorów oraz KAR₁ spowodowało wzrost liczby liści względem kontroli, jednak Folium zwiększyło ich liczbę względem roślin traktowanych KAR₁. Najdłuższe liście wytworzyły rośliny nawożone, ale nie były one istotnie dłuższe niż po zastosowaniu Folium. Najkrótsze odnotowano zaś w roślinach kontrolnych. Najwięcej korzeni odnotowano u roślin nawożonych oraz traktowanych KAR₁. Dodatkowo na wzrost liczby korzeni względem roślin kontrolnych wpłynęło traktowanie roślin zarówno Goteo, jak i Folium. Nie wykazano istotnych różnic pomiędzy traktowaniami w długości korzeni.

Tabela 87. Wpływ biostymulatorów, nawozu i KAR₁, na parametry biometryczne zaaklimatyzowanych roślin klonu hodowlanego 0050-15, po 7 tygodniach uprawy.

Traktowania	Masa roślin [g]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	1,48 a*	2,38 a	9,01 a	5,62 a	5,94 a
Kristalon Zielony	3,50 d	3,95 d	13,33 d	8,81 c	6,79 a
Goteo	1,91 b	3,14 bc	10,88 b	7,52 b	5,95 a
Folium	2,48 c	3,43 c	13,09 cd	8,05 b	6,09 a
KAR ₁	1,87 b	2,86 b	11,66 bc	8,86 c	6,07 a

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

Wartości wszystkich badanych parametrów klonu 0050-16 (Tab. 88) były zależne od zastosowanych traktowań. Największą masę roślin uzyskano po zastosowaniu nawozu, a najmniejszą – KAR₁. Dodatkowo, wyższą masę niż w kontroli oraz u roślin traktowanych KAR₁ uzyskano u roślin traktowanych Folium. Więcej liści wytworzyły rośliny nawożone niż rośliny kontrolne, traktowane Goteo oraz KAR₁. Dłuższe liście wytworzyły rośliny nawożone niż rośliny kontrolne czy traktowane KAR₁. Folium wpłynęła na uzyskanie dłuższych liści w porównaniu do KAR₁. Największą liczbę korzeni wytworzyły rośliny po zastosowaniu KAR₁. Wyższą liczbę korzeni w stosunku do Folium odnotowano również dla roślin nawożonych i dla roślin traktowanych nawozem i Goteo, a także dla roślin kontrolnych. Dłuższe korzenie otrzymano u roślin podlewanych i opryskiwanych Goteo niż u roślin traktowanych KAR₁.

Tabela 88. Wpływ biostymulatorów, nawozu i KAR₁, na parametry biometryczne zaaklimatyzowanych roślin klonu hodowlanego 0050-16, po 7 tygodniach uprawy.

Traktowania	Masa roślin [g]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	4,43 b*	3,76 a	13,34 ab	9,43 b	7,18 ab
Kristalon Zielony	6,26 d	4,29 b	16,30 c	10,19 c	7,00 ab
Goteo	4,64 bc	3,76 a	14,84 abc	10,57 c	7,85 b
Folium	4,88 c	4,10 ab	15,54 bc	8,76 a	7,18 ab
KAR ₁	3,66 a	3,71 a	12,25 a	11,43 d	6,70 a

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

W przypadku klonu 0072-17 (Tab. 89) największą masę uzyskały rośliny nawożone, a najniższą – kontrolne. Zastosowanie Folium zwiększyło masę roślin względem pozostałych traktowań, a Goteo i KAR₁ zwiększyły masę w odniesieniu do kontroli. Rośliny nawożone wytworzyły także najwięcej liści, a rośliny traktowane obydwojoma biostymulatorami więcej niż rośliny traktowane KAR₁ oraz kontrolne.

Kristalon oraz Folium spowodowały zwiększenie długości liści w odniesieniu do pozostałych traktowań. Zaobserwowano również, że zastosowanie Goteo oraz KAR₁ wydłużyło liście względem kontroli. Najwięcej korzeni wytworzyły rośliny traktowane KAR₁, a najmniej – kontrolne. Także zastosowanie nawozu zwiększyło liczbę korzeni w stosunku do pozostałych traktowań, a oba biostymulatory wpłynęły na zwiększenie liczby korzeni względem kontroli. Nie stwierdzono różnic w długości korzeni pomiędzy traktowaniami.

Tabela 89. Wpływ biostymulatorów, nawozu i KAR₁ na parametry biometryczne zaaklimatyzowanych roślin klonu hodowlanego 0072-17, po 7 tygodniach uprawy.

Traktowania	Masa roślin [g]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	2,69 a*	3,52 a	12,11 a	7,72 a	7,01 a
Kristalon Zielony	4,71 d	5,07 d	16,44 d	10,91 c	7,86 a
Goteo	3,12 b	4,46 c	13,99 b	9,62 b	7,02 a
Folium	3,69 c	4,55 c	16,20 cd	10,04 b	7,16 a
KAR ₁	3,08 b	3,98 b	14,15 b	12,98 d	7,14 a

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

W przypadku klonu 0003-13 wykazano, iż największą masę osiągnęły rośliny podlewane nawozem Kristalon (Tab. 90). Dodatkowo, wyższą masę w porównaniu do kontroli, Goteo oraz KAR₁ osiągnęły rośliny traktowane Folium. Liczba liści była największa u roślin nawożonych oraz traktowanych Folium, a najmniejsza u roślin kontrolnych. Dłuższe liście uzyskano po zastosowaniu nawozu oraz Folium w odniesieniu do roślin z pozostałych traktowań. Najwięcej korzeni wytworzyły rośliny po zastosowaniu KAR₁, kolejno rośliny nawożone, podlewane Goteo, a najmniej – rośliny kontrolne. Natomiast u roślin kontrolnych oraz traktowanych KAR₁, wykazano dłuższe korzenie w porównaniu do roślin nawożonych oraz biostymulowanych Folium.

Tabela 90. Wpływ biostymulatorów, nawozu i KAR₁ na parametry biometryczne zaaklimatyzowanych roślin klonu hodowlanego 0003-13, po 7 tygodniach uprawy.

Traktowania	Masa roślin [g]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	4,18 a*	2,71 a	16,99 a	7,57 a	11,12 b
Kristalon Zielony	9,04 c	4,52 c	23,79 b	9,48 c	9,29 a
Goteo	4,52 a	3,10 b	19,27 a	8,19 b	10,14 ab
Folium	6,69 b	4,44 c	23,52 b	7,90 ab	9,26 a
KAR ₁	4,69 a	2,90 ab	18,94 a	10,67 d	11,30 b

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

W przypadku klonu 0004-04 nie wykazano różnic w długości korzeni pomiędzy traktowaniami (Tab. 91). Największą masę odnotowano u roślin po zastosowaniu nawożenia oraz Folium, kolejno większą masę odnotowano dla roślin traktowanych Goteo, a następnie KAR₁, najmniejszą zaś u roślin kontrolnych. Najwyższą liczbę liści wytworzyły rośliny nawożone, a najmniejszą – kontrolne oraz traktowane Goteo i KAR₁. Na uzyskanie dłuższych liści wpłynęło zastosowanie Folium w porównaniu do KAR₁. Największą liczbą korzeni charakteryzowały się rośliny traktowane KAR₁. Kolejno wyższe wyniki w porównaniu do roślin kontrolnych uzyskano dla traktowań Folium, Goteo i nawożenia.

Tabela 91. Wpływ biostymulatorów, nawozu i KAR₁ na parametry biometryczne zaaklimatyzowanych roślin klonu hodowlanego 0004-04, po 7 tygodniach uprawy.

Traktowania	Masa roślin [g]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	3,85 a*	3,05 a	18,51 ab	7,71 a	8,43 a
Kristalon Zielony	6,78 d	4,43 c	19,69 ab	12,43 d	8,66 a
Goteo	4,99 c	3,10 a	18,75 ab	11,33 c	8,27 a
Folium	6,72 d	3,71 b	19,76 b	9,76 b	8,77 a
KAR ₁	4,56 b	3,14 a	17,41 a	14,62 e	8,05 a

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

U klonu 0004-05 (Tab. 92) największą masę miały rośliny nawożone Kristalonem, a najniższą rośliny kontrolne oraz traktowane Folium. Większą masę w porównaniu do roślin kontrolnych oraz traktowanych Folium uzyskały jednak rośliny po zastosowaniu Goteo oraz KAR₁. Więcej liści niż w pozostałych traktowaniach wytworzyły jedynie rośliny nawożone. Nawóz wpłynął także na zwiększenie długości liści w odniesieniu do roślin kontrolnych oraz tych traktowanych Folium czy KAR₁. Dodatkowo na długość liści wpłynęło zastosowanie Goteo względem kontroli oraz Folium u badanych roślin. W przypadku liczby korzeni, zastosowanie KAR₁ pozwoliło uzyskać większą ich liczbę w porównaniu do kontroli, Folium oraz nawozu. Zarówno nawóz, jak i Goteo wpłynęły na zwiększenie tego parametru względem roślin kontrolnych oraz traktowanych Folium. Nie wykazano różnic w długości korzeni.

Tabela 92. Wpływ biostymulatorów, nawozu i KAR₁ na parametry biometryczne zaaklimatyzowanych roślin klonu hodowlanego 0004-05, po 7 tygodniach uprawy.

Traktowania	Masa roślin [g]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	5,87 a*	3,14 a	18,20 a	10,38 a	9,04 a
Kristalon Zielony	9,53 c	3,90 b	22,93 c	13,62 b	9,06 a
Goteo	7,98 b	2,90 a	21,76 bc	14,10 bc	8,73 a
Folium	6,27 a	3,33 a	18,71 a	9,67 a	9,38 a
KAR ₁	7,38 b	3,29 a	19,29 ab	14,90 c	9,43 a

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

Wykazano wpływ badanych traktowań na oceniane parametry biometryczne klonu 0021-10 (Tab. 93). Traktowanie roślin nawozem oraz obydwoma biostymulatorami wpłynęło na zwiększenie masy względem roślin kontrolnych oraz traktowanych KAR₁. Dodatkowo zaobserwowano zwiększenie masy roślin po zastosowaniu KAR₁ w porównaniu do masy roślin kontrolnych. Więcej liści w odniesieniu do roślin kontrolnych, traktowanych Goteo i KAR₁ zaobserwowano po zastosowaniu nawozu oraz Folium. Dłuższe liście niż w traktowaniu kontrolnym odnotowano u roślin nawożonych oraz stymulowanych obydwoma biopreparatami. Największą liczbę korzeni wytworzyły rośliny traktowane Goteo, następnie rośliny traktowane KAR₁, nawozem oraz Folium. Dłuższe korzenie względem roślin nawożonych oraz traktowanych Folium wytworzyły rośliny traktowane KAR₁.

Tabela 93. Wpływ biostymulatorów, nawozu i KAR₁ na parametry biometryczne zaaklimatyzowanych roślin klonu hodowlanego 0021-10, po 7 tygodniach uprawy.

Traktowania	Masa roślin [g]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	4,84 a*	2,57 a	24,06 a	10,86 a	7,67 ab
Kristalon Zielony	8,84 c	3,38 b	28,52 b	16,33 c	7,19 a
Goteo	8,34 c	2,81 a	27,91 b	22,52 e	7,92 ab
Folium	9,87 c	3,71 b	28,46 b	14,71 b	7,51 a
KAR ₁	6,56 b	2,71 a	25,66 ab	20,38 d	8,40 b

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

Wykazano wpływ badanych traktowań na wszystkie oceniane parametry biometryczne klonu 0023-11 (Tab. 94). Największą masę osiągnęły rośliny po zastosowaniu nawozu Kristalon. Także użycie Folium wpłynęło na zwiększenie masy względem roślin z pozostałych traktowań. KAR₁ natomiast zwiększyła masę roślin w porównaniu do roślin kontrolnych oraz traktowanych Goteo. Zastosowanie nawozu

oraz Folium zwiększyło liczbę liści w porównaniu do roślin kontrolnych oraz traktowanych Goteo i KAR₁. Ponadto te same traktowania zwiększyły ich długość względem kontroli oraz KAR₁. Najwięcej korzeni wytworzyły rośliny podlewane i opryskiwane KAR₁. Kolejno więcej korzeni niż rośliny kontrolne wytworzyły rośliny traktowane nawozem, Goteo i Folium. Dłuższe korzenie względem kontroli zaobserwowano tylko u roślin traktowanych KAR₁.

Tabela 94. Wpływ biostymulatorów, nawozu i KAR₁ na parametry biometryczne zaaklimatyzowanych roślin klonu hodowlanego 0023-11, po 7 tygodniach uprawy.

Traktowania	Masa roślin [g]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	3,85 a*	2,71 a	19,83 a	8,38 a	7,00 a
Kristalon Zielony	6,90 d	3,95 b	23,86 b	10,24 d	8,02 ab
Goteo	3,66 a	2,67 a	21,18 ab	9,52 c	7,25 a
Folium	6,08 c	3,52 b	23,01 b	8,81 b	8,09 ab
KAR ₁	4,34 b	2,95 a	19,80 a	10,90 e	8,67 b

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

W przypadku klonu 0062-10 (Tab. 95) zastosowanie KAR₁ wpłynęło na wzrost masy roślin względem kontroli oraz traktowania Folium. Także nawóz spowodował wzrost masy roślin w porównaniu do roślin kontrolnych. Rośliny traktowane KAR₁ charakteryzowały się największą liczbą korzeni. Ponadto traktowania: Goteo, Kristalon i Folium, zwiększyły kolejno liczbę korzeni względem kontroli. Nie wykazano różnic w liczbie i długości liści oraz długości korzeni.

Tabela 95. Wpływ biostymulatorów, nawozu i KAR₁ na parametry biometryczne zaaklimatyzowanych roślin klonu hodowlanego 0062-10, po 7 tygodniach uprawy.

Traktowania	Masa roślin [g]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	7,15 a*	3,71 a	23,76 a	16,95 a	6,72 a
Kristalon Zielony	8,52 bc	3,95 a	25,44 a	20,52 c	6,87 a
Goteo	8,00 abc	3,86 a	24,38 a	22,76 d	6,87 a
Folium	7,51 ab	3,56 a	24,48 a	19,57 b	6,64 a
KAR ₁	8,81 c	3,85 a	25,35 a	24,67 e	7,59 a

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

Dla klonu 0015-03 wykazano wpływ badanych traktowań na wszystkie oceniane parametry biometryczne, z wyjątkiem długości liści (Tab. 96). Najwyższą masę odnotowano u roślin nawożonych, a najniższą u roślin kontrolnych oraz traktowanych

Folium. Zastosowanie Goteo oraz KAR₁ wpłynęło na zwiększenie masy roślin względem roślin kontrolnych oraz traktowanych Folium. Więcej niż we wszystkich pozostałych traktowaniach i równocześnie najdłuższych liści zanotowano u roślin podlewanych i opryskiwanych nawozem. Dłuższe od kontroli były też liście traktowane Goteo. Największą liczbę korzeni wytworzyły rośliny podlewane i opryskiwane Goteo oraz KAR₁. Zastosowanie nawozu spowodowało wzrost liczby korzeni w porównaniu do roślin kontrolnych i traktowanych Folium.

Tabela 96. Wpływ biostymulatorów, nawozu i KAR₁ na parametry biometryczne zaaklimatyzowanych roślin klonu hodowlanego 0015-03, po 7 tygodniach uprawy.

Traktowania	Masa roślin [g]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	7,71 a*	4,17 a	16,73 a	12,54 a	8,21 a
Kristalon Zielony	11,37 c	4,93 b	21,46 c	15,78 b	8,23 a
Goteo	9,82 b	3,93 a	18,29 b	17,11 c	7,90 a
Folium	8,01 a	4,26 a	17,24 a	11,83 a	8,55 a
KAR ₁	9,22 b	4,22 a	17,82 ab	17,06 c	8,60 a

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

W przypadku klonu 0017-01 zaobserwowano wpływ badanych traktowań na wszystkie oceniane parametry biometryczne, z wyjątkiem długości liści (Tab. 97). Najcięższe rośliny uzyskano w przypadku traktowania Kristalonem. Zwiększenie masy roślin, w porównaniu do roślin kontrolnych oraz traktowanych Folium, odnotowano także po zastosowaniu Goteo oraz KAR₁. Większą liczbą liści charakteryzowały się rośliny traktowane nawozem oraz Folium w odniesieniu do pozostałych traktowań. Nawóz spowodował również wzrost długości liści względem roślin kontrolnych oraz traktowanych Folium i KAR₁. Najwięcej korzeni wytworzyły rośliny podlewane i opryskiwane KAR₁, najmniej rośliny kontrolne i traktowane Folium. Użycie Goteo zwiększyło liczbę korzeni względem pozostałych traktowań.

Tabela 97. Wpływ biostymulatorów, nawozu i KAR₁, na parametry biometryczne zaaklimatyzowanych roślin klonu hodowlanego 0017-01, po 7 tygodniach uprawy.

Traktowania	Masa roślin [g]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	4,08 a*	2,83 a	16,11 a	7,17 a	6,55 a
Kristalon Zielony	7,74 c	3,59 b	18,84 b	10,41 b	6,57 a
Goteo	5,39 b	2,59 a	17,97 ab	11,89 c	6,24 a
Folium	4,48 a	3,62 b	16,62 a	7,46 a	6,89 a
KAR ₁	5,59 b	2,98 a	16,20 a	13,69 d	6,94 a

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

Wykazano wpływ badanych substancji na wszystkie oceniane cechy klonu 0075-25 z wyjątkiem długości korzeni (Tab. 98). Największą masę roślin zanotowano po zastosowaniu nawozu Kristalon, a najmniejszą u roślin kontrolnych i traktowanych Folium. Również rośliny stymulowane Goteo posiadały większą masę niż rośliny kontrolne oraz podlewane i opryskiwane Folium oraz KAR₁. Więcej liści wytworzyły rośliny traktowane nawozem oraz Folium niż rośliny kontrolne oraz traktowane Goteo i KAR₁. Dłuższe liście w porównaniu do kontroli zaobserwowano u roślin nawożonych oraz roślin traktowanych Folium i KAR₁. Dodatkowo na wzrost tego parametru wpłynęło użycie Goteo, ponieważ względem roślin kontrolnych oraz traktowanych Folium, rośliny charakteryzowały się dłuższymi liśćmi. Najwięcej korzeni wytworzyły rośliny traktowane KAR₁. Dodatkowo zaobserwowano, iż nawóz oraz Goteo zwiększyły wartość tego parametru u roślin kontrolnych, ale także traktowanych Folium.

Tabela 98. Wpływ biostymulatorów, nawozu i KAR₁, na parametry biometryczne zaaklimatyzowanych roślin klonu hodowlanego 0075-25, po 7 tygodniach uprawy.

Traktowania	Masa roślin [g]	Liczba liści [szt.]	Długość liści [cm]	Liczba korzeni [szt.]	Długość korzeni [cm]
Kontrola	8,92 a*	4,22 a	22,07 a	12,69 a	7,18 a
Kristalon Zielony	13,78 d	4,98 b	26,80 c	15,93 b	7,20 a
Goteo	12,03 c	3,98 a	25,63 bc	15,41 b	6,87 a
Folium	9,32 a	4,71 b	22,58 a	11,98 a	7,52 a
KAR ₁	10,43 b	4,37 a	23,16 ab	17,21 c	7,57 a

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie cechy.

5.9. Analizy zawartości skrobi i fruktanów

5.9.1. Wpływ traktowania nawozem, biostymulatorami oraz KAR₁ na zawartość skrobi i fruktanów w cebulach *Hippeastrum* po 7 tygodniach uprawy

Poniżej w doświadczeniu oceniony został wpływ nawozu Kristalon Zielony (1 g·l⁻¹), biostymulatorów Goteo (0,2%) i Folium (0,5%) oraz KAR₁ (10⁻⁹ M) na zawartości skrobi i fruktanów w cebulach *Hippeastrum* po zakończonym cyklu uprawowym. Stężenie cukrów zapasowych ma kluczowe znaczenie dla przechowywania cebul. Większa koncentracja cukrów przyczynia się do poprawy zdolności przechowalniczych organów spichrzowych oraz jakości kwiatów.

Analiza zawartości skrobi w cebulach średnio z kombinacji doświadczalnych dla badanych genotypów: klonu 6 *H. ×chmielii*, odmiany 'Gervase' oraz ich trzech klonów potomnych 0033-10, 0037-13, 0040-31 (Tab. 99) wykazała największą jej zawartość u klonu 0037-13. Kolejno niższą koncentrację odnotowano u odmiany 'Gervase', klonu 0040-31 oraz formy matecznej, czyli klonu 6, a najniższą u klonu 0033-10. W przypadku fruktanów najwyższą koncentrację tego cukru odnotowano w cebulach klonu 0040-31. Niższe zawartości odnotowano u klonu 0037-13, formy matecznej oraz klonu 0033-10. Forma ojcowska ('Gervase') posiadała najniższą zawartość fruktanów.

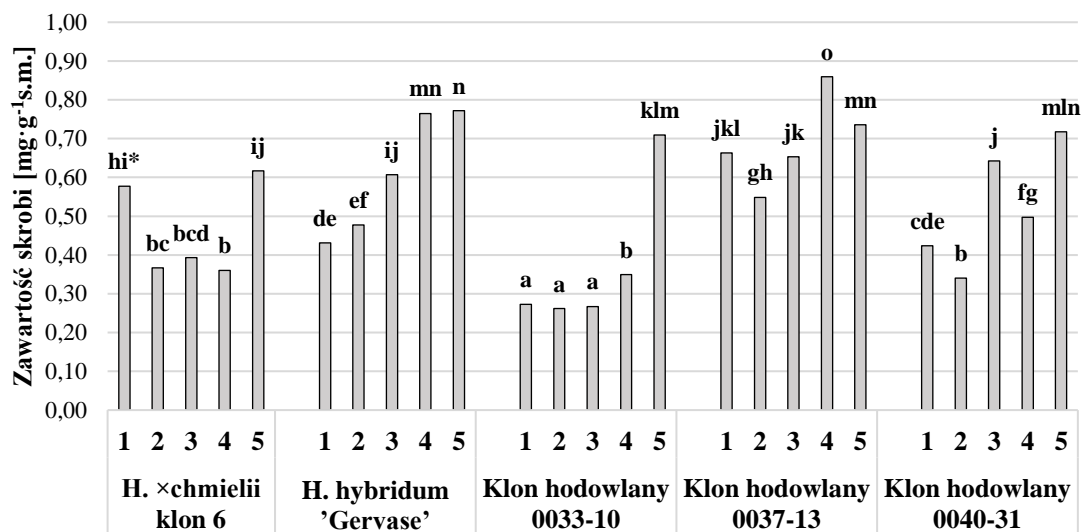
Cebule traktowane KAR₁ posiadały średnio dla badanych genotypów największą zawartość skrobi i fruktanów. Kolejno niższe wyniki dla skrobi uzyskano po zastosowaniu biostymulatorów Folium i Goteo, a następnie w kombinacji kontrolnej. Najniższe stężenie skrobi odnotowano w cebulach roślin nawożonych Kristalonem, niższe nawet niż w kontroli. W przypadku fruktanów kolejno wyższe ich zawartości - po kombinacji z KAR₁ - dotyczyły traktowania kontrolnego, biostymulatorem Goteo, nawozem, a najniższe po zastosowaniu Folium (Tab. 99).

Tabela 99. Zawartość skrobi i fruktanów ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{s.m.}$) w cebulach klonu 6, odmiany 'Gervase' i ich klonów potomnych – średnia dla genotypów i traktowań doświadczalnych.

Genotyp	<i>H.</i> <i>×chmielii</i> klon 6	<i>H.</i> <i>hybridum</i> 'Gervase'	Klon hodowlany 0033-10	Klon hodowlany 0037-13	Klon hodowlany 0040-31
Skrobia	0,46 b*	0,61 d	0,37 a	0,69 e	0,53 c
Fruktany	607,46 c	388,93 a	593,17 b	633,05 d	639,24 e
Traktowanie	Kontrola	Kristalon Zielony	Goteo	Folium	KAR ₁
Skrobia	0,47 b	0,40 a	0,51 c	0,56 d	0,71 e
Fruktany	611,35 d	516,39 b	598,25 c	503,05 a	632,81 e

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie genotypów i traktowań doświadczalnych.

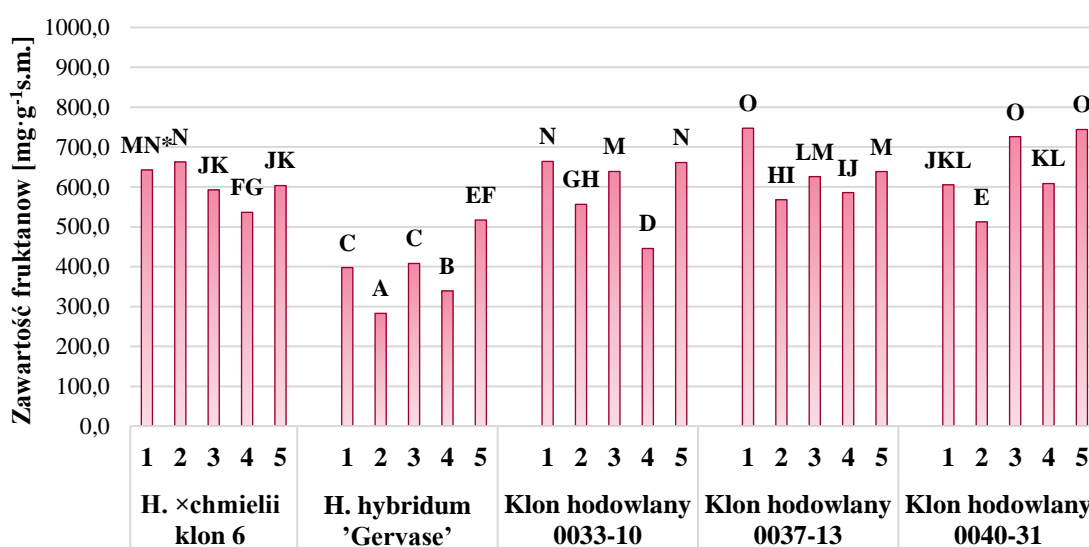
Analiza wyników dla klonu 6, odmiany 'Gervase' oraz trzech klonów będących wynikiem krzyżowania tych form rodzicielskich, wykazała wpływ badanych substancji podczas 7 tygodniowej uprawy na zawartości skrobi (Wykres 8). Najwyższą jej zawartość odnotowano w cebulach klonu 0037-13 traktowanych Folium, a najmniejszą w cebulach kontrolnych klonu 0033-10 oraz traktowanych Kristalonem i Goteo.



*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$.

Wykres 8. Wpływ traktowania nawozem, biostymulatorami oraz KAR₁ na zawartość skrobi w cebulach klonu 6 *H. ×chmielii* i *H. hybridum* 'Gervase' oraz klonów hodowlanych 0033-10, 0037-13, 0040-31 (1-Kontrola (woda destylowana); 2-0,1% Kristalon Zielony; 3-2 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ Goëmar Goteo; 4-5 $\text{ml}\cdot\text{l}^{-1}$ Agro-Sorb[®] Folium; 5-KAR₁ 10⁻⁹ M)

Analiza wyników dla klonu 6, odmiany 'Gervase' oraz trzech klonów będących wynikiem krzyżowania tych form rodzicielskich, wykazała wpływ badanych substancji także na zawartości fruktanów (Wykres 9). Najwyższą ich zawartość zanotowano dla klonów: 0037-13 w cebulach roślin kontrolnych oraz 0040-31 traktowanych Goteo i KAR₁. Następnie dla klonu 6 w cebulach traktowanych Kristalonem oraz klonu 0033-10 w cebulach kontrolnych i traktowanych KAR₁, jednak uzyskane wyniki nie różniły się statystycznie od wyniku uzyskanego dla cebul kontrolnych klonu 6. Najniższą zawartość fruktanów odnotowano w przypadku cebul odmiany 'Gervase' uprawianych z dodatkiem Kristalonu Zielonego.



*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$.

Wykres 9. Wpływ traktowania nawozem, biostymulatorami oraz KAR₁ na zawartość fruktanów w cebulach klonu 6 *H. ×chmielii* i *H. hybridum* 'Gervase' oraz klonów hodowlanych 0033-10, 0037-13, 0040-31 (1-Kontrola (woda destylowana); 2-0,1% Kristalon Zielony; 3-2 mg·l⁻¹ Goëmar Goteo; 4-5 ml·l⁻¹ Agro-Sorb[®] Folium; 5-KAR₁ 10⁻⁹ M)

Zawartości skrobi w cebulach średnio z kombinacji doświadczalnych dla klonu 6 *H. ×chmielii*, odmiany 'Royal Velvet' oraz ich klonów potomnych (Tab. 100) była największa u klonu 0072-17. Kolejno niższe wartości odnotowano u klonu 0050-16, formy ojcowskiej oraz klonu 0050-15. Klon 6 charakteryzował się najniższą zawartością skrobi w cebulach. W przypadku fruktanów średnio najwyższą koncentrację również posiadał klon 0075-17. Klon 0050-15, 0050-16 oraz klon 6 *H. ×chmielii* posiadały wyższą zawartość tego cukru niż odmiana 'Royal Velvet'.

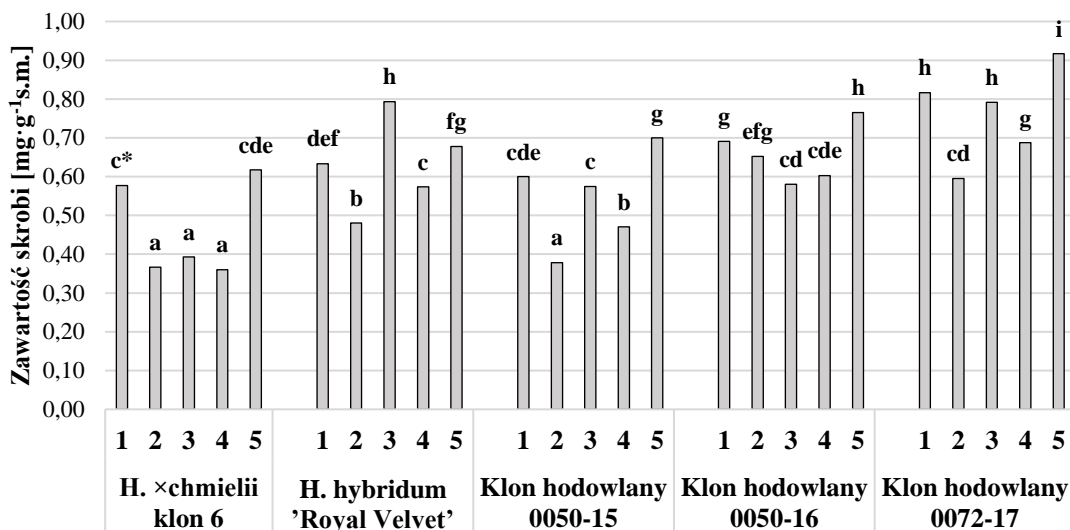
Analiza wszystkich badanych genotypów wykazała największy wpływ traktowania KAR₁ na zawartość skrobi w cebulach (Tab. 100). Kolejne zawartości skrobi odnotowano w cebulach roślin kontrolnych, traktowanych Goteo, traktowanych Folium, a najmniejszą w cebulach nawożonych Kristalonem. Dla fruktanów najwyższą zawartość odnotowano u roślin traktowanych Goteo, a kolejną wartość po zastosowaniu KAR₁. Niższe wartości akumulacji fruktanów niż w kontroli zidentyfikowano w cebulach roślin podlewanych i opryskiwanych nawozem Kristalon oraz biostymulatorem Folium.

Tabela 100. Zawartość skrobi i fruktanów (mg·g⁻¹s.m.) w cebulach klonu 6, odmiany 'Royal Velvet' i ich klonów potomnych – średnia dla genotypów i traktowań doświadczalnych.

Genotyp	<i>H.</i>	<i>H.</i>	Klon	Klon	Klon
	<i>×chmielii</i> klon 6	<i>hybridum</i> 'Royal Velvet'	hodowlany 0050-15	hodowlany 0050-16	hodowlany 0072-17
Skrobia	0,46 a*	0,63 c	0,55 b	0,66 d	0,76 e
Fruktany	607,46 b	598,66 a	737,77 d	631,37 c	779,09 e
Traktowanie	Kontrola	Kristalon Zielony	Goteo	Folium	KAR ₁
Skrobia	0,66 d	0,49 a	0,63 c	0,54 b	0,74 e
Fruktany	689,16 c	621,29 b	722,25 e	605,98 a	715,68 d

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie genotypów i traktowań doświadczalnych.

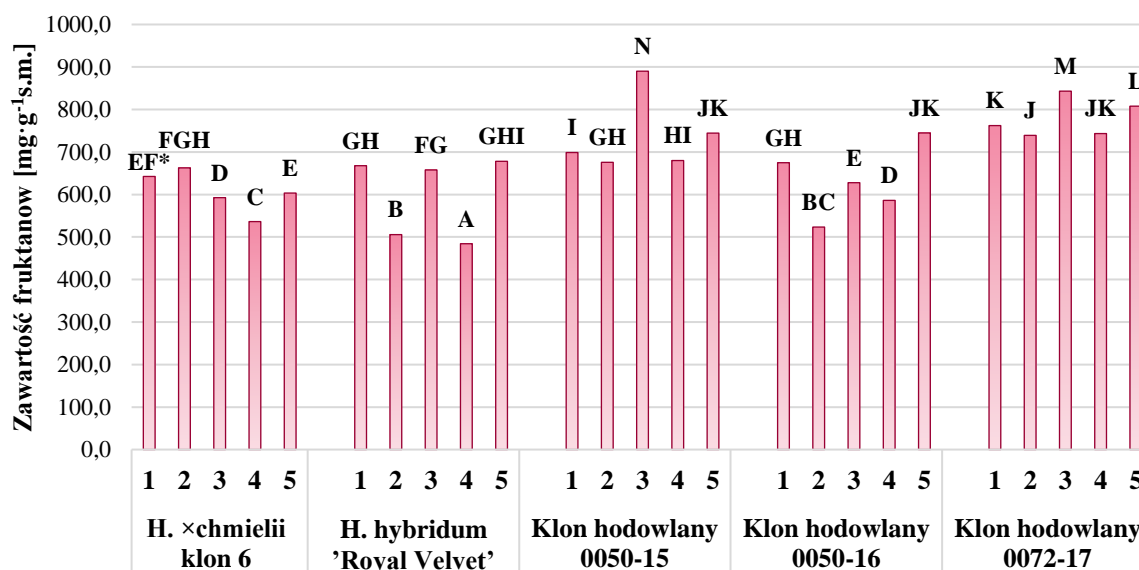
Uzyskane wyniki dla klonu 6, odmiany 'Royal Velvet' oraz trzech klonów powstałych ze skrzyżowania tych form, wykazały wpływ badanych substancji na zawartości skrobi po 7 tygodniach uprawy (Wykres 10). Najwyższą zawartość skrobi odnotowano w cebulach klonu 0072-17 traktowanych KAR₁. Kolejno wysokie wyniki uzyskano dla odmiany 'Royal Velvet' z traktowania cebul Goteo, klonu 0050-16 z traktowania KAR₁ oraz klonu 0072-17 w cebulach kontrolnych i traktowanych Goteo. Najniższą zaś wartość tego cukru odnotowano w cebulach klonu 6 z traktowań Kristalonem Zielonym, Goteo oraz Folium, a także w cebulach klonu 0050-15 traktowanych Kristalonem.



*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$.

Wykres 10. Wpływ traktowania nawozem, biostymulatorami oraz KAR_1 na zawartość skrobi w cebulach klonu 6 *H. xchmielii* i *H. hybridum* 'Royal Velvet' oraz klonów hodowlanych 0050-15, 0050-16, 0072-17 (1-Kontrola (woda destylowana); 2-0,1% Kristalon Zielony; 3-2 mg·l⁻¹ Goëmar Goteo; 4-5 ml·l⁻¹ Agro-Sorb[®] Folium; 5- KAR_1 10⁻⁹ M)

Analiza wyników klonu 6, odmiany 'Royal Velvet' oraz trzech klonów powstałych ze skrzyżowania tych form, wykazała wpływ badanych substancji na zawartości fruktanów (Wykres 11). Najwyższą zawartość fruktanów zaobserwowano w cebulach klonu 0050-15 traktowanych Goteo, kolejno niższe wartości odnotowano w cebulach klonu 0072-17 podlewanych tym samym biostymulatorem, a następnie w cebulach uprawianych z dodatkiem KAR_1 . Najniższą zawartość fruktanów odnotowano w cebulach odmiany 'Royal Velvet' uprawianych z dodatkiem biostymulatora Folium.



*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$.

Wykres 11. Wpływ traktowania nawozem, biostymulatorami oraz KAR_1 na zawartość fruktanów w cebulach klonu 6 *H. ×chmielii* i *H. hybridum* 'Royal Velvet' oraz klonów hodowlanych 0050-15, 0050-16, 0072-17 (1-Kontrola (woda destylowana); 2-0,1% Kristalon Zielony; 3-2 mg·l⁻¹ Goëmar Goteo; 4-5 ml·l⁻¹ Agro-Sorb® Folium; 5- KAR_1 10⁻⁹ M)

Analiza zawartości skrobi i fruktanów (średnio dla traktowań) w cebulach klonu 18, odmiany 'Gervase' oraz ich trzech genotypów potomnych (Tab. 101) wykazała największą ich zawartość w cebulach klonu 0004-05. Niższe zawartości tego cukru odnotowano u klonu 0004-04, odmiany 'Gervase' i klonu 0003-13. Najniższą zawartość skrobi wykryto w cebulach roślin kontrolnych. W przypadku fruktanów klon 18 posiadał wyższą zawartość niż pozostałe genotypy. Niższe zawartości odnotowano kolejno u klonów 0004-04, 0003-13 i odmiany 'Gervase'.

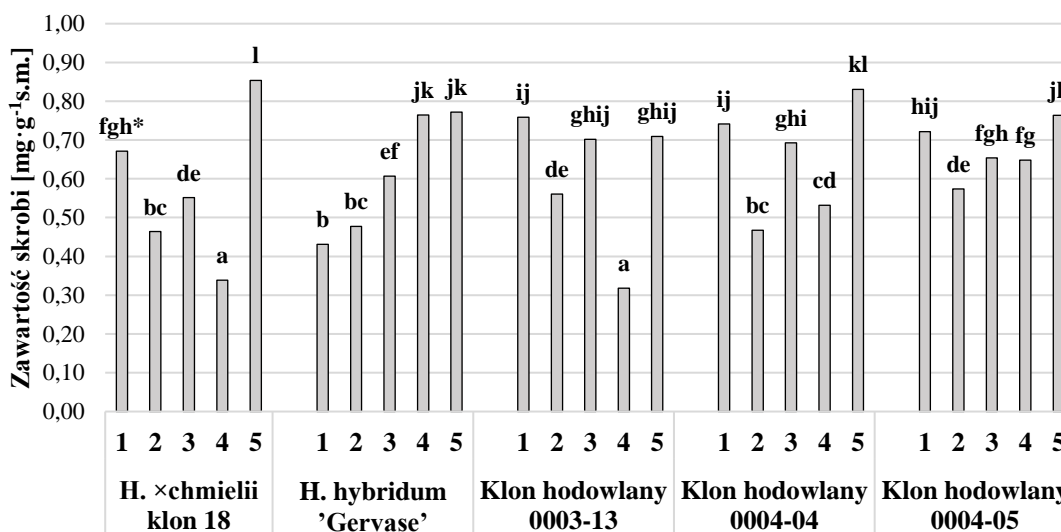
Średnio dla genotypów, na największą akumulację skrobi i fruktanów w cebulach wpłynęło zastosowanie KAR_1 (Tab. 101). Następną w kolejności zawartość skrobi odnotowano u roślin kontrolnych, a fruktanów w cebulach roślin kontrolnych oraz traktowanych Goteo.

Tabela 101. Zawartość skrobi i fruktanów ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{s.m.}$) w cebulach klonu 18, odmiany 'Gervase' i ich klonów potomnych – średnia dla genotypów i traktowań doświadczalnych.

Genotyp	<i>H.</i> <i>×chmielii</i> klon 18	<i>H.</i> <i>hybridum</i> 'Gervase'	Klon hodowlany 0003-13	Klon hodowlany 0004-04	Klon hodowlany 0004-05
Skrobia	0,58 a*	0,61 b	0,61 b	0,65 c	0,67 d
Fruktany	649,56 d	388,93 a	473,22 b	597,76 c	685,71 e
Traktowanie	Kontrola	Kristalon Zielony	Goteo	Folium	KAR ₁
Skrobia	0,67 c	0,51 a	0,64 b	0,52 a	0,79 d
Fruktany	584,40 c	489,43 b	585,56 c	474,96 a	660,83 d

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie genotypów i traktowań doświadczalnych.

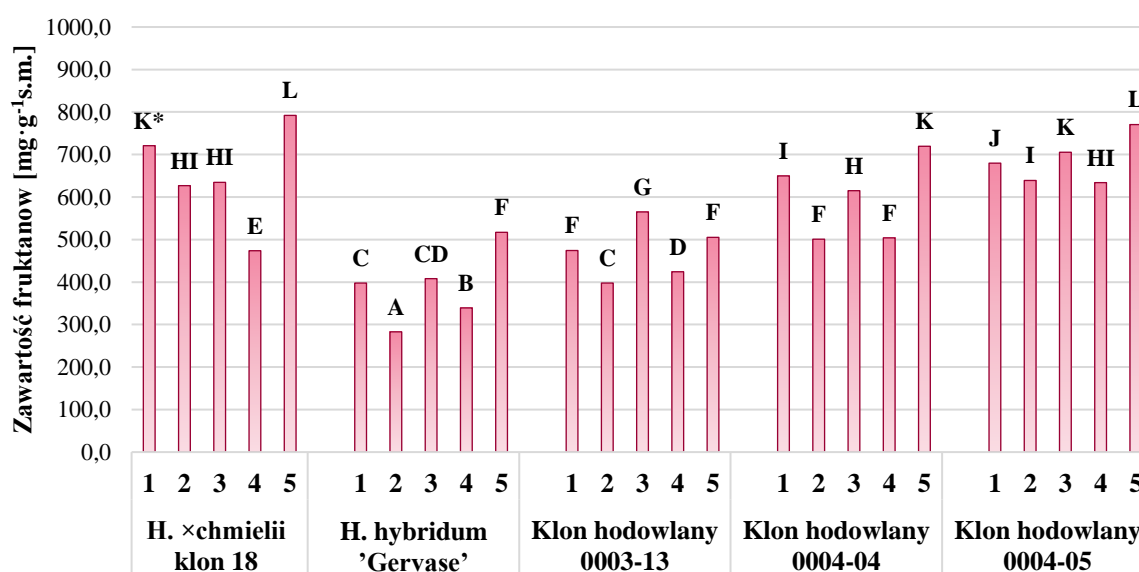
Analiza wyników zawartości skrobi w roślinach klonu 18, odmiany 'Gervase' oraz trzech klonów powstałych ze skrzyżowania tych form rodzicielskich, wykazała wpływ badanych traktowań na zawartość tego cukru (Wykres 12). Najwyższą zawartość odnotowano w cebulach klonu 18 uprawianych z dodatkiem KAR₁, ale wynik ten nie był różny od uzyskanego dla cebul klonu 0004-04 także traktowanych KAR₁. Najniższą zawartości skrobi odnotowano w cebulach klonów 18 i 0003-13 uprawianych z dodatkiem Folium.



*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$.

Wykres 12. Wpływ traktowania nawozem, biostymulatorami oraz KAR₁ na zawartość skrobi w cebulach klonu 18 *H. ×chmielii* i *H. hybridum* 'Gervase' oraz klonów hodowlanych 0003-13, 0004-04, 0004-05 (1-Kontrola (woda destylowana); 2-0,1% Kristalon Zielony; 3-2 mg·l⁻¹ Goëmar Goteo; 4-5 ml·l⁻¹ Agro-Sorb® Folium; 5-KAR₁ 10⁻⁹ M)

Analiza wyników dla klonu 18, odmiany 'Gervase' oraz trzech klonów powstałych ze skrzyżowania tych form rodzicielskich, wykazała wpływ traktowań na zawartość fruktanów (Wykres 13). Najwyższą zawartość fruktanów posiadały cebule klonu 18 oraz klonu 0004-05 traktowanych KAR₁. Kolejno wysokie wartości uzyskały cebule kontrolne klonu 18, klonu 0004-04 traktowane KAR₁ oraz klonu 0004-05 traktowane Goteo. Najniższą zaś zawartość fruktanów odnotowano w cebulach odmiany 'Gervase' podlewanych Kristalonem.



*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$.

Wykres 13. Wpływ traktowania nawozem, biostymulatorami oraz KAR₁ na zawartość fruktanów w cebulach klonu 18 *H. ×chmielii* i *H. hybridum* 'Gervase' oraz klonów hodowlanych 0003-13, 0004-04, 0004-05 (1-Kontrola (woda destylowana); 2-0,1% Kristalon Zielony; 3-2 mg·l⁻¹ Goëmar Goteo; 4-5 ml·l⁻¹ Agro-Sorb[®] Folium; 5-KAR₁ 10⁻⁹ M)

Analiza zawartości skrobi w cebulach (średnio dla traktowań) klonu 18 *H. ×chmielii*, odmiany 'Rio Negro' oraz klonów potomnych (Tab. 102) wykazała największą zawartość u formy ojcowskiej – 'Rio Negro'. Kolejno wyższą zawartość odnotowano u klonu 0023-11 i 0062-10 względem klonu 18 oraz 0021-10. Najwięcej fruktanów zakumulował klon 18 *H. ×chmielii*. Niższe zawartości odnotowano u klonów 0062-10, 0021-10 i 0023-11. Forma ojcowska posiadała średnio najniższą zawartość tego cukru w swoich cebulach.

Cebule traktowane KAR₁ posiadały średnio dla badanych genotypów największą zawartość skrobi i fruktanów. Kolejno niższe wyniki uzyskano po zastosowaniu

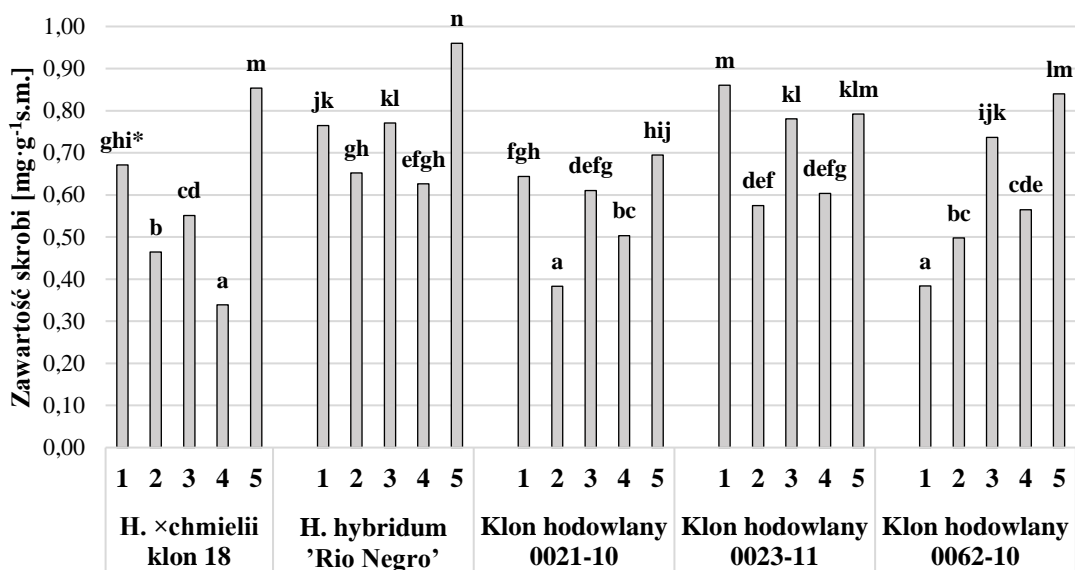
biostymulatorów Goteo. Niższe zawartości obu cukrów od zawartości uzyskanych w cebulach roślin kontrolnych uzyskano po zastosowaniu Kristalonu oraz Folium (Tab. 102).

Tabela 102. Zawartość skrobi i fruktanów ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\text{s.m.}$) w cebulach klonu 18, odmiany 'Rio Negro' i ich klonów potomnych – średnia dla genotypów i traktowań doświadczalnych.

Genotyp	<i>H.</i> <i>×chmielii</i> klon 18	<i>H.</i> <i>hybridum</i> 'Rio Negro'	Klon hodowlany 0021-10	Klon hodowlany 0023-11	Klon hodowlany 0062-10
Skrobia	0,58 a*	0,75 d	0,57 a	0,72 c	0,60 b
Fruktany	649,56 e	299,31 a	529,14 c	523,34 b	575,70 d
Traktowanie	Kontrola	Kristalon Zielony	Goteo	Folium	KAR ₁
Skrobia	0,66 b	0,51 a	0,69 c	0,53 a	0,83 d
Fruktany	550,51 c	439,40 b	557,98 d	387,53 a	641,63 e

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie genotypów i traktowań doświadczalnych.

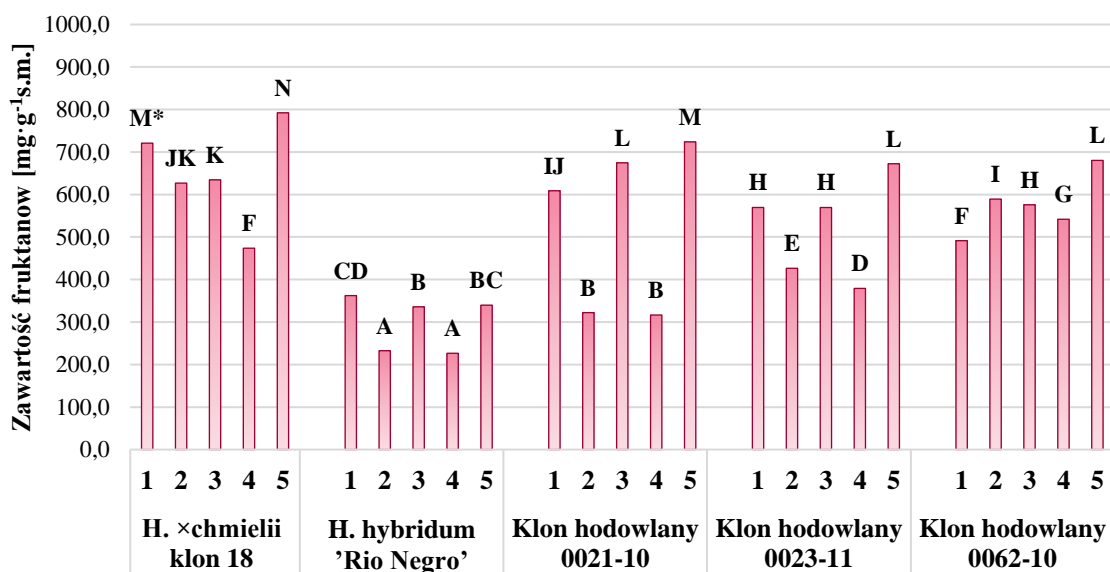
Analiza wyników dla klonu 18, odmiany 'Rio Negro' oraz trzech klonów będących wynikiem krzyżowania tych form rodzicielskich, wykazała wpływ badanych substancji na zawartości skrobi (Wykres 14). Najwyższą zawartość skrobi odnotowano w cebulach odmiany 'Rio Negro' traktowanych KAR₁. Kolejne wysokie zawartości odnotowano w cebulach klonu 18 z traktowania KAR₁ i klonu 0023-11 z kontroli, ale nie różniły się one istotnie od zawartości w cebulach 0023-11 i 0062-10 traktowanych KAR₁. Najmniejszą zaś zawartość skrobi odnotowano w cebulach klonu 18 traktowanych Folium, klonu 0021-10 traktowanych Kristalonem oraz w cebulach kontrolnych klonu 0062-10.



*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$.

Wykres 14. Wpływ traktowania nawozem, biostymulatorami oraz KAR_1 na zawartość skrobi w cebulach klonu 18 *H. ×chmielii* i *H. hybridum* 'Rio Negro' oraz klonów hodowlanych 0021-10, 0023-11, 0062-10 (1-Kontrola (woda destylowana); 2-0,1% Kristalon Zielony; 3-2 mg·l⁻¹ Goëmar Goteo; 4-5 ml·l⁻¹ Agro-Sorb® Folium; 5- KAR_1 10⁻⁹ M)

Analiza wyników dla klonu 18, odmiany 'Rio Negro' oraz trzech klonów będących wynikiem krzyżowania tych form rodzicielskich, wykazała wpływ badanych substancji na zawartości fruktanów (Wykres 15). Najwyższą zawartość fruktanów zanotowano u cebul klonu 18 traktowanych KAR_1 . Kolejno wysokie wyniki uzyskano w cebulach kontrolnych klonu 18 oraz klonu 0021-10 traktowanych KAR_1 , a następnie w cebulach klonu 0021-10 traktowanych Goteo i roślinach klonów 0023-11 i 0062-10 traktowanych KAR_1 . Najniższą zawartość fruktanów odnotowano w przypadku cebul odmiany 'Rio Negro' traktowanych Kristalonem Zielonym oraz Folium.



*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$.

Wykres 15. Wpływ traktowania nawozem, biostymulatorami oraz KAR₁ na zawartość fruktanów w cebulach klonu 18 *H. ×chmielii* i *H. hybridum* 'Rio Negro' oraz klonów hodowlanych 0021-10, 0023-11, 0062-10 (1-Kontrola (woda destylowana); 2-0,1% Kristalon Zielony; 3-2 mg·l⁻¹ Goëmar Goteo; 4-5 ml·l⁻¹ Agro-Sorb[®] Folium; 5-KAR₁ 10⁻⁹ M)

Analiza zawartości skrobi w cebulach (średnio z traktowań) klonu 18 *H. ×chmielii*, odmiany 'Royal Velvet' oraz trzech ich klonów potomnych (Tab. 103) wykazała największą jej zawartość u klonu 0015-03. Niższe wartości odnotowano u formy ojcowskiej 'Royal Velvet' i klonu 0017-01. Niższą zawartość od klonu 18 zanotowano tylko u klonu 0075-25. W przypadku fruktanów średnio najwyższą jego zawartość posiadał klon 0017-01. Kolejno niższe zawartości wykazały: klon 0015-03, forma mateczna, klon 0075-25 i odmiana 'Royal Velvet'.

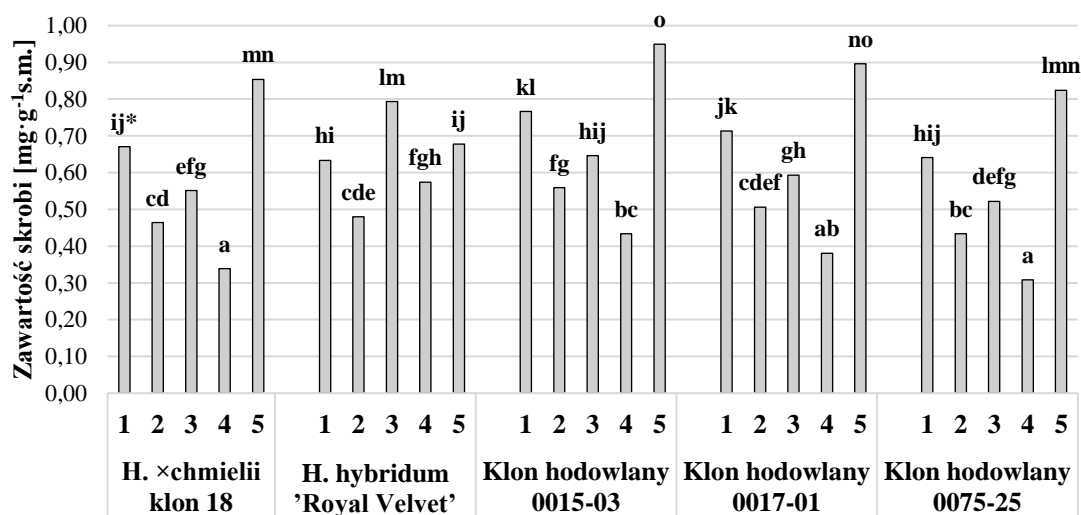
Największy wpływ traktowania na zawartość skrobi i fruktanów w cebulach wszystkich badanych genotypów wykazała KAR₁. Kolejno niższe zawartości obu tych cukrów odnotowano u roślin kontrolnych, następnie u traktowanych biostymulatorem Goteo i nawozem Kristalon Zielony. Najniższe zawartości skrobi i fruktanów zanotowano po zastosowaniu biostymulatora Folium (Tab. 103).

Tabela 103. Zawartość skrobi i fruktanów ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{s.m.}$) w cebulach klonu 18, odmiany 'Royal Velvet' i ich klonów potomnych - średnia dla genotypów i traktowań doświadczalnych.

Genotyp	<i>H.</i> <i>×chmielii</i> klon 18	<i>H.</i> <i>hybridum</i> 'Royal Velvet'	Klon hodowlany 0015-03	Klon hodowlany 0017-01	Klon hodowlany 0075-25
Skrobia	0,58 b*	0,63 c	0,67 d	0,62 c	0,55 a
Fruktany	649,56 c	598,66 a	724,96 d	786,70 e	617,20 b
Traktowanie	Kontrola	Kristalon Zielony	Goteo	Folium	KAR ₁
Skrobia	0,68 d	0,49 b	0,62 c	0,41 a	0,84 e
Fruktany	769,43 d	642,65 b	679,09 c	471,57 a	814,33 e

*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$; średnie porównywane w obrębie genotypów i traktowań doświadczalnych.

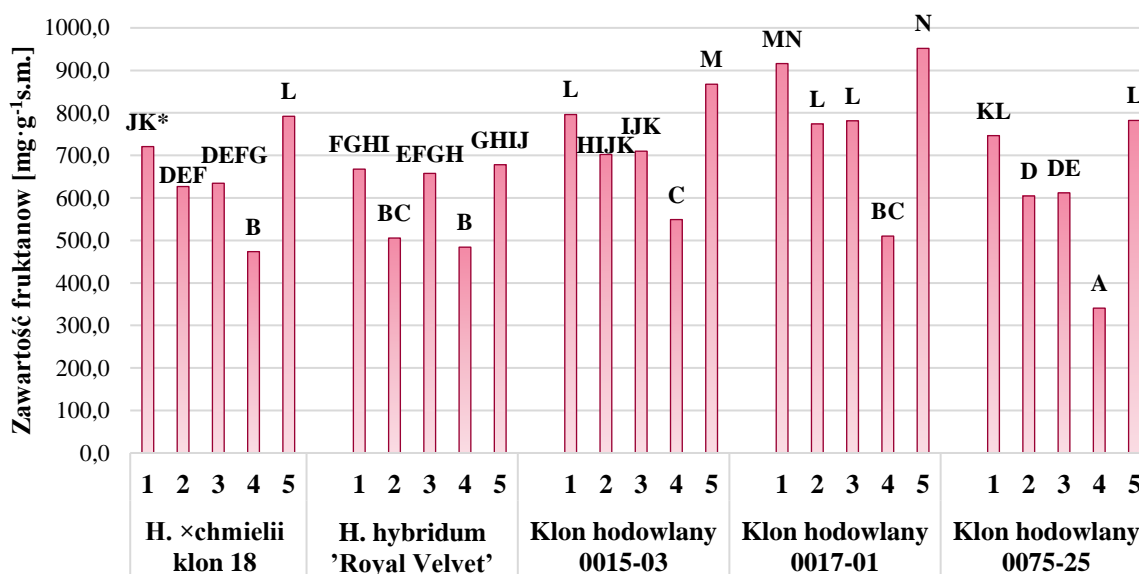
Analiza wyników dla klonu 18, odmiany 'Royal Velvet' oraz trzech klonów pochodzących ze skrzyżowania tych form rodzicielskich, wykazała wpływ badanych substancji na zawartości skrobi w cebulach po 7 tygodniowej uprawie (Wykres 16). Najwyższą zawartość skrobi odnotowano w cebulach klonu 0015-03 traktowanych KAR₁, jednak wartość ta nie różniła się statystycznie od wartości uzyskanej w cebulach klonu 0017-01 dla tego samego traktowania. Najniższą zawartość skrobi uzyskano w cebulach klonu 18 oraz klonu 0075-25 traktowanych Folium. Podobną zawartość odnotowano w cebulach klonu 0017-01 również traktowanych biostymulatorem Folium.



*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$.

Wykres 16. Wpływ traktowania nawozem, biostymulatorami oraz KAR₁ na zawartość skrobi w cebulach klonu 18 *H. ×chmielii* i *H. hybridum* 'Royal Velvet' oraz klonów hodowlanych 0015-03, 0017-01, 0075-25 (1-Kontrola (woda destylowana); 2-0,1% Kristalon Zielony; 3-2 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ Goëmar Goteo; 4-5 $\text{ml}\cdot\text{l}^{-1}$ Agro-Sorb[®] Folium; 5-KAR₁ 10^{-9} M)

Analiza wyników klonu 18, odmiany 'Royal Velvet' oraz trzech klonów pochodzących ze skrzyżowania tych form rodzicielskich, wykazała wpływ badanych substancji na zawartości fruktanów w cebulach (Wykres 17). Najwyższą zawartość fruktanów odnotowano w cebulach klonu 0017-01 traktowanych KAR₁, jednak wynik ten nie różnił się statystycznie od uzyskanego dla cebul roślin kontrolnych. Kolejne wysokie zawartości odnotowano w cebulach klonu 0015-03 traktowanych KAR₁, a następnie w cebulach klonu 18 i klonu 0075-25 traktowanych także KAR₁ oraz klonów 0015-03 z traktowania kontrolnego i 0017-01 z traktowania nawozem oraz Goteo. Najniższą zawartość fruktanów zanotowano w cebulach klonu 0075-25 traktowanych Folium. W cebulach wszystkich pozostałych genotypów traktowanych Folium odnotowano także jedne z najniższych zawartości fruktanów.



*Wartości oznaczone takimi samymi literami nie różnią się między sobą dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$.

Wykres 17. Wpływ traktowania nawozem, biostymulatorami oraz KAR₁ na zawartość fruktanów w cebulach klonu 18 *H. ×chmielii* i *H. hybridum* 'Royal Velvet' oraz klonów hodowlanych 0015-03, 0017-01, 0075-25 (1-Kontrola (woda destylowana); 2-0,1% Kristalon Zielony; 3-2 mg·l⁻¹ Goëmar Goteo; 4-5 ml·l⁻¹ Agro-Sorb[®] Folium; 5-KAR₁ 10⁻⁹ M)

6. Dyskusja

Liczne odmiany i gatunki *Hippeastrum* stanowią szeroką pulę genetyczną, która pozwala na uzyskiwanie kolejnych nowych form, różnorodnych pod względem barwy i kształtu okwiatu, plenności oraz pokroju roślin. Od dawna prowadzona jest hodowla ukierunkowana na te cechy. Ponadto zaczęto zwracać uwagę na odporność nowych mieszańców na choroby i szkodniki już na etapie siewek, aby wybrać najlepsze genotypy (Marasek-Ciolakowska i in. 2021).

Jednym z celów pracy była ocena fenotypowa nowych klonów hodowlanych uzyskanych ze skrzyżowań dwóch genotypów *H. ×chmielii* z odmianami *H. hybridum* w kierunku wytypowania tych wartościowych, łączących cechy form wyjściowych, a zarazem wyróżniających się na ich tle. W przyszłości, po intensywnym rozmnożeniu wegetatywnym będą mogły stać się nowymi odmianami pochodzącymi od mieszańca *H. ×chmielii*, który został wyhodowany 30 lat temu w Szkole Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie przez Profesora Henryka Chmiela (Chmiel i Mynett 1997). Nowy genotyp, by został uznany za nową odmianę musi spełniać warunki odrębności, wyrównania i trwałości (OWT) cech. Dlatego dla wielu roślin, w tym dla *Hippeastrum*, Międzynarodowa Unia Ochrony Nowych Odmian Roślin (ang. International Union for the Protection of New Varieties of Plants, UPOV) opracowuje szczegółowe deskrytory cech morfologicznych. Deskrytor UPOV dla *Hippeastrum/Amaryllis* został wykorzystany w badaniach własnych do opisu 7 wybranych najważniejszych cech roślin z wszystkich 22, które zawiera deskrytor dla kwiatów pojedynczych (UPOV 2001).

Okazałe kwiaty *hippeastrum* są jednym z ich najważniejszych atrybutów dekoracyjności, a ich wielkość i kształt determinuje o przydziale odmiany do danej grupy klasyfikacji ogrodniczej. Van Scheepen i inni (2007) dokonali podziału około 340 odmian pod względem wielkości, kształtu i faktury kwiatów, tworząc 9 grup klasyfikacyjnych. Analizując dane rejestrowe odmian *Hippeastrum* w holenderskim KAVB z ostatnich 5 lat, można zaobserwować, że najwięcej odmian rejestruje się w grupach, w których kwiaty mają największą szerokość - powyżej 16 cm i nieco mniejsze o średnicy w przedziale 12-16 cm (Bodegom i in. 2020, Bodegom i in. 2021, Bodegom i in. 2022, Bodegom i Oers 2023, Bodegom i Oers 2024).

Przeprowadzone badania własne nad szerokością okwiatu dla badanej populacji wykazały, że parametr ten waha się w przedziale od 12,34 cm dla klonu 6 *H. ×chmielii*

do 17,50 cm dla odmiany 'Royal Velvet' *H. hybridum*. Dodatkowo, odnosząc szerokość kwiatów do klasyfikacji ogrodniczej i pomijając ich kształt, można stwierdzić, że 50% badanej populacji należy do grupy Galaxy, a drugie 50% do grupy Diamond. Warto zauważyć, że skrzyżowanie klonu 6 o mniejszych kwiatach z odmianą 'Gervase' o kwiatach większych dało mieszańce o kwiatach takiej samej wielkości jak forma ojcowska lub nieco mniejszych, ale jednak większych niż forma mateczna, czyli klon 6 *H. ×chmielii*. Taka sama sytuacja została zaobserwowana dla potomstwa klonu 6 i odmiany 'Royal Velvet', a także klonu 18 i wszystkich trzech będących formami ojcowskimi. Jedyny wyjątek z 15 ocenianych nowych klonów stanowił klon 0075-25 ze skrzyżowania klonu 18 z odmianą 'Royal Velvet', którego szerokość okwiatu była taka sama jak formy matecznej, czyli klonu 18 *H. ×chmielii*. Warto zatem podkreślić, że w odniesieniu do wielkości kwiatów mierzonych ich szerokością, udało się w większości przypadków uzyskać formy potomne o większych kwiatach niż formy mateczne, czyli oba klony *H. ×chmielii*.

Jeżeli uwzględnimy kształt kwiatów i doniesienia literaturowe to odmiana 'Rio Negro' (Van Scheepen i in. 2007) oraz klony hodowlane będące potomstwem klonu 18 i tej właśnie odmiany (0021-10, 0023-11 i 0062-10) można przyporządkować do grupy Spider. Dodatkowo, kształt kwiatu klonu 0050-16, będącego potomstwem klonu 6 i odmiany 'Royal Velvet', także predysponuje go do umieszczenia w grupie Spider. Hang i inni (2015) w swoich badaniach określili szerokość okwiatu dla mieszańca *H. ×johnsonii* na 10,8 cm. Dla gatunków *H. puniceum* – 12,3 cm oraz *H. reticulatum* var. *striatifolia* na 11,5 cm. Odnosząc te wyniki do klasyfikacji ogrodniczej możemy zauważyć, iż mieszańce *H. ×johnsonii* oraz *H. reticulatum* var. *striatifolia* klasyfikują się do grupy Colibri – rośliny o małych kwiatach poniżej 12 cm, natomiast *H. puniceum* do grupy Diamond.

Ważnym badanym parametrem wpływającym na powierzchnię asymilacyjną roślin jest szerokość liści. Dzięki zwiększonej powierzchni fotosyntetycznej zwiększa się akumulacja węglowodanów, które wykorzystywane są w dalszych procesach wzrostu i rozwoju rośliny (Azimi i in. 2018, Azimi 2020). Badania własne wykazały, że najmniejszą szerokość liści 3,24 cm posiadał klon hodowlany 0062-10, a największą - 5,26 cm - klon 0033-10. Całe badane potomstwo dwóch krzyżowań (klonu 18 i 'Royal Velvet' oraz klonu 18 i 'Gervase') miało liście takiej samej szerokości jak formy rodzicielskie. U klonów pochodzących z krzyżowań klonu 6 z odmianami, cecha ta była

zróznicowana. W większości przypadków potomstwo miało liście takiej samej szerokości jak jedna lub obie formy rodzicielskie, w dwóch przypadkach (klon 0033-10 ze skrzyżowania klonu 6 z 'Gervase' i 0072-17 ze skrzyżowania klonu 6 z 'Royal Velvet') miały liście szersze, a jeden klon (0062-10) miał liście węższe niż obie formy rodzicielskie. Spośród 16 genotypów ocenianych przez Azimi i Alavijeh (2020), odmiana 'Red Lion' posiadała najszersze liście - 7,50 cm, a najwęższe odmiana 'Dancing Queen' - 3,66 cm. Co ciekawe, zespół Shi i inni (2020) wykazał, że liście tej samej odmiany 'Red Lion' posiadały szerokość 4,34 cm, a 'Apple Blossom' 4,82 cm. W badaniach Nascimento i innych (2013) prowadzonych na *H. puniceum* szerokość liści dla tego gatunku wynosiła 3,61 cm. Wg PBS (2024) *H. aulicum* posiada liście szerokości od 3,8 do nawet 5 cm. Dlatego możemy przypuszczać, że wielkość liści (w tym ich szerokość) określają nie tylko czynniki genetyczne danej odmiany, ale także uprawowe, m.in. metody i warunki uprawy czy nawożenie (Sposaro i in. 2008).

Długość pędu kwiatostanowego to bardzo istotna cecha roślin z przeznaczeniem na kwiat cięty. Badania własne prowadzone na 20 genotypach *Hippeastrum* wykazały, że najkrótsze pędy o długości 42,14 cm posiadał klon hodowlany 0033-10, a najdłuższe - 64,80 cm klon 0017-01. Nascimento i inni (2013) uzyskali zbliżony wynik do klonu hodowlanego 0017-01 dla *H. puniceum*. Pędy dla tego gatunku miały średnio 60,84 cm długości. Inne gatunki wg Traub (1958), Brickell (2001) oraz PBS (2024) mogą posiadać pędy o długości jak np.: *H. vittatum* 100 cm, *H. leopoldii* 60 cm, *H. pardinum* 50 cm, *H. aulicum* 45-60 cm, oraz *H. reginae* 30-50 cm. Odmiany mają różną długość pędów. Krause (2006) podaje zakres 40-60 cm, ale są też odmiany o znacznie dłuższych pędach, np. 'Green Valley' - 75 cm (KAVB 2024). Badane genotypy potomne charakteryzowały się w większości przypadków krótszymi lub takiej samej długości pędami jak formy rodzicielskie, jedynie w dwóch przypadkach (klony 0021-10 i 0023-11, oba z krzyżowania klonu 18 z 'Rio Negro') miały dłuższe pędy niż formy rodzicielskie. Z jednej strony klony o niższych pędach (od 42 do 50 cm długości) mogą być cenniejsze do uprawy doniczkowej, a wyższe (55-65 cm) przydatniejsze jako kwiaty cięte, z drugiej strony - wszystkie mogą być też przeznaczone do uprawy na kwiat cięty. Zwłaszcza, że podobnie jak w przypadku szerokości okwiatu, na długość pędu mają wpływ czynniki poza genetyczne, związane z warunkami uprawy, zwłaszcza temperaturą i światłem. Można zatem w pewnym zakresie sterować wysokością pędów kwiatostanowych.

Liczba kwiatów jest bardzo ważną cechą roślin, która wpływa na ich dekoracyjność oraz zwraca uwagę konsumentów. Przykładowo *H. aulicum* posiada dwa, a czasami tylko jeden kwiat (Traub 1958, Brickell 2001, PBS 2024). Dlatego odmiany o wyższej liczbie kwiatów w kwiatostanie są bardziej pożądane i częściej też wykorzystywane w procesach hodowlanych niż te z mniejszą liczbą (Azimi i Alavijeh (2020)). Dla badanych własnych klonów hodowlanych wykazano, że średnia liczba kwiatów wahała się w przedziale od 3,2 sztuki dla klonu 6 *H. ×chmielii* i klonu 0050-16 do 5 sztuk dla klonów 0037-13, 0021-10 i 0075-25. W przypadku tych trzech klonów dających nawet 5 kwiatów na pędzie, udało się przenieść do form potomnych tę cechę z form matecznych, odpowiednio od odmian 'Gervase', 'Rio Negro' i 'Royal Velvet'. To bardzo istotna obserwacja, bo im więcej kwiatów na pędzie, tym roślina atrakcyjniejsza i dłużej dekoracyjna. Warto dodać, że także w kilku innych przypadkach zaobserwowano wzrost liczby kwiatów średnio do ok. 4 szt. w porównaniu do form matecznych (3,2 dla klonu 6 oraz 3,4 dla klonu 18). I choć różnica była najczęściej nieistotna statystycznie, to z praktycznego punktu widzenia ważna dla potencjalnej nowej odmiany. Azimi i Alavijeh (2020) podają, że spośród 16 ocenianych genotypów, odmiana 'Hercules' posiadała największą liczbę kwiatów (5,33), podczas gdy najniższą zaobserwowano u klonu OPRC-206 (3,33). Meerow (2014) badając odmiany uprawiane na Florydzie wykazał, że odmiana 'Miami' posiadała średnio 3,3, a odmiana 'Jax' 4,3 kwiatów. Z przeprowadzonych badań wynika, że mieszańce *hipeastrum* posiadają co najmniej 3 sztuki kwiatów na pędzie, ale rzadko liczba ta przekracza 6 sztuk, gatunki zaś mogą posiadać jeden i więcej kwiatów, np.: *H. puniceum* (Nascimento i in. 2013), dla którego określona została średnia liczba kwiatów na pędzie na 4,31 po przebadaniu 13 genotypów tego gatunku pochodzących z banku genów Uniwersytetu Federalnego w Paraíba w Brazylii.

Długość okwiatu dla gatunku *H. puniceum* wg Nascimento i innych (2013) określona została na 12,62 cm. Dla *H. aulicum* wg (PBS 2024) nie przekracza ona 10 cm. W badaniach własnych odnotowano, że klon 6 *H. ×chmielii* posiadał najmniejszą długość okwiatu o wartości 10,50 cm, co było też skorelowane z najmniejszą szerokością okwiatu (12,34 cm). Najdłuższym okwiatem (14,82 cm) charakteryzował się klon 0072-17 będący potomstwem klonu 6 i odmiany 'Royal Velvet', którego okwiat miał także dość dużą wartość, bo 16,02 cm. W większości przypadków potomstwo miało dłuższe kwiaty niż ich forma mateczna.

Własna ocena nowych klonów hodowlanych ujawniła różnice w obserwowanych cechach pomiędzy formami rodzicielskimi, a klonami będącymi ich potomstwem. Zakres wartości współczynnika zmienności dla badanych cech wynosił w zależności od krzyżowania: klon 6 *H. ×chmielii* × 'Gervase' – 10,13% – 21,15%, klon 6 *H. ×chmielii* × 'Royal Velvet' – 9,92% – 23,42%, klon 18 *H. ×chmielii* × 'Gervase' – 5,58% – 14,14%, klon 18 *H. ×chmielii* × 'Rio Negro' – 8,90% – 16,50%, klon 18 *H. ×chmielii* × 'Royal Velvet' – 8,19% – 18,24%. Najniższy współczynnik (5,58%) odnotowano dla długości pędu, a najwyższy (23,42%) dla liczby kwiatów. Ze statystycznego punktu widzenia i definicji współczynnika zmienności wszystkie uzyskane wartości świadczą o bardzo niskiej zmienności. Jednak, jak wykazano wyżej poszczególne cechy różniły się w wielu przypadkach istotnie od form matecznych, czyli obu klonów *H. ×chmielii*. Podobne wyniki dla współczynników zmienności uzyskali Azimi i Alavijeh (2020) opisując różnice w cechach między genotypami badanej populacji *hippeastrum*. Zakres współczynnika zmienności wynosił od 4,13% do 24,91%. Dla liczby kwiatów autorzy uzyskali współczynnik zmienności o wartości 16,09%, co świadczy o bardziej wyrównanej liczbie kwiatów wśród badanych genotypów.

Wg deskryptora UPOV (UPOV 2001) kształt kwiatów widziany z przodu został podzielony na 3 kategorie – okrągły, trójkątny i gwiaździsty. Pierwsza z nich – kształt okrągły, w której możemy wyróżnić tylko jeden klon, 0017-01 będący wynikiem udanego krzyżowania klonu 18 z odmianą 'Royal Velvet'. Co ciekawe obie formy rodzicielskie klonu 0017-01 posiadają inny kształt okwiatu (gwiaździsty). Podobną zależność można zauważyć w drugiej kategorii – kształt trójkątny. Klony 0037-13 i 0040-31 uzyskane ze skrzyżowania klonu 6 z odmianą 'Gervase', klon 0050-15 będący wynikiem krzyżowania klonu 6 z 'Royal Velvet' oraz klon 0075-25, który pochodzi od klonu 18 i odmiany 'Royal Velvet'. Wszystkie 4 klony hodowlane posiadają również inny kształt okwiatu widziany z przodu względem swoich form wyjściowych. Trzecia kategoria – kształt gwiaździsty, do której przyporządkować można pozostałe 10 klonów nieróżniących się tą cechą od swoich form rodzicielskich (5 genotypów).

Główną barwę wewnętrznej strony okwiatu badanej populacji *Hippeastrum* (form rodzicielskich i klonów potomnych) oznaczaną konkretnym numerem/-rami z katalogu barw RHS CC przedstawiono w pracy w uproszczeniu w podziale na grupy barw. Formy mateczne należą do dwóch różnych grup: klon 6 *H. ×chmielii* do grupy barw czerwonych, a klon 18 *H. ×chmielii* do grupy pomarańczowo-czerwonych. Formy ojcowskie, czyli

odmiany 'Gervase' i 'Royal Velvet' należą do grupy barw czerwonych, a 'Rio Negro' do żółto-zielonych. Oceniane potomstwo – analizując jedynie grupy barw – w nieznacznym stopniu zmieniło barwę w odniesieniu do form matecznych, choć i tu można zauważyć, że klon 0033-10 i 0050-16 będące potomstwem klonu 6 (grupa barw czerwonych) uzyskały barwę pomarańczowo-czerwoną. Klon 0037-13 będący potomstwem klonu 6 oraz odmiany 'Gervase', gdzie obie formy rodzicielskie mają podstawową barwę należącą do grupy barw czerwonych wytwarza kwiaty o barwie buraczkowej (nr katalogowy Greyed-Purple group 185 A) należącej do grupy barw szaro-fioletowych. W wyniku tego krzyżowania u tej siewki wystąpiło zjawisko wzmocnienia barwy czerwonej. W wielu przypadkach badanego potomstwa, konkretna barwa okwiatu była różna od barwy okwiatu form matecznych, ale przynależna do tej samej grupy barw czerwonych. Bardzo ciekawymi przykładami takiej zmiany barwy są kwiaty klonu 0050-15 względem kwiatów klonu 6 oraz klonów 0003-13, 0004-05 i 0062-10 względem kwiatów klonu 18. Genotyp 0050-15 posiada kwiaty o barwie malinowofuksjowej (Red group 46 B) z odbarwionymi na biało szczytami płatków, które dodatkowo w całości posiadają ciemną obwolutę. W przypadku klonu 0003-13 dominującą barwą jest amarant (Red group 53 D), ale widoczna jest także delikatnie zaznaczająca się żółtozielona gardziel. Klon 0004-05 posiada kwiaty o barwie łososiowej w różnych odcieniach, z delikatnym odbarwieniem płatków w ich szczycie oraz silnie zaznaczonym żyłkowaniem (Red group 38 A). Widoczna jest również mała, żółtozielona gardziel. Klon 0062-10 posiada charakterystyczne pofalowane na brzegach płatki w barwie delikatnie przydymionego arbużowego rózu (Red group 39 B). Na całej powierzchni płatków z wyłączeniem 3 dolnych, widoczne jest ciemnobrzoskwiniowe unerwienie. Kwiat posiada bardzo mocno zaznaczoną żółto-zieloną gardziel, która przebiega od nasady po sam szczyt płatków. Dodatkowo duży kontrast tworzy ciemnobrzoskwiniowe obramowanie gardzieli.

Jakkolwiek drobniejsze kwiaty hipeastrum – jak u klonów 6 i 18 *H. ×chmielii* - mają swoich zwolenników, to jednak duże i okazałe kwiaty o ciekawych barwach wzbudzają na rynku największe zainteresowanie konsumentów. Porównując pod względem fenotypowym potomstwo do klonu 6 można m.in. wyróżnić klon 0037-13 powstały ze skrzyżowania z odmianą 'Gervase', który wytwarza więcej, a do tego większych kwiatów na pędzie. Dodatkowo kwiaty wyróżniają się barwą w odcieniu buraczkowym i/lub mocno dojrzałych malin (Greyed-purple group 185 A) z delikatną

zieloną gardzielą, a brzegi płatków wybarwiają się na biało. Zamknięte pąki mają odcień bieli z delikatnym malinowym nakrapianiem biegnącym w kierunku szczytu pąka. Płatki okwiatu odwijają się do tyłu. Do ciekawych wyróżniających się klonów można także zaliczyć dwie formy triploidalne: 0021-10 i 0023-11, które pochodzą z krzyżowania klonu 18 z odmianą 'Rio Negro'. Klon 0021-10 względem swojej formy matecznej posiada dłuższe pędy z większą liczbą i szerszymi kwiatami o barwie cynobrowej z widocznym żyłkowaniem (Orange-Red group 34 A). Płatki okwiatu są wąskie i ostro zakończone, tworzą charakterystyczną gwiazdę. Widoczna jest silnie zaznaczona gardziel z rozjaśniającą się kremowo-białą barwą biegnącą od nasady do $\frac{3}{4}$ wysokości płatków okwiatu. Pąki są kremowo-zielono-pomarańczowe. W przypadku klonu 0023-11, który względem klonu 18 posiada większą liczbę kwiatów, które dodatkowo są szersze i dłuższe o barwie łososiowej (Orange-Red group 35 B) z widoczną dużą i zieloną gardzielą, brzoskwiniową u nasady. Dodatkowo odcienie gardzieli podbite są ciemno brzoskwiniową obwolutą biegnącą równoległe do brzegów gardzieli. Widać żyłkowanie na całej powierzchni kwiatu. Pąki posiadają linię na całej swojej długości w odcieniu zielono-brzoskwiniowym.

Niezależnie od oceny fenotypowej badanej populacji *Hippeastrum*, przeprowadzono analizę pokrewieństwa genetycznego form rodzicielskich z ich potomstwem. Na przestrzeni lat przeprowadzono wiele badań dotyczących pokrewieństwa genetycznego roślin w obrębie gatunków, ale również relacji pomiędzy rodzajami botanicznymi roślin z rodziny *Amaryllidaceae*. Skupiając się na *Hippeastrum* badania te pozwoliły na wyodrębnienie tego rodzaju. Dodatkowo metody te z pomocą różnych markerów genetycznych są już powszechnie wykorzystywane w identyfikacji form wyjściowych z otrzymanymi mieszańcami, które w przyszłości mogą być rejestrowane jako nowe odmiany (Ilczuk 2005, García i in. 2019, Xiong i in. 2021, Liu i in. 2022, PBS 2024). W przypadku *Hippeastrum*, losowo amplifikowany polimorficzny DNA (RAPD) i polimorfizm sekwencji międzysatelitarnych (ISSR) to dwa przykłady tanich i prostych rodzajów markerów, które zostały z powodzeniem zastosowane do oceny różnorodności genetycznej (Chakrabarty i in. 2007, Zhang i in. 2012, Phuong i in. 2014). Usprawniło to identyfikację mieszańców, mutantów, badania pokrewieństwa genetycznego między rodzajami i gatunkami, analizę rodowodów, ocenę filogenetyczną, budowanie map genetycznych, relacje rodzic-mieszaniec, analizę między- i wewnątrzgatunkowej zmienności genetycznej, procesy hodowlane oraz pozwoliło na

ochronę własności intelektualnej hodowców. Wykorzystanie tych metod w praktyce rozwiązuje problemy taksonomiczne oraz ułatwia wykorzystanie zasobów genetycznych w wyspecjalizowanych programach hodowlanych (Chatterjee i in. 2006, Chakrabarty i in. 2007, Chatterjee i in. 2007, Chakrabarty i Datta 2010).

W przeprowadzonych badaniach własnych wykorzystano materiał genetyczny wyizolowany ze wszystkich 20 genotypów, który poddany został analizie polimorfizmu z wykorzystaniem markerów RAPD i ISSR. W literaturze możemy znaleźć wykorzystanie tego typu markerów w celu identyfikacji pokrewieństwa *Hippeastrum* z innymi gatunkami czy odmianami. Ilczuk (2005) w swoich badaniach wykazała, że klon 18 *H. ×chmielii* jest blisko spokrewniony z odmianą 'Red Lion' oraz 'Apple Blossom'. Dodatkowo, drobne kwiaty mogły sugerować pokrewieństwo z gatunkiem zwartnicy polnej (*Rhodophiala pratensis*, dawniej *H. pratense*), który miał być wykorzystany jako jedna z form wyjściowych w procesie hodowlanym tego klonu lub z odmianą 'Scarlet Baby'. Jednak analiza polimorfizmu DNA przeprowadzona przez Ilczuk (2005) z wykorzystaniem markerów RAPD tego nie potwierdziła. Huong i inni (2014) również wykorzystali markery RAPD do oceny stopnia pokrewieństwa 5 klonów hodowlanych *Hippeastrum* pochodzących z trzech krzyżowań. Z powodzeniem zidentyfikowali oni, które z klonów (H1, H3, H5, H12, H85) pochodzą z konkretnego krzyżowania. Również Varkulevičienė i Žukauskienė (2016) wykorzystały potencjał markerów RAPD do analizy genetycznej 20 odmian *H. hybridum* (4 holenderskie i 16 litewskich). Wyniki wykazały, że odmiany litewskie różnią się w 5% od holenderskich. To właśnie odmiany litewskie cechowały się największym polimorfizmem DNA. Datta (2023) podkreśla w jaki sposób technologia oparta na DNA z wykorzystaniem markerów RAPD może ułatwić wybór prawidłowych linii rodzicielskich w oparciu o wskaźnik podobieństwa w celu opracowania pożądaných odmian. Informacje te mają ogromne znaczenie w ukierunkowanych na konkretny cel programach hodowlanych.

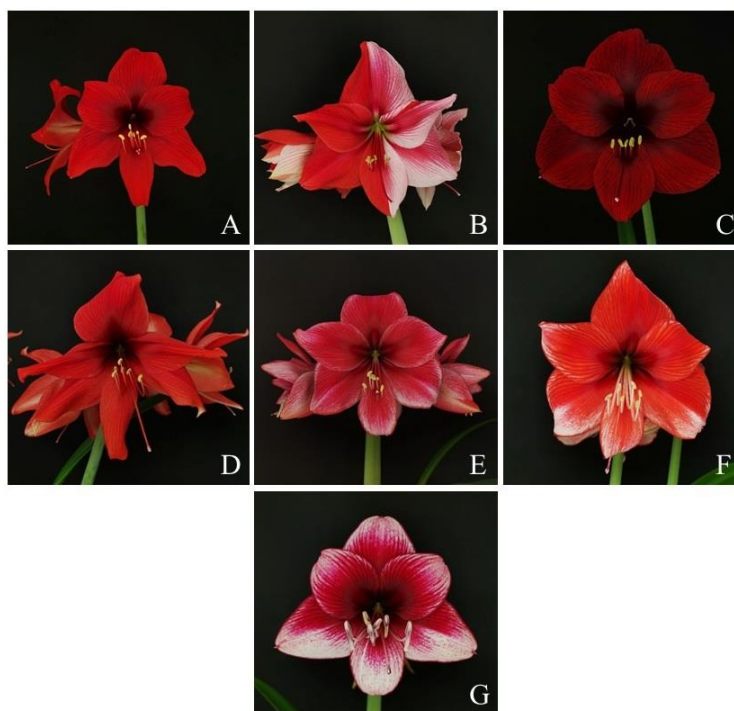
W badaniach własnych wykorzystano także markery ISSR. Otrzymywany dzięki nim poziom polimorfizmu jest dużo wyższy niż w przypadku markerów RAPD. Jednak w badaniach własnych nie wykazano takiej zależności. Powodem może być bardzo bliskie pokrewieństwo i/lub małe zróżnicowanie genetyczne otrzymanych genotypów. Zhang i inni (2012) w swoich badaniach również wykorzystali markery ISSR. Populacja 62 odmian *Hippeastrum* (60 odmian holenderskich i 2 chińskie) cechowała się wysoką zmiennością i różnorodnością genetyczną. Wykonana analiza skupień metodą UPGMA,

podobnie jak w badaniach własnych, pozwoliła wyodrębnić 7 grup, odmiany o podobnej morfologii skupione były razem. Wszystkie 62 badane odmiany mogły być zidentyfikowane za pomocą wykorzystanych markerów. Podobną zależność można było zauważyć w badaniach własnych, jednak zdarzały się wyjątki. W końcowym etapie badań prowadzonych przez Yu i innych (2020) nad indukcją kalusa z niedojrzałych szypulek i efektywnością regeneracji roślin *Hippeastrum*, użyto markerów ISSR. Badania te były prowadzone z uwagi na to, że kalus jest strukturą niestabilną, u której może dochodzić do zmian genetycznych. Rośliny *ex vitro* poddano obserwacjom morfologicznym, a egzemplarze nie wykazujące żadnych różnic poddano analizom przy użyciu markerów ISSR, potwierdzając brak różnic na poziomie DNA. Oceny różnorodności genetycznej przy użyciu markerów ISSR na dwóch populacjach *Rhodophiala bifida*, rośliny spokrewnionej z badanym *Hippeastrum*, dokonali Schwedersky i inni (2020). Badania prowadzone na 93 osobnikach *R. bifida* wykazały polimorfizm DNA na poziomie wewnątrzpopulacyjnym. Dalsza analiza pozwoliła na podzielenie badanej populacji na dwie grupy. Pokazuje to, że wymiana materiału genetycznego pomiędzy populacjami jest stosunkowo niska i zachodzi głównie w obrębie osobników z tej samej populacji.

Analizę pokrewieństwa genetycznego pomiędzy 20 genotypami *Hippeastrum* w oparciu o 30 markerów RAPD i ISSR możemy potwierdzić sporządzonym dendrogramem (Wykres 7) dla form wyjściowych i klonów hodowlanych. Różnice wynikające ze zmienności w przypadku badanej populacji są niewielkie, lecz znaczące, gdyż jest to mocno hermetyczna grupa. Przedział wartości podobieństwa genetycznego mieści się w granicach od 74% do 85%. Dodatkowo ważną informacją jest to, iż oba klony *H. ×chmielii* posiadają te same formy wyjściowe. W przypadku odmian 'Gervase' i 'Royal Velvet' Wang i inni (2018) sporządzili drzewo filogenetyczne dla 104 odmian przy użyciu 21 markerów prostych powtórzeń sekwencji (SSR) i potwierdzili, że są to dwie odmiany holenderskie (KAVB 2024), które znalazły się we wspólnym klastrze.

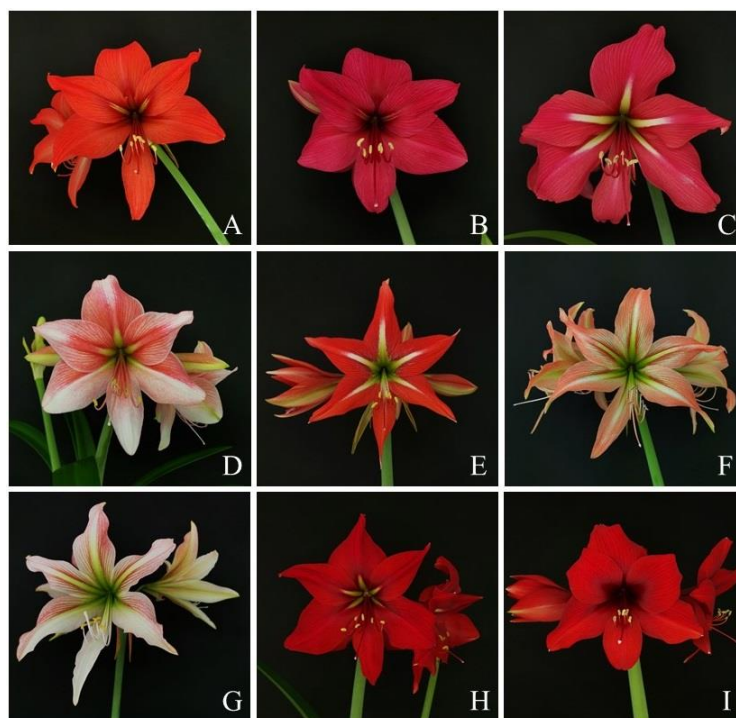
W pierwszej grupie genotypów podobnych znalazły się: klon 6 *H. ×chmielii*, odmiany 'Gervase' i 'Royal Velvet' oraz klony 0033-10, 0037-13, 0040-31 i 0050-15. Co ciekawe klon 6 *H. ×chmielii*, jako jedna z form matecznych, wykazuje podobieństwo z dwiema formami ojcowskimi – 'Gervase' i 'Royal Velvet' w 79%, a same odmiany pomiędzy sobą są podobne w 82%. Dodatkowo z klonami 0033-10, 0037-13 i 0040-31, które powstały na skutek krzyżowania tej formy matecznej z odmianą 'Gervase' oraz

klonem 0050-15, który jest wynikiem krzyżowania z odmianą 'Royal Velvet', podobieństwo wynosi 78% (Fot. 24).



Fot. 24. Morfologia kwiatów spokrewnionych genetycznie (w 79%) klonu 6 *H. ×chmielii* (A), odmian 'Gervase' (B) i 'Royal Velvet' (C) oraz najbardziej spokrewnionych (78%) w tej grupie pojedynków potomnych z formą maticzną, czyli klonem 6: 0033-10 (D), 0037-13 (E), 0040-31 (F), 0050-15 (G) (zdjęcia własne)

Drugą formą maticzną wykorzystaną we wcześniejszych krzyżowaniach i dalszej ocenie był klon 18 *H. ×chmielii*. Tworzy on największą grupę i skupia wokół siebie klony powstałe ze skrzyżowania z odmianami 'Gervase', 'Rio Negro' oraz 'Royal Velvet' (Fot. 25). Klony hodowlane 0003-13, 0004-04, 0004-05, powstałe ze skrzyżowania z odmianą 'Gervase', są podobne z klonem 18 w 80%. Klony 0021-10, 0023-11, 0062-10, których formą ojcowską jest odmiana 'Rio Negro', wykazują podobieństwo genetyczne na poziomie 79% z klonem 18, natomiast genotypy 0015-03, 0075-25, których formą ojcowską była odmiana 'Royal Velvet', wykazują podobieństwo 77% i 79% z klonem 18.



Fot. 25. Morfologia kwiatów klonu 18 *H. ×chmielei* (A) oraz najbardziej spokrewnionych z nim klonów: 0003-13 (B), 0004-04 (C) i 0004-05 (D) (w 80%), 0021-10 (E), 0023-11 (F) i 0062-10 (G) (w 79%), 0015-03 (H) (w 77%), 0075-25 (I) (w 79%) (zdjęcia własne)

Odmiana 'Rio Negro' oraz klony hodowlane 0050-16 i 0072-17 tworzą trzy oddzielne grupy i są teoretycznie w najmniejszym stopniu spokrewnione z całą populacją, choć i tak obiektywnie są to wysokie wartości podobieństwa genetycznego (Fot. 26). Podobieństwo odmiany 'Rio Negro' z klonami 0021-10, 0023-11 i 0062-10 wynosi 77%, a klonów 0050-16 i 0072-17 z klonem 6 – 76%. Równocześnie klony 0050-16 i 0072-17, uzyskane z tej samej kombinacji krzyżowania (klon 6 *H. ×chmielei* z 'Royal Velvet'), wykazują najmniejsze pokrewieństwo – 76% w stosunku do innych genotypów uzyskanych z poszczególnych krzyżowań (Fot. 26). Porównując ze sobą te 2 genotypy zauważyć można różnicę w morfologii i barwie kwiatów, ale i całych roślin. Warto również zwrócić uwagę, iż oba te klony posiadają różne poziomy ploidalności. Klon 0050-16 jest triploidem, a klon 0072-17 tetraploidem, co z kolei wpływa na ich fenotyp.



Fot. 26. Morfologia kwiatów genotypów tworzących trzy oddzielne grupy wykazujących najmniejsze podobieństwo genetyczne w stosunku do całej badanej populacji - 'Rio Negro' (A) oraz klony 0050-16 (B), 0072-17 (C) (zdjęcia własne)

Największe podobieństwo genetyczne – 85% występuje między klonami 0021-10 i 0023-11 pochodzącymi z krzyżowania klonu 18 *H. ×chmielii* z 'Rio Negro' (Fot. 27). Obie rośliny wykazują także podobne cechy co do plenności oraz morfologii kwiatu formy ojcowskiej.



Fot. 27. Morfologia kwiatostanów klonów hodowlanych 0021-10 (A) i 0023-11 (B) wykazujących największy stopień pokrewieństwa genetycznego między sobą (85%) (zdjęcia własne)

Wyniki analizy skupień markerów RAPD i ISSR są naukowym potwierdzeniem przeprowadzenia wcześniej przekrzyżowania klonów 6 i 18 *H. ×chmielii* z formami ojcowskimi 'Gervase', 'Rio Negro' oraz 'Royal Velvet'. Klony hodowlane skupiły się wspólnie z formami matecznymi, wskazując tym samym na ich podobieństwo genetyczne, a co z tym idzie pokrewieństwo.

W kontekście *Hippeastrum*, wyniki badań własnych podkreślają, w jaki sposób technologia oparta na RAPD może ułatwić wybór prawidłowych linii rodzicielskich w oparciu o wskaźnik podobieństwa w celu opracowania programów hodowlanych. Częstszy wybór metody RAPD niż ISSR w przytoczonych badaniach innych autorów może wynikać z zalet tej metody. Prosta optymalizacja procesu, generowanie

zróznicowanych profili prążków oraz stosunkowo tania technologia może tłumaczyć częstszy wybór tej metody w przypadku badań tego rodzaju.

Badania prowadzone nad strukturami komórkowymi, jakim są aparaty szparkowe mogą dostarczyć informacji na temat zróznicowania poziomu ploidalności, a także specyficznych cech różnicujących formy rodzicielskie i mieszańce z nich powstałe. Jest to jeden z markerów morfologicznych wykorzystywany w programach hodowlanych do wstępnej oceny mieszańców (Arayakitcharoenchai i Suwanthada 2011). Według Shi i innych (2020) aparat szparkowy *Hippeastrum* składa się z dwóch sierpowatych komórek pełniących funkcję ochronną. Aparaty szparkowe rozmieszczone są na całej powierzchni liścia, ale z większą gęstością na jej abaksjalnej stronie (Zhou i in. 2012, Marques 2015), ułatwia to roślinom przystosowanie do życia w trudnych warunkach środowiska.

Potwierdzają to również obserwacje własne, które pozwoliły na wykrycie zróznicowania w długości i liczbie aparatów szparkowych. Forma diploidalna 'Rio Negro' posiadała najmniejsze aparaty szparkowe – o długości 35,73 μm , ale największą ich liczbę na 1 mm^2 (59,07 szt.). U form triploidalnych długość aparatów wahała się w przedziale 42,48 – 46,76 μm , a ich liczba od 40,07 do 45,47 szt. Tetraploidy w większości posiadały dłuższe aparaty szparkowe 49,57 – 58,28 μm , a ich liczba była niższa niż u diploidów czy triploidów i wynosiła od 23,40 do 39,53 szt.; niektóre genotypy posiadały jednak podobną liczbę aparatów szparkowych na 1 mm^2 jak formy triploidalne. Powodem tego może być naturalna zmienność wielkości aparatów w odniesieniu do gatunku, warunków wzrostu i uprawy oraz wieku roślin (Abdoli i in. 2013). Można zatem uznać, że liczba i długość aparatów szparkowych w badanej populacji *hippeastrum* były w dużej mierze skorelowane z poziomem ploidalności, co świadczy o możliwości ich wykorzystania jako markerów morfologicznych na etapie rozróżniania euploidów. Zespół Haist i innych (2023) wykazał w swoich badaniach na diploidalnej i autotetraploidalnej formie *H. papilio* różnice w długości aparatów szparkowych. Dla diploida wartość ta wynosiła 47,03 μm , natomiast dla autotetraploida 57,60 μm . Znacząca różnica między długością aparatów szparkowych u diploidalnego gatunku *H. papilio* oraz odmiany 'Rio Negro' może wynikać z opisanych wyżej przyczyn. Według badań Arayakitcharoenchai i Suwanthada (2011) średnia długość aparatów szparkowych dla badanych diploidalnych oraz tetraploidalnych form *Hippeastrum* wynosiła 28,23 i 41,06 μm . Podobne wyniki uzyskali Shi i inni (2020)

badając dwie tetraploidalne odmiany 'Red Lion' i 'Apple Blossom'. Długość aparatów szparkowych odmiany 'Red Lion' wynosiła 54,79 μm , a 'Apple Blossom' – 58,92 μm . Średnia liczba aparatów szparkowych u odmiany 'Red Lion' to 21,99 szt., a u 'Apple Blossom' 25,62 szt. na 1 mm^2 . Zbliżone wyniki własne w odniesieniu do długości aparatów szparkowych uzyskano w badaniach nad tetraploidalnymi osobnikami w badanej populacji. W przypadku gęstości aparatów szparkowych u odmiany 'Red Lion' liczba ta była niższa niż u 'Apple Blossom', mimo iż obie odmiany posiadają ten sam poziom ploidalności. W badaniach własnych również uzyskano różne wartości liczby aparatów szparkowych na danej powierzchni. Wynikać to może ze specyficznej budowy morfologicznej liścia charakterystycznej dla danego genotypu, sposobu uprawy i/lub wieku roślin.

Analiza wielkości oraz liczby aparatów szparkowych to prosta metoda w określaniu domniemanych poliploidów, która może być wykorzystywana w programach hodowlanych opartych na metodach poliploidyzacji *Hippeastrum* (Gallone i in. 2014, Huang i in. 2014, Moghbel i in. 2015). Wykorzystanie tej metody na wstępnym etapie selekcji poliploidów ma wiele zalet, takich jak szybkość, niskie koszty oraz łatwość wykonania w porównaniu z określaniem liczby chromosomów czy analizami metodą cytometrii przepływową. W badaniach przeprowadzonych przez zespół Haist i innych 2023 na gatunku *H. papilio* oraz jego poliploidach, rozmiar aparatów szparkowych na spodniej części liścia był wiarygodnym wskaźnikiem poziomu ploidalności tego genotypu.

Kolejnym celem prowadzonych badań było określenie liczby chromosomów, wielkości genomów oraz oszacowanie poziomu ploidalności genotypów badanej populacji. Liczba chromosomów, ich kształt i wielkość to przejaw zróżnicowania genomów roślinnych. Jest to ściśle określona cecha biologiczna danego gatunku, a każdy gatunek ma charakterystyczny kariotyp, który reprezentuje wygląd chromosomów somatycznych. Jego stałość jest kontrolowana przez podziały jądra i komórek (Bennetzen i in. 2005, Leitch i Leitch 2013). Rośliny, które powstały na skutek zmian liczby chromosomów i/lub mutacji genomowych, i różnią się od swoich diploidalnych form wyjściowych, nazywamy poliploidami (Rogalska 2012). Wiele badań prowadzonych nad poziomem ploidalności rodzaju *Hippeastrum* potwierdza podstawową liczbę chromosomów wynoszącą $x = 11$ (Poggio i in. 2007, Meerow 2009, Poggio i in. 2014, García i in. 2019). Potwierdzają to również badania własne przeprowadzone na populacji

Hippeastrum, w której wykryto metodami barwienia chromosomów oraz cytometrycznie genotyp diploidalny posiadający 22 chromosomy ($2n = 2x = 22$), genotypy triploidalne – posiadające 33 chromosomy ($2n = 3x = 33$) oraz tetraploidalne, które posiadają 44 chromosomy ($2n = 4x = 44$). Ilczuk (2005) w swoich badaniach nad określeniem liczby chromosomów dla klonu 18 *H. ×chmielii* oraz odmiany 'Apple Blossom' wykazała, że genotypy te posiadają 44 chromosomy i są tetraploidami. Potwierdzają to również badania własne, w których określono taką samą liczbę chromosomów w klonie 18 *H. ×chmielii*. Zespół Poggio i innych (2007, 2014) do określenia poziomu ploidalności dzikich gatunków *Hippeastrum* stosował metodę barwienia chromosomów metodą Feulgena, która również została użyta z sukcesem w badaniach własnych. Autorzy wykryli genotypy posiadające 22, 33, 44, 55 i 66 chromosomów, co jest zgodne z wielokrotnością haploidalnego genomu. Według Haist i innych (2023) *H. papilio* posiada diploidalny (22) zestaw chromosomów, ale może on zostać podwojony do tetraploidalnego (44). *H. velloziform* również jest diploidalną formą posiadającą 22 chromosomy zbadaną przez zespół Campos-Rocha i innych (2022) metodą barwienia DAPI. Metoda ta również wykorzystana została w badaniach własnych. Shi i inni (2020) w prowadzonych przez siebie badaniach nad poziomem ploidalności 2 odmian *H. hybridum* ('Red Lion' i 'Apple Blossom') potwierdzili, iż są to formy tetraploidalne.

Niezwykle ciekawym przypadkiem w badaniach własnych okazał się klon 0050-16, który jest triploidem pochodzącym ze skrzyżowania dwóch tetraploidów - klonu 6 *H. ×chmielii* z odmianą 'Royal Velvet'. Powodem uzyskania takiego osobnika może być połączenie się ze sobą zredukowanych (n) i/lub niezredukowanych ($2n$) gamet, które mogą łączyć się ze sobą losowo. Potwierdzeniem tej hipotezy może być również otrzymanie dwóch tetraploidalnych genotypów (0050-15, 0072-17) pochodzących z tego samego krzyżowania. Wg Burton i Husband (2001) różnice w poziomie ploidalności potomstwa wierzbowki kiprzycy (*Chamerion angustifolium*) obserwowane we wszystkich krzyżowaniach sugeruje, że istnieje zmienność w jakości gamet. Przykładem może być 6% potomstwa zidentyfikowanego jako triploidalne z krzyżowań $2n = 2x \times 2n = 2x$, gdzie 94% było diploidalnych. Triploidalne potomstwo jest prawdopodobnie wynikiem połączenia między zredukowanymi (n) i niezredukowanymi ($n = 2n$) gametami. Podobną zależność wykazano u potomstwa z krzyżowania $2n = 2x \times 2n = 4x$, które pokazują znaczną liczbę tetraploidów, oprócz oczekiwanego potomstwa triploidalnego. Innym przykładem może być 1% tetraploidalnego potomstwa uzyskanego

na skutek krzyżowania wstecznego triploidalnego klonu topoli osiki (*Populus tremula*) z diploidem (Bergstrom 1940) i 4 genotypy tetraploidalne będące potomstwem triploidalnych odmian jabłoni 'Boskoop' i 'Blenheim' (Bergstrom 1938).

Całkowita ilość DNA w jądrze organizmu jest ogólnie określana jako wielkość genomu i mierzona w pikogramach (pg), a ostatnio w liczbie par zasad (pz) (Doležel i in. 2003, Olszewska i Małuszyńska 2012). Naukowcy rozpoczęli badania nad rozmiarem genomu u różnych gatunków roślin jeszcze przed poznaniem struktury DNA. Pierwszą rośliną, dla której w 1951 roku oszacowano wielkość genomu była lilia długokwiatowa *Lilium longiflorum* (Ogur i in. 1951). Z biegiem lat zmieniały się metody wykorzystywane do oceny wielkości genomu, aż do lat 80-tych XX wieku, kiedy to opracowano metodę FMC. Obecnie metoda ta jest szeroko stosowana nie tylko w badaniach, ale także w hodowli twórczej roślin (zwłaszcza w poliploidyzacji) (Loureiro i in. 2010, Dodsworth i in. 2015, Sliwiska 2018). Bennett i Leitch (2005) podkreślali znaczenie informacji o wielkości genomu w badaniach systematycznych i filogenetycznych roślin. Co więcej, u wielu taksonów dobrze udokumentowano, że zmiany w ilości jądrowego DNA są skorelowane z niektórymi cechami kariologicznymi (Albach i Greilhuber 2004, Garnatje i in. 2004).

W badaniach własnych nad wielkością genomu 20 genotypów *Hippeastrum* przeprowadzonych metodą FMC, oszacowano ich wielkości: dla formy diploidalnej na poziomie 32,63 pg, form triploidalnych w przedziale 43,68-47,08 pg oraz form tetraploidalnych w zakresie od 58,57 do 62,23 pg. Według badań Poggio i innych (2007, 2014) dla diploidalnych gatunków *H. solandriflorum*, *H. psittacinum*, *H. evansiae* i *H. tucumanum* wielkość genomu została oszacowana kolejno na 33,77 pg, 31,34 pg, 30,92 pg i 30,64 pg. Wyniki te są porównywalne z wynikami własnymi uzyskanymi dla diploidalnej odmiany 'Rio Negro'. Dodatkowo autorzy publikacji przebadali formę triploidalną *H. puniceum*, której wielkość genomu wynosiła 38,69 pg, tetraploidalną *H. reginae*, której wielkość genomu wynosiła 52,79 pg i *H. rutilum* - 48,93 pg. Wartości uzyskane przez autorów są niższe od uzyskanych własnych. Powodem może być fakt, iż u dzikich gatunków mogą występować różnice w wielkości genomu u osobników rosnących w różnych strefach geograficznych i na różnych wysokościach nad poziomem morza. Dodatkowo u form uprawnych również stwierdza się różnice w zawartości jądrowego DNA u różnych odmian mających tę samą liczbę chromosomów (Olszewska i Małuszyńska 2012). Badania własne oraz badania przeprowadzone przez zespół Poggio

i innych (2007 i 2014) potwierdzają, że wielkość genomu może być różna u genotypów o takiej samej liczbie chromosomów oraz zwiększać się wraz ze wzrostem poziomu ploidalności.

Co ciekawe, wykorzystana w badaniach własnych jedna z form ojcowskich – odmiana 'Gervase' posiada okwiat, który wykazuje niejednorodność barwy. Mogą na nim pojawiać się czerwone przebarwienia w mniejszym bądź większym stopniu, ale mogą też nie ujawniać się wcale. Przeprowadzenie badań FMC nad określeniem wielkości genomu wykazało, iż roślina posiada 2 genomy jeden większy – 60,29 pg oraz drugi mniejszy o wielkości 47,94 pg. Badania te wykazały, że genotyp ten jest miksoploidem. Takie organizmy posiadają komórki o różnej liczbie chromosomów (Krawczyk i Wasek 2011). Liczba ta może być euploidalna, czy też jak w badanym przypadku, aneuploidalna. Badania nad określeniem liczby chromosomów i poziomu ploidalności nie wykazały obecności formy miksoploidalnej tego genotypu. Pozwoliły na określenie tylko jednego genomu – tetraploidalnego. Dalsze badania cytometryczne pozwolą na wykrycie drugiego, aneuploidalnego genomu, który najprawdopodobniej umiejscowiony jest w innych częściach rośliny, przypuszczalnie w częściach kwiatu.

W pracy doktorskiej podjęto ważne badania dotyczące możliwości stosowania przyjaznych środowisku preparatów z grupy biostymulatorów na różnych etapach mikrorozmnażania *Hippeastrum* i uprawy *ex vitro*. Biostymulatory, w zależności od pochodzenia, zawierają różne składniki hormonalne lub substancje, które mogą wchodzić w interakcję z roślinami. Te naturalne, organiczne preparaty często zmniejszają stres, zwiększają aktywność fizjologiczną roślin czy polepszają wzrost i rozwój roślin, np. rozwój bryły korzeniowej. Wykorzystanie ich w warunkach *ex vitro* jest dość częste (Basak 2008, Szabó i in. 2011, Posmyk i Szafrńska 2016). W porównaniu do tradycyjnego zastosowania biostymulatorów, niewiele jest jednak doniesień o wykorzystaniu ich w roślinnych kulturach *in vitro* ozdobnych geofitów jako alternatywy dla powszechnie stosowanych regulatorów wzrostu. Thorpe i inni (2008) oraz Molnár i inni (2011) jednak potwierdzają możliwość wykorzystania naturalnych substancji w mikrozmnazaniu roślin. Między innymi mowa tu o dodatku wyciągu z alg morskich, który może być źródłem aminokwasów, peptydów, kwasów tłuszczowych, węglowodanów, witamin i fitohormonów w różnych stężeniach. Potwierdzają to badania przeprowadzone na grochu (*Pisum sativum*), buraku (*Beta vulgaris*) i tytoniu (*Nicotiana tabacum*). Stirk i inni (2002) oraz Ördög i inni (2004) w swoich badaniach udowodnili

obecność roślinnych regulatorów wzrostu w wyciągach z alg morskich oraz bakterii (cyjanobakterii), które mogą być użytecznym ich źródłem w kulturach tkankowych.

W badaniach własnych wykazano wpływ suplementacji pożywki MS biostymulatorami Goteo (0,2%) i Folium (0,5%) dla większości badanych cech *Hippeastrum*. Zastosowanie biostymulatora Goteo wpłynęło na zwiększenie masy roślin w ponad 65% przypadków badanej populacji o średnio 0,25 g. Podobne wyniki uzyskano także dla *hippeastrum* wcześniej, badając wpływ suplementacji pożywki biostymulatorem Goteo (0,1%) na parametry biometryczne klonu 18 *H. ×chmielii*. Rośliny na pożywce z biostymulatorem osiągnęły masę 2,2 g, podczas gdy na pożywce kontrolnej ważyły tylko 1,2 g, czyli niemal o połowę mniej (Sochacki i in. 2018).

W badaniach własnych wykazano również wpływ obu biostymulatorów na długość liści. Biostymulator Goteo wpłynął na zwiększenie tego parametru u 35% badanych genotypów średnio o 1,82 cm, Folium u 15% genotypów o 1,41 cm, a w 20% nie było różnic pomiędzy działaniem obu biostymulatorów. Warto odnotować, że badania z użyciem Folium jako suplementu pożywek *in vitro* były zdecydowanie pionierskie, gdyż brak jest jakichkolwiek doniesień literaturowych na ten temat. Zastosowanie jednak biostymulatora na bazie wolnych aminokwasów w kulturach *in vitro* wydaje się bardzo dobrym kierunkiem badań, gdyż bardzo często dotychczas wzbogacało się pożywki różnymi aminokwasami. Według zaleceń producenta stosowanie tego biostymulatora poprawia intensywność fotosyntezy. Mogą to potwierdzić badania prowadzone przez zespół Radkowskiego i innych (2020), których celem była ocena wpływu dolistnej aplikacji aminokwasów na zawartość mikro- i makroelementów w fitomasie użytków zielonych. Wykazali oni, iż biostymulator Folium spowodował wzrost zawartości potasu o 14% w badanych roślinach łąkowych względem roślin nieopryskiwanych. Dodatkowo zawartość mikroelementów, takich jak miedź i cynk w roślinach opryskiwanych biostymulatorem wzrosła w stosunku do kontroli o 15%. Pierwiastki te warunkują aktywność enzymów fotosyntetycznych. Niedobór potasu i cynku może powodować zmniejszenie intensywności fotosyntezy, a w skrajnych przypadkach nawet jej zahamowanie.

W badaniach własnych suplementacja pożywki biostymulatorem Goteo w znacznym stopniu, bo aż w 75% populacji, wpłynęła na zwiększenie liczby korzeni, średnio o 1,39 szt. Dodatkowo u 20% genotypów wykazano wpływ obu biostymulatorów na uzyskaną liczbę korzeni, jednak tylko w jednym przypadku Goteo wpłynęło na ich

większą liczbę niż biostymulator Folium. Dla trzech pozostałych genotypów nie wykazano różnic pomiędzy działaniem obu biostymulatorów, mimo iż miały wpływ na zwiększenie tego parametru względem roślin uprawianych na pożywce kontrolnej. Sochacki i inni (2018) zaobserwowali zwiększenie się liczby korzeni dla klonu 18 *H. ×chmielii* oraz odmiany 'Double Roma' – 13,3 19,8 szt. po dodaniu Goteo do pożywek. Powodem może być obecność naturalnych regulatorów wzrostu - w tym auksyn - zawartych w wyciągach z alg morskich (*Ascophyllum nodosum*). Ördögh i inni (2019) w swoich badaniach wykorzystali biostymulator Kelpak, który również zawiera w swoim składzie podobnie jak Goteo wyciąg z alg morskich (*Ecklonia maxima*). Dodatek do pożywki $0,4 \text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$ 1 biostymulatora Kelpak spowodował wzrost liczby korzeni funki (*Hosta*) odmiany 'Gold Drop' o 2,75 szt. więcej niż w roślinach kontrolnych. Wg Craigie (2011) preparaty zawierające w swoim składzie egzogenne hormony z alg morskich, takie jak auksyny czy cytokiny mogą wykazywać korzystne działanie na procesy ryzogenezy w kulturach *in vitro*. Dodatkowo procesy te mogą być wspierane przez zawartość innych substancji organicznych.

Zaobserwowano również, że oba badane biostymulatory w odniesieniu do pożywki MS suplementowanej standardowymi regulatorami wzrostu powodowały wzrost długości korzeni u połowy badanych genotypów. Dodatkowo, w nielicznych przypadkach, taką zależność zaobserwowano w odniesieniu do pozostałych badanych parametrów. Badania własne nie wykazały wpływu obu biostymulatorów na masę samych cebul w 60% oraz na współczynnik ich namnażania aż w 70%.

Roślinne regulatory wzrostu powszechnie dodawane są do pożywek podczas rozmnażania roślin metodą *in vitro*, stosowane są też na innych etapach wzrostu i rozwoju roślin. Odkrywane są też wciąż nowe substancje, które należy zbadać wieloaspektowo i określić ich wpływ na przebieg procesów życiowych roślin. W przypadku nowych regulatorów wzrostu nie jest znany mechanizm ich działania i/lub ich wpływ, jaki mogą wywierać na roślinę. Przykładami mogą być mT, a zwłaszcza KAR (Marciniak i in. 2023), o których jest niewiele informacji lub nie ma ich wcale w odniesieniu do ich działania w kulturach *in vitro*, szczególnie w przypadku roślin z grupy ozdobnych geofitów (Aremu i in. 2016).

Oczywistym jest, że stosowanie różnych egzogennych cytokin w pożywkach do rozmnażania *in vitro* promuje przede wszystkim proliferację pędów (Van Staden i in. 2008, Huang i in. 2005b). Wiadomym jest również, że ich obecność w pożywce w wielu

przypadkach jest pożądana oraz to, że różne cytokininy w niektórych stężeniach mogą powodować negatywne skutki (Ivanova i Van Staden 2011). Mii i inni (1974) dowiedli, że kinetyna nie tylko jest mniej skuteczna w procesie cebulowania, ale również w wysokim stężeniu ($10 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$) jest toksyczna dla eksplantatów *Hippeastrum*. Badania Naidoo i innych (2017) na krasnokwiecie Katarzyny (*Scadoxus puniceus*) potwierdziły, że dodanie cytokinin z grupy topolin do pożywki złagodziło wpływ BA na tkanki roślinne. Połączenie BA i mT zmniejszyło wyciek substancji fenolowych do pożywki, poprawiło proliferację i rozwój roślin. Reakcje roślin na rodzaj i stężenie danej cytokininy w pożywce są jednak zależne od rodzaju botanicznego, gatunku, a nawet odmiany (Naidoo i in. 2017). Innym interesującym zagadnieniem jest wpływ cytokinin dodawanych do pożywki w fazie namnażania na późniejsze ukorzenianie się eksplantatów. Istnieją doniesienia, że stymulacja lub hamowanie ukorzeniania występuje w zależności od cytokininy użytej do prowadzenia kultury i jej zakumulowania w komórkach roślinnych podczas fazy namnażania (Nakhoda i in. 2012). W badaniach własnych nie wykazano toksycznego wpływu mT na eksplantaty *Hippeastrum*. Jednak pożywka suplementowana mT lub mT w połączeniu z KAR_1 we wszystkich przypadkach powodowała zahamowanie ukorzeniania się mikrosadzonek w porównaniu do roślin na pożywce kontrolnej oraz pożywce z dodatkiem samej KAR_1 . Badania te pokazują, że mT zahamowała lub zablokowała działanie KAR_1 , która samodzielnie dodana do pożywki stymulowała ukorzenianie.

Dodatkowo odnotowano niewielki wpływ $2 \text{ ml}\cdot\text{l}^{-1}$ mT na zwiększenie współczynnika namnażania cebul. Był on widoczny tylko dla 4 badanych genotypów (klon 6, odmiana 'Rio Negro' oraz klony 0050-15 i 0017-01). Warto jednak zwrócić uwagę na to, że w przypadku rodziny *Amaryllidaceae* tylko u *Hippeastrum* organogeneza bezpośrednia (cebulowanie) w kulturach tkankowych zachodzi bez dodatku auksyn lub przy bardzo niskim ich stężeniu (Hussey 1975). Dlatego uzyskane wyniki mogą być odzwierciedleniem naturalnych zdolności merystemu tych genotypów do tworzenia cebul. Innym powodem tak nisko zaznaczonego wpływu mT na cebulowanie może być zbyt niskie stężenie mT w pożywce. W badaniach nad cyklicznym namnażaniem pędów innej rośliny cebulowej - tulipana 'Serce Warszawy', Sochacki i inni (2023), spośród sześciu testowanych suplementacji pożywki, uzyskali najlepsze wyniki stosując mT w 2,5 raza wyższym stężeniu, tj. $5 \text{ ml}\cdot\text{l}^{-1}$.

Pojawiają się coraz liczniejsze doniesienia literaturowe o wpływie karrikin na procesy fizjologiczne i morfologię roślin, które nie są naturalnie poddane działaniu tego regulatora wzrostu (Kulkarni i in. 2010, Guo i in. 2013, Kumari i in. 2014, Akeel i in. 2019, Marciniak i in. 2023). Każda z nich wywołuje różne efekty w zależności od gatunku rośliny lub stosowanego stężenia (Nelson i in. 2009, Waters 2017).

Te związki chemiczne pozytywnie wpływają na parametry biometryczne roślin w kulturach *in vitro*. Potwierdzono ich wpływ na szybkość kiełkowania pyłku i wydłużania się łagiewek pyłkowych u kilku gatunków z rodziny *Amaryllidaceae* w warunkach *in vitro*. Wchodzą też w interakcje z innymi regulatorami wzrostu, na przykład z auksynami, cytokininami, giberelinami, kwasem abscysynowym lub etylenem (Papenfusa i in. 2013, Marciniak i in. 2023). Badania własne nie potwierdziły pozytywnej interakcji mT z KAR₁. Wpływ samej KAR₁ na badane parametry biometryczne był bardziej znaczący niż w połączeniu z mT. W badaniach własnych wykazano wpływ KAR₁ na większość badanych parametrów względem mT oraz mT w połączeniu z KAR₁, dodatkowo jednak wpływ KAR₁ nie był różny od kontroli. W przypadku masy roślin, 19 genotypów posiadało taką samą masę jak rośliny kontrolne, ale wyższą niż te uprawiane na pożywce suplementowanej mT oraz mT z dodatkiem KAR₁. Podobną zależność wykazano dla masy cebul (16 genotypów), długości liści (15 genotypów) oraz długości korzeni (15 genotypów). W przypadku liczby korzeni widać było istotny wpływ KAR₁ na ich liczbę dla 15 badanych genotypów. Średnio jedna roślina uprawiana na pożywce z dodatkiem KAR₁ posiadała 0,95 korzenia więcej niż te uprawiane na pożywce kontrolnej. Podobny efekt KAR na zwiększenie liczby korzeni uzyskali w swoich badaniach Aremu i inni (2016). Suplementacja pożywki KAR₁ w stężeniu 10⁻⁸ M spowodowała zwiększenie liczby korzeni mikrosadzonek *Eucomis autumnalis*. Według badań Yang i inni (2019) KAR stymuluje rozwój nowych korzeni u *A. thaliana*. Zjawisko to wg Villaecija-Aguilar i innych (2019) oraz Swarbreck (2021) jest powiązane ze szlakiem sygnalizacji KAI2/MAX2/SMAX1. Co ciekawe, sygnalizacja strigolaktonów (SL) i KAR wspólnie kontroluje liczbę korzeni bocznych, podczas gdy większość cech korzeni, w tym kierunek wzrostu korzeni, prostoliniowość korzeni i rozwój włóśników, określana jest wyłącznie przez sygnalizację KAR. Kluczowym jest zatem prowadzenie dalszych badań nad mT oraz KAR (Villaecija-Aguilar i in. 2019).

Ostatnim, bardzo ważnym etapem produkcji roślinnej z wykorzystaniem kultur *in vitro* jest etap aklimatyzacji. Na jego powodzenie ma wpływ wiele czynników, np.:

warunki środowiskowe panujące w pokoju wzrostowym czy szklarni, warunki fizykochemiczne podłoża (Chandra i in. 2010) czy suplementacja aklimatyzowanych roślin związkami wspomagającymi ten proces (Masondo i in. 2022). Do takich należą zarówno regulatory wzrostu, jak użyta w pracy KAR₁, czy biostymulatory – Goteo i Folium. Ich zadaniem jest wsparcie roślin w procesie adaptacyjnym do nowych warunków, często polegające na zahamowaniu reakcji stresowych. Badania Santnera i innych (2009) potwierdzają zaangażowanie roślinnych regulatorów wzrostu w odpowiedzi roślin na stres. Fitohormony to substancje, które nawet w niewielkich ilościach wpływają na metabolizm i procesy fizjologiczne w roślinach. W badaniach własnych dowiedziono, że działanie zarówno regulatorów, jak i biostymulatorów jest swoiste dla badanego genotypu.

Z przeprowadzonych badań wynika, że KAR₁ w procesie aklimatyzacji wpływa na wzrost wartości takich parametrów jak: masa roślin u 30% badanych genotypów średnio o 0,60 g, liczba liści o 0,60 szt. u 20%, liczba korzeni o 1,94 szt. u 95% oraz długość korzeni o 1,11 cm u 20% genotypów, w porównaniu do roślin kontrolnych. W przypadku liczby korzeni rośliny traktowane KAR₁ (10⁻⁹ M) cechowały się nawet wyższą ich liczbą niż w przypadku innych traktowań – np.: względem Goteo wyższe wyniki uzyskano dla 9 genotypów. Pozytywny efekt KAR potwierdzają liczne doniesienia literaturowe, jednak mówią one głównie o stymulowaniu procesu kiełkowania nasion oraz na przeciwdziałaniu oddziaływania czynników stresowych, poprawiając parametry wzrostowe siewek i starszych roślin (Yang i in. 2019, Çatav i in. 2021, Küçükakyüz i Çatav 2021, Fang i in. 2023). Na przykładzie wyników własnych otrzymanych na etapie aklimatyzacji można przypuszczać, że stosowanie KAR w trakcie tego procesu może skutecznie poprawić jego efektywność, ale również przyczynić się do lepszego późniejszego wzrostu i rozwoju otrzymanych roślin. Wynikać to może z reakcji łagodzenia stresów związanych ze zmianą warunków uprawy. Powstawanie reaktywnych form tlenu, a w konsekwencji aktywacja enzymów stresu oksydacyjnego oraz innych procesów ochronnych jest dla roślin charakterystyczną metodą przeciwdziałania tym niekorzystnym zjawiskom. Potwierdzają to badania Dixon i innych. (2009), Kim i innych (2017), Li i innych (2017b), Banerjee i innych (2019), Ahmad i innych (2021).

W przypadku wykorzystanych biostymulatorów – Goteo i Folium, na badane parametry korzystny efekt w procesie aklimatyzacji przyniosło zastosowanie pierwszego z nich. Względem roślin kontrolnych Goteo spowodował wzrost masy roślin

u 4 genotypów o średnio 0,60 g (20% populacji), zwiększenie liczby korzeni o 1,20 szt. u 14 (70%) oraz ich długości o 0,97 cm u 8 (40%). Podobną zależność dla cech korzeni przedstawili w swoich badaniach Lindsey i inni (1998), jednak do aklimatyzacji wykorzystali oni inny preparat zawierający, podobnie jak Goteo, wyciąg z alg morskich (*Ecklonia maxima*) – Kelpak. Uzyskali oni wyższą masę korzeni w przypadku obu badanych gatunków – *Kniphofia pauciflora* i *Scilla kraussii*, co oznaczać może, że było ich więcej lub były one dłuższe w stosunku do roślin nietraktowanych tym biostymulatorem. Grzelak i inni (2024) w swoim doświadczeniu dotyczącym procesu aklimatyzacji roślin jeżówki purpurowej (*Echinacea purpurea*) również wykorzystali biostymulator Goteo. Wykazali oni, że zastosowanie tego preparatu pozwoliło na uzyskanie roślin o znacznie dłuższych korzeniach, jednak nie miał on wpływu na ich liczbę w odniesieniu do kontroli. Dodatkowo dla aklimatyzowanych roślin jeżówki policzono liczbę liści. Okazało się, że w odniesieniu do kontroli nie było ich więcej u roślin traktowanych biostymulatorem Goteo. W badaniach własnych uzyskano analogiczne wyniki dla 9 z 20 badanych genotypów, co stanowi blisko połowę całej badanej populacji.

Jednym z założeń pracy było zbadanie wpływu wybranych czynników na parametry biometryczne badanych genotypów *Hippeastrum*, rozmnożonych *in vitro*, po 7 tygodniach uprawy w kontrolowanych warunkach pokoju wzrostowego (fitotronu) (21°C oraz 16-godzinny dzień). Podwyszyńska i Nowak (2004) przeprowadzili podobne badania, w których badali m.in. wpływ nawożenia oraz warunków uprawy (pole, szklarnia, fitotron) na wzrost i rozwój cebul tulipana – analogicznie jak badane *hippeastrum*, uzyskanych metodą kultur tkankowych. Otrzymane wyniki wykazały niekorzystny wpływ wysokiej temperatury na przyrost masy cebul w uprawie szklarniowej. Odnosząc te wyniki do badań własnych, stałe kontrolowane warunki uprawy mogą dostarczyć rzetelniejszych informacji na temat wpływu poszczególnych substancji wykorzystanych w doświadczeniu.

W badaniach własnych zaobserwowano wpływ wszystkich użytych w doświadczeniu traktowań na masę roślin. Zastosowanie nawozu Kristalon spowodowało wzrost masy w przypadku 18 genotypów, co stanowi 90% badanej populacji. Kolejno, zastosowanie Folium i KAR₁ - wpływ na wzrost masy dla 60% genotypów oraz Goteo - dla 50% genotypów względem roślin podlewanych wodą. W przypadku 13 genotypów - nawożenie Kristalonem spowodowało uzyskanie

największej masy roślin, zwiększając ją średnio o 3,21 g, co oczywiście nie jest zaskoczeniem.

Pojawiają się nieliczne doniesienia na temat wykorzystania nawozu Kristalon Zielony w uprawie roślin ozdobnych, który wspomaga odżywienie, a co za tym idzie lepszy wzrost i rozwój roślin (Czuchaj i Szczepaniak 2006, Guzikowski i Szczepaniak 2013, Krzymińska i in. 2017). Dlatego w doświadczeniach własnych postanowiono wybrać ten wieloskładnikowy nawóz i ocenić jego wpływ na wzrost i rozwój roślin *Hippeastrum*. W swoich badaniach Inkham i inni (2022) wykazali, że *Hippeastrum* 'Red Lion' zasilane 2,5 g i 5 g dawką nawozu 15-15-15 (N-P-K) na doniczkę miesięcznie wpłynęło na odpowiednie odżywienie cebul, co przekładało się na późniejszy wzrost i jakość roślin. Masy cebul nawożonych dawką 2,5 g (200,6 – 426,1 g) i dawką 5 g (221,3 – 511,5 g) były istotnie większe od masy cebul roślin nienawożonych (170,1 – 274,9 g). Wyniki wskazują również, że brak nawożenia zmniejszył wysokość roślin i liczbę liści, co wykazano w badaniach własnych dla *hippeastrum*. Wynika to z faktu, że liście są głównym źródłem produkcji składników odżywczych dla roślin w procesie fotosyntezy, a cebule są organem spichrzowym, w którym przechowywane są materiały zapasowe. Wojdyła (2019) w swoich doświadczeniach z użyciem biostymulatora Folium 0,1% w ochronie róży przed mączniakiem wykazał, że jego dodatek spowodował wzrost świeżej masy roślin względem kontroli. Dodatkowo, w połączeniu z badanymi fungicydami odnotowano wzrost świeżej masy roślin o 11,3 – 23,8%, w porównaniu do roślin kontrolnych. W badaniach Uddin i inni (2023) zastosowanie roztworu KAR₁ w stężeniu 10⁻⁹ M do moczenia kłączy mięty (*Mentha arvensis*) spowodowało wzrost masy roślin (69,06 g) względem roślin kontrolnych, które osiągnęły masę 59,70 g. Podobnie w badaniach własnych to samo stężenie KAR₁ spowodowało wzrost masy roślin dla 6 genotypów. W przypadku drugiego biostymulatora – Goteo, podobne wyniki z jego zastosowaniem w stężeniu (0,1%) uzyskali Sochacki i inni (2017) badając wpływ na dwa genotypy lili 'Brindisi' (mieszaniec LA) oraz 'Santander' (mieszaniec orientalny). Wykazali oni, że dla obu badanych genotypów zastosowanie biostymulatora Goteo wpłynęło na przyrost masy cebul. Dla odmiany 'Brindisi' o 0,69 g, a dla 'Santander' o 0,28 g względem roślin kontrolnych.

W przypadku liczby liści badanych genotypów *hippeastrum*, zastosowanie nawozu Kristalon Zielony i biostymulatora Folium spowodowało zwiększenie ich liczby w porównaniu do roślin podlewanych wodą. Nawóz zwiększył wartość tego parametru

dla 95% badanych roślin, a w 8 przypadkach (40%) liczba liści była najwyższa i wynosiła średnio o 1,09 szt. więcej niż u roślin kontrolnych. Biostymulator Folium zaś wpłynął na wzrost liczby liści dla 75% genotypów, jednakże w 11 przypadkach (55%) badanej populacji były to wartości takie same jak uzyskane dla traktowań nawozem. Inkham i inni (2022) w swoich badaniach również uzyskali dłuższe liście u roślin *Hippeastrum* po zastosowaniu nawozu 15-15-15 (N-P-K) w dawce 5 g na miesiąc. Rośliny posiadały o 1,5 szt. więcej liści niż rośliny kontrolne.

Zastosowanie nawozu Kristalon spowodowało wydłużenie się liści w przypadku 12 genotypów (60%) o 4,51 cm, zastosowanie Goteo w 7 przypadkach (35%) o 3,20 cm, a Folium u 8 genotypów (40%) o 4,49 cm. Dodatkowo zaobserwowano, że w 30% zastosowanie Folium dało taki sam efekt jak zastosowanie Kristalonu Zielonego. Wg Sochackiego i innych (2018) zastosowanie nawozu Florovit 0,2% spowodowało wzrost długości liści klonu 18 *H. ×chmielii* (34,70 cm) względem roślin kontrolnych (30,10 cm). Można zaobserwować taką tendencję również w roślinach klonu 18 oraz odmiany 'Double Roma' traktowanych biostymulatorem Goteo. W obu przypadkach liście były dłuższe o 1,60 i 1,20 cm od liści roślin kontrolnych.

Wykazano wpływ wszystkich stosowanych substancji na liczbę korzeni. Największą liczbę korzeni uzyskano u 18 genotypów (90% badanej populacji) traktowanych KAR₁, średnio o 4,42 szt. na jedną cebulę. W przypadku biostymulatora Goteo, parametr ten zwiększył się o 3,26 szt. dla 10 genotypów (50%). Kolejno wyższą liczbę korzeni (średnio o 2,45 szt.) uzyskano dla 12 genotypów (60%) roślin traktowanych nawozem Kristalon Zielony. Wiadome jest, że KAR może wpływać na procesy ryzogenezy w interakcji z etylenem. Tak zwana „sygnalizacja karrikinowa” reguluje procesy biosyntezy etylenu, co skutkuje zmienioną architekturą bryły korzeniowej (Carbonnel i in. 2020). KAR łączą się z enzymem hydrolitycznym KAI2 (KAI2 α/β), zmieniając jego konformację tak, aby mógł oddziaływać z MAX2, tworząc kompleks z białkiem supresorowym SMAX1. SMAX1 ulega ubikwitynacji i degradowany jest przez proteasom 26S. Skutkuje to syntezą ACS7 (kodującego prekursora etylenu ACC), co prowadzi do zwiększonej syntezy etylenu (Morffy i in. 2016, Banerjee i in. 2019, Antala i in. 2020, Swarbreck 2021). Proces ten wykazano w badaniach przeprowadzonych na przedstawicielu wodnych geofitów – *Lotus japonicus*, gdzie hamował on wzrost korzenia pierwotnego i stymulował wydłużanie włóśników. Sadzonki mutantów białka SMAX1 miały do 50% krótsze korzenie

pierwotne i do 300% dłuższe włósniki niż kontrola, przy znacznie zwiększonej biosyntezie etylenu. Tak więc sygnalizacja karrikinowa reguluje biosyntezę etylenu, a tym samym wpływa na rozwój i wygląd systemu korzeniowego (Carbonnel i in. 2020). W przypadku *Arabidopsis* wykazano, że KAI2 kontroluje zaginanie korzeni (kąć do pionu), gęstość i długość włósników korzeniowych, wpływając w ten sposób na architekturę systemu korzeniowego (Swarbreck i in. 2019).

Dla *Goteo* podobną zależność wykazali Sochacki i inni (2017). Traktowanie roślin biostymulatorem pozwoliło na wytworzenie większej liczby korzeni o 0,60 szt. u odmiany 'Santander' w porównaniu z roślinami kontrolnymi. Obecność zawartych w *Goteo* pierwiastków takich jak fosfor i potas, a dodatkowo wyciągu z alg morskich (*Ascophyllum nodosum*) może wspomagać rozwój systemu korzeniowego. Wg Widłak (2016) fosfor w naturalnych warunkach występuje w związkach organicznych i mineralnych gleby i wspomaga rozbudowę systemu korzeniowego roślin.

W większości badanych genotypów nie wykazano wpływu stosowanych substancji na długość korzeni. Taką zależność wykazano dla 12 genotypów, co stanowi 60% badanej populacji.

Uzyskane wyniki wskazują, iż konieczne jest prowadzenie dalszych badań z wykorzystaniem biostymulatorów i regulatorów wzrostu w celu określenia ich wpływu na parametry biometryczne oraz organy spichrzowe ozdobnych geofitów.

Cukry pełnią różne zadania w roślinach, dlatego węglowodany można podzielić na trzy grupy funkcyjne. Pierwsza to węglowodany strukturalne, budulcowe. Przykładami są celuloza lub hemiceluloza ściany komórkowej. Drugą grupą są to węglowodany zapasowe, takie jak skrobia, fruktany (Nelson i Spollen 1987) czy glukomannany. Trzecia grupa to cukry metaboliczne, takie jak np.: sacharoza, glukoza czy fruktoza. *Hippeastrum* posiada cebulę jako wieloletnią strukturę, która jest rezerwuarem węglowodanów zapasowych mogących odgrywać główną rolę w procesach wzrostu i rozwoju (Miller 1992). Taką zależność wykryto w cebulach lachenalii (*Lachenalia minima*) (Toit i in. 2004) czy należącej do tej samej rodziny, śnieżyczki przebiśnieg (*Glanthus nivalis*) (Orthen i Wehrmeyer 2004). W badaniach własnych skupiono się na wpływie różnych czynników na zawartości węglowodanów z drugiej grupy – skrobi oraz fruktanów. Główną różnicą między skrobią, a fruktanami, poza ich strukturą, jest lokalizacja komórkowa i rozpuszczalność. Skrobia jest nierozpuszczalna

i zlokalizowana w plastydach, podczas gdy fruktany są rozpuszczalne w wodzie i przechowywane w wakuolach (Pilon-Smits i in. 1995). Jest to niezwykle istotne w przypadku tej grupy roślin, ponieważ wyższa koncentracja cukrów poprawia zdolność przechowalniczą organów spichrzowych, a w konsekwencji stymuluje to roślinę do intensywnego wzrostu, ale również pozwala na obfite kwitnienie. Badania sugerują, że fruktany uczestniczą w mechanizmach regulacji osmotycznej chroniących rośliny przed suszą, niską temperaturą i wysokim zasoleniem (Livingston i in. 2009, Garcia i in. 2011, Rigui i in. 2015). W badaniach Jirakiattikul (1999) wysokie stężenie fruktanów w cebulach *Hippeastrum* potwierdziło, że fruktany są ważnym węglowodanem magazynującym. Znaczny spadek koncentracji fruktanów podczas kwitnienia pokazał, że były one zaangażowane w proces rozwoju kwiatu, a hydroliza enzymatyczna fruktanów w łuskach i przemieszczanie się cukrów prostych w pędzie kwiatostanowym wskazuje, że są one zaangażowane w rozwój kwiatów i kwiatostanów. Odkrycie to było zgodne z badaniami opublikowanymi przez Lambrechtsa i innych (1994), gdzie fruktany zaczęły gromadzić się w łodydze wstępnie schłodzonych cebul tulipana.

Dostępne dane literaturowe na temat zawartości skrobi i fruktanów w roślinach pokazują, że akumulacja tych cukrów może być warunkowana pochodzeniem, predyspozycjami do magazynowania konkretnego cukru, a także fazy rozwojowej (zwłaszcza w przypadku geofitów). Nawet u blisko spokrewnionych ze sobą gatunków, dwóch genotypów cykorii: cykorii podróżnik (*Cichorium intybus*) i endywii (*Cichorium endivia*) zawartość skrobi w liściach różni się istotnie (Moscatello i in. 2023). Także Ranwala i inni (2008) określając zawartości skrobi i fruktanów dla wybranych gatunków geofitów, wykazali w niektórych przypadkach skrajne różnice pomiędzy ich koncentracją u tego samego osobnika oraz różnice między gatunkami. W przypadku czosnków zawartość fruktanów wynosiła dla czosnku karatawskiego (*Allium karataviense*) 'Ivory Queen' 439 mg·g⁻¹s.m., czosnku okazałego (*A. hollandicum*) 'Purple Sensation' 478 mg·g⁻¹s.m., a czosnku neapolitańskiego (*A. neapolitanum*) 505 mg·g⁻¹s.m. Co ciekawe w gatunkach tych w ogóle nie wykryto skrobi. Innym przebadanym gatunkiem była śnieżyczka przebiśnieg (*Galanthus nivalis*), która posiadała 492 mg·g⁻¹s.m. skrobi, z czego tylko 149 mg·g⁻¹s.m. w cebulach. Również dla narcyzów (*Narcissus*) wykazano znaczne różnice w zawartości tych węglowodanów zapasowych. Odmiany 'Tête-à-Tête', 'Minnow' czy 'Carlton' posiadały odpowiednio 664, 564 i 685 mg·g⁻¹s.m. skrobi i tylko 30, 85 i 33 mg·g⁻¹s.m. fruktanów w swoich cebulach. Wyniki innych badań (Petkova

i in. 2019) określających zawartość fruktanów w materiale zielnym czosnków także wykazują znaczne różnice pomiędzy gatunkami: u szczypiorku (*A. schoenoprasum*) 56,60 mg·g⁻¹s.m., u czosnku niedźwiedziego (*A. ursinum*) 22,00 mg·g⁻¹s.m, a u czosnku bułgarskiego (*A. siculum*) 23,10 mg·g⁻¹s.m. Wyniki takie wskazują jasno, że rośliny należące nawet do jednego rodzaju botanicznego, mogą mieć różną zawartość fruktanów w różnych miejscach ich magazynowania w roślinach. Orthen (2001) raportuje, że stosunek fruktanów do skrobi w cebulach lachenalii (*Lachenalia minima*) wynosił 1,4, co wskazuje, że oba cukry gromadzone były w podobnych ilościach. Podczas przejścia z fazy spoczynku do fazy wzrostu i rozwoju zawartość fruktanów pozostawała na dość stałym poziomie ok. 400 mg·g⁻¹s.m., podczas gdy całkowita zawartość skrobi spadła z 369 mg·g⁻¹s.m. do 256 mg·g⁻¹s.m.

Na podstawie własnych analiz akumulacji skrobi w 15 badanych klonach hodowlanych i ich formach rodzicielskich widać, że cukier ten gromadził się w większych ilościach aż w 6 genotypach potomnych (0037-13, 0050-16, 0072-17, 0004-04, 0004-05 i 0015-03) w porównaniu do ich form rodzicielskich. Kolejną grupę stanowiły klony, które gromadziły więcej skrobi niż formy mateczne, ale mniej niż formy ojcowskie. Były to 4 genotypy: 0040-31, 0050-15, 0023-11 i 0062-10. Dwa klony hodowlane 0003-13 i 0017-01 koncentrowały więcej skrobi niż formy mateczne, ale tyle samo co formy ojcowskie. Jeden genotyp 0021-10 posiadał mniej skrobi niż forma ojcowska i tyle samo co forma mateczna, a klony 0033-10 i 0075-25 miały mniejszą zawartość tego cukru niż obie formy wyjściowe. Dla fruktanów podobną zależność wykazano tylko w dwóch przypadkach. Pierwszy z nich to 8 genotypów (0037-13, 0040-31, 0050-15, 0050-16, 0072-17, 0004-05, 0015-03 i 0017-01), które kumulowały więcej niż obie formy wyjściowe. Drugi przypadek to 7 genotypów (0033-10, 0003-13, 0004-04, 0021-10, 0023-11, 0062-10 i 0075-25), w których zawartość fruktanów w cebulach była wyższa niż u formy ojcowskiej, ale niższa niż u formy matecznej.

Wydaje się zatem, że programy hodowlane dla geofitów, w tym także dla *Hippeastrum*, powinny nie tylko skupiać się na selekcjonowaniu roślin o kompaktowym pokroju czy dekoracyjnych kwiatach, co jest oczywistym priorytetem w hodowli roślin ozdobnych, ale zwracać również uwagę na możliwości genotypu do magazynowania większych ilości cukrów w cebulach. To bowiem przyczyni się do otrzymywania odmian lepiej przystosowanych do wymagań produkcji ogrodniczej oraz do warunków zmieniającego się klimatu.

Zastosowanie egzogennych czynników, takich jak niska podaż azotu, niska temperatura czy susza może wpłynąć na zmiany zawartości skrobi i fruktanów w roślinach oraz organach ich akumulacji (Wang i Tillberg 1996, Garcia i in. 2011, Suárez-González i in. 2014, Abeynayake i in. 2015, Trevisan i in. 2014, Dien i in. 2019). Wg Treder (2002) zastosowanie doświetlania w uprawie lili odmiany 'Stargazer' spowodowało wzrost zawartości skrobi zarówno w łuskach cebul matecznych, jak i łuskach cebul potomnych. Wg Engelbrecht i innych (2010) zawartość skrobi w cebulach lachenalii (*Lachenalia*) spadła z 7,15% u roślin nienawożonych fosforem do 6,75% przy dawce 80 kg P ha⁻¹. Jednak najwyższą zawartość skrobi w cebulach roślin odnotowano przy dawce 10 kg ha⁻¹. Dodatkowo widoczne jest współdziałanie azotu i fosforu, które znacząco wpływa na zawartość skrobi w cebulach, ale nie wykazuje wyraźnego trendu. Wyniki uzyskane przez Wanga i Tillberga (1996) pokazują, że niedobór azotu w przypadku jęczmienia zwyczajnego (*Hordeum vulgare*) spowodował wzrost zawartości skrobi do 200% i fruktanów do 700% w stosunku do kontroli. Badania te wskazują, że fruktany są głównym węglowodanem gromadzonym w liściach pod wpływem niedoboru azotu. Podobną zależność w swoich badaniach wykazali Moscatello i inni (2023) badając zawartość fruktanów w spichrzowych korzeniach endywi (*Cichorium endivia*). Traktowanie roślin azotanem wapnia Ca(NO₃)₂ spowodowało zwiększenie zawartości fruktanów względem roślin kontrolnych.

W badaniach własnych traktowanie roślin poszczególnymi substancjami spowodowało wzrost lub ograniczenie zawartości skrobi w cebulach. U wszystkich form wyjściowych oraz klonów hodowlanych, traktowanie KAR₁ spowodowało nagromadzenie w cebulach średnio największej ilości skrobi. Widać również znaczący wpływ obniżenia kumulacji skrobi po zastosowaniu nawozu Kristalon Zielony u wszystkich genotypów w porównaniu do traktowań biostymulatorem Goteo i regulatorem KAR₁. Wynikać to może z tego, że roślina mająca stały dostęp do składników mineralnych kontynuuje intensywny wzrost i rozwój, a pomija proces akumulacji węglowodanów zapasowych w cebuli. W przypadku Folium efekt ten był różny. Dla genotypów pochodzących ze skrzyżowania klonu 6 *H. ×chmielii* z odmianą 'Gervase' i 'Royal Velvet', koncentracja skrobi po traktowaniu tym biostymulatorem była wyższa niż w kombinacji z nawozem Kristalon. Dla klonu 18 *H. ×chmielii* oraz odmian 'Gervase' i 'Rio Negro', a także klonów potomnych pochodzących z tych krzyżowań, koncentracja była taka sama dla nawożenia i biostymulacji, a w przypadku

genotypów pochodzących z krzyżowania klonu 18 z 'Royal Velvet', zawartość skrobi w cebulach nawożonych była wyższa niż po zastosowaniu biostymulatora Folium. Analogicznie dla fruktanów, średnia zawartość tego cukru w cebulach większości badanych genotypów była najwyższa względem pozostałych traktowań po zastosowaniu KAR₁. Również i w tym przypadku zastosowanie nawozu Kristalon Zielony obniżyło średnią koncentrację tego cukru w cebulach względem biostymulatora Goteo i regulatora KAR₁. Zastosowanie biostymulatora Folium spowodowało obniżenie zawartości fruktanów u wszystkich genotypów względem zastosowanego nawożenia.

7. Podsumowanie i wnioski

Zwartnica (*Hippeastrum* sp.) jest jednym z chętniej uprawianych geofitów, zarówno na kwiat cięty, jak i jako roślina doniczkowa, a z roku na rok zyskuje na popularności. Stawia to nowe wyzwania przed ogrodnikami, ale także hodowcami. Na ogrodnikach wymusza to zwiększenie produkcji materiału wysokiej jakości, aby sprostać wzrastającemu zapotrzebowaniu coraz bardziej wymagającego rynku. W produkcji ogrodniczej cebule *hippeastrum* pozyskuje się z plantacji reprodukcyjnych, rozmnaża przez sadzonki dwułuskowe lub metodą *in vitro*. W przypadku mikrorozmnażania, metoda wymaga ciągłego doskonalenia i zwiększania efektywności. Uwaga skupia się na stosowaniu różnych roślinnych regulatorów wzrostu lub ich naturalnych zamienników dodawanych do pożywek. Z jednej strony bada się zatem nowe grupy regulatorów lub nowe substancje z poznanych już grup, z drugiej zaś biostymulatory, których wpływ w uprawie roślin jest już dość dobrze poznany, jednak doniesień o ich działaniu w kulturach *in vitro* jest wciąż bardzo mało. Mikrosadzonki otrzymane *in vitro* aklimatyzuje się i uprawia do momentu, aż ich cebule osiągną właściwą wielkość i staną się materiałem handlowym. W celu skrócenia okresu juvenilnego roślin stosuje się nawozy, ale także różne preparaty z grupy biostymulatorów i regulatorów wzrostu, które wpływają stymulująco na wzrost i rozwój roślin. Wpływają też na architekturę bryły korzeniowej, a co za tym idzie zwiększają zdolności roślin do pobierania makro- i mikroelementów. W cebulach zwiększa się też zawartość niezwykle istotnych cukrów zapasowych, które wpływają na zdolność przechowalniczą cebul, a w późniejszym etapie na wzrost i rozwój roślin oraz kwitnienie.

Blisko 200-letnia hodowla *Hippeastrum* przyczyniła się do powstania licznych odmian, które dostępne są na rynkach całego świata. Dziś większość z nich pochodzi z Niderlandów, Republiki Południowej Afryki czy USA, ale również z Indii, Chin i Japonii. Brak – jak dotąd - odmian wyhodowanych w Polsce, choć w Szkole Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie w 1993 roku uzyskany został mieszaniec *Hippeastrum* × *chmii*, z którego populacji wyselekcjonowano i rozmnożono wegetatywnie co najmniej kilkanaście ciekawych klonów hodowlanych. Żaden jednak nie został skomercjalizowany jako odmiana. Duża liczba odmian na rynku oraz ich zróżnicowanie pod względem morfologicznym, spowodowała wyodrębnienie 9 grup międzynarodowej klasyfikacji ogrodniczej w celu ich usystematyzowania. UPOV

opracowuje deskryptory morfologiczne do przeprowadzania testów na odrębność, wyrównanie i trwałość nowych odmian roślin uprawnych. W 2001 roku UPOV opracowała taki deskryptor dla rodzaju *Hippeastrum* (*Amaryllis*). W przypadku badania odrębności odmianowej, wykorzystuje się również markery genetyczne i molekularne, które są niezwykle pomocne, a czasami niezbędne w identyfikacji i ocenie nowych mieszańców.

Z dawnych klonów *H. ×chmielii*, w nowym programie hodowlanym SGGW rozpoczętym w 2018 roku wykorzystano klony 6 i 18 jako formy mateczne oraz trzy odmiany 'Gervase', 'Rio Negro' oraz 'Royal Velvet' jako ojcowskie. Celem było uzyskanie genotypów o atrakcyjniejszych kwiatach, mogących w przyszłości stać się nowymi polskimi odmianami. Uzyskana z tych krzyżowań populacja siewek mieszańcowych, a w dalszej konsekwencji wyselekcjonowanych i rozmnożonych wegetatywnie pojedynków, stała się bazą genetyczną dla dalszej oceny, prac hodowlanych, ale i badawczych. Dodając do tego wyzwania związane z koniecznością doskonalenia metody mikrorozmnażania *Hippeastrum*, aklimatyzacji mikrosadzonek i ich początkowego etapu uprawy, w niniejszej pracy doktorskiej podjęto badania mające na celu ocenę zróżnicowania morfologicznego i genetycznego klonów hodowlanych i ich form wyjściowych oraz udoskonalenie metody mikrorozmnażania *Hippeastrum*. Do badań wytypowano 15 klonów, po 3 z każdego efektywnego krzyżowania przeprowadzonego w 2018 roku, po wstępnej selekcji przeprowadzonej w roku pierwszego masowego kwitnienia uzyskanych siewek. Badaniem objęto także formy mateczne i ojcowskie. Badania obejmowały ocenę fenotypową, określenie liczby chromosomów, poziomu ploidalności i wielkości genomu, określenie liczby i długości aparatów szparkowych, zbadanie stopnia pokrewieństwa klonów hodowlanych oraz form wyjściowych przy użyciu markerów RAPD i ISSR. W celu udoskonalenia metody mikrorozmnażania przeprowadzono eksperymenty nad wpływem nowych regulatorów wzrostu, w tym KAR₁ i mT, a także dwóch wybranych biostymulatorów Goëmar Goteo i Agro-Sorb[®] Folium na wydajność samego mikrorozmnażania, jak i aklimatyzacji mikrosadzonek *ex vitro* i ich dalszej uprawy. Dodatkowo przeprowadzono analizę biochemiczną zawartości skrobi i fruktanów w cebulach form rodzicielskich i klonów hodowlanych.

Uzyskane w pracy wyniki pozwalają na wyciągnięcie następujących wniosków:

1. Na podstawie oceny fenotypowej z użyciem deskryptora UPOV i katalogu barw RHS wytypowano trzy klony hodowlane (0037-13, 0021-10 i 0023-11) o wyróżniających się cechach względem form matecznych *H. ×chmielii*.
2. Liczba chromosomów, a w konsekwencji poziom ploidalności badanej populacji *Hippeastrum*, różnicuje genotypy na jednego diploida ($2n = 2x = 22$), cztery triploidy ($2n = 3x = 33$) i piętnaście tetraploidów ($2n = 4x = 44$).
3. Wielkość genomów badanej populacji kształtuje się w przedziale od 32,63 do 62,23 pg. Odmiana 'Gervase' jako jedyna jest miksoploidem i posiada dwa genomy, jeden tetraploidalny i drugi aneuploidalny, wykryty analizą wielkości genomu.
4. Biostymulatory Goëmar Goteo i Agro-Sorb® Folium dodawane do pożywek w mikrorozmnażaniu *Hippeastrum*, wpływając na wzrost masy roślin, liczby korzeni, długości liści i korzeni, mogą być alternatywą dla syntetycznych regulatorów wzrostu.
5. Biostymulator Goëmar Goteo w warunkach aklimatyzacji roślin powoduje wzrost liczby i długości korzeni, a po 7 tygodniowym cyklu uprawowym wzrost masy roślin i liczby korzeni. Agro-Sorb® Folium powoduje wzrost masy roślin i liczby liści.
6. Karrikinina (KAR_1) istotnie wpływa na wzrost liczby korzeni u większości genotypów *in vitro* oraz *ex vitro*. Zastosowanie KAR_1 podczas aklimatyzacji w blisko połowie przypadków skutkowało zwiększeniem liczby korzeni w porównaniu do Goteo.
7. Aromatyczna cytokinina z grupy topolin (mT) dodawana do pożywki *in vitro* wykazuje niewielki wpływ na współczynnik namnażania cebul i wyraźnie ogranicza wzrost korzeni *in vitro*, a równocześnie hamuje wpływ działania KAR_1 .
8. Aparaty szparkowe w przypadku badanej populacji *Hippeastrum* mogą być markerem morfologicznym poziomu ploidalności, a ich długość jest odwrotnie skorelowana z liczbą.
9. Markery RAPD i ISSR potwierdzają wysokie podobieństwo genetyczne form wyjściowych i klonów potomnych.
10. Nawóz Kristalon Zielony stosowany podczas pierwszego cyklu uprawowego roślin rozmnożonych *in vitro* powoduje wzrost masy roślin, liczby liści i korzeni oraz długości liści, ale obniża zawartość cukrów zapasowych w cebulach – skrobi i fruktanów.

11. Większą zawartość skrobi względem obu form rodzicielskich posiada 6 z 15 genotypów potomnych, a w przypadku fruktanów 8 genotypów, co czyni je lepiej przystosowanymi do produkcji ogrodniczej oraz warunków zmieniającego się klimatu.
12. Zastosowanie KAR₁ zwiększa zawartość cukrów w cebulach *Hippeastrum*. Nawóz Kristalon Zielony obniża zawartość obu cukrów względem biostymulatora Goteo i KAR₁.

Przeprowadzone badania pozwoliły na wytypowanie kilku obiecujących klonów *Hippeastrum*, które mogą potencjalnie stać się nowymi polskimi odmianami, a równocześnie potwierdzono ich pokrewieństwo genetyczne z formami rodzicielskimi i określono poziom ploidalności. Udało się wykazać możliwości zastąpienia klasycznych syntetycznych regulatorów wzrostu dodawanych do pożywek *in vitro* naturalnymi biostymulatorami, a także udowodnić pozytywne działanie zupełnie nowego regulatora wzrostu jakim jest KAR₁, zarówno na etapie rozmnażania *in vitro*, aklimatyzacji *ex vitro* jak i na etapie pierwszego cyklu uprawowego roślin uzyskanych metodą mikrorozmnażania. Wszystkie te wyniki pozwalają zwiększyć wydajność procesu rozmnażania *Hippeastrum* nowoczesnymi metodami, ukierunkować je na stosowanie biopreparatów oraz zwiększyć jakość uzyskanego materiału nasadzeniowego, w tym o zwiększonej zawartości cukrów zapasowych.

8. Literatura

1. **Abbas S.M., Akladios S.A. 2013.** Application of carrot root extract induced salinity tolerance in cowpea (*Vigna sinensis* L.) seedlings. *Pakistan Journal of Botany* 45: 795-806.
2. **Abdoli M., Moieni A., Badi H.N. 2013.** Morphological, physiological, cytological, and phytochemical studies in diploid and colchicine-induced tetraploid plants of *Echinacea purpurea* (L.). *Acta Physiologiae* 35: 2075-2083.
3. **Abeynayake S.W., Etzerodt T.P., Jonavi-ijen-ù K., Byrne S., Asp T., Boelt B. 2015.** Fructan metabolism and changes in fructan composition during cold acclimation in perennial ryegrass. *Frontiers in Plant Science* 6: 329.
4. **Agro-Sorb® Folium 2024.**
<https://agro-sorb.com/agro-sorb-folium/> [Data dostępu: 10.09.2023]
5. **Ahmad A., Shahzadi I., Mubeen M., Yasin N.A., Akram W., Kan W.U., Wu T. 2021.** Karrikinolide alleviates BDE-28, heat and Cd stressors in *Brassica alboglabraby* correlating and modulating biochemical attributes, antioxidative machinery and osmoregulators. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 213: 1-11.
6. **AIPH 2023.** International Statistics Flowers And Plants 2023. Centre for Business Management in Horticulture and Applied Research University Hohenheim, Germany 71: 128-132.
7. **Akeel A., Khan M.M.A., Jaleel H., Uddin M. 2019.** Smoke-saturated water and karrikinolide modulate germination, growth, photosynthesis and nutritional values of carrots (*Daucus carota* L.). *Journal of Plant Growth Regulation* 38: 1387-1401.
8. **Albach D.C., Greilhuber J. 2004.** Genome size variation and evolution in *Veronica*. *Annals of Botany* 94: 897-911.
9. **Almeida N.V., Rivas E.B., Cardoso J. C. 2022.** Somatic embryogenesis from flower tepals of *Hippeastrum* aiming regeneration of virus-free plants. *Plant Science* 317: 1-8.
10. **Almeida N.V.D., Saziki C.Y.N., Cardoso J.C. 2019.** Characterization of cultivars and low-temperature pollen grain storage in amaryllis (*Hippeastrum* sp.). *Revista Ceres* 66: 451-459.
11. **Almeida V.O., Di-Medeiros M.C.B., Batista K.A., Moraes M.G., Fernandes K.F. 2021.** Morphological and physicochemical characterization of starches from underground stems of *Trimezia juncifolia* collected in different phenological stages. *International Journal of Biological Macromolecules* 166: 127-137.
12. **Al-Rowaily S.L., Abd-ElGawad A.M., Alghanem S.M., Al-Taisan W.A., El-Amier Y.A. 2019.** Nutritional Value, Mineral Composition, Secondary

- Metabolites, and Antioxidant Activity of Some Wild Geophyte Sedges and Grasses. *Plants* 8: 569.
13. **Al-Samari F.R., Al-Kazaz A.A. 2015.** Molecular Markers: an introduction and applications. *European Journal of Molecular Biotechnology* 9(3): 118-121.
 14. **Amoo S.O., Finnie J.F., Van-Staden J. 2011.** The role of *meta*-Topolins in alleviating micropropagation problems. *Plant Growth Regulation* 63(2): 197-206.
 15. **Antala M., Sytar O., Rastogi A., Brestic M. 2020.** Potential of karrikins as novel plant growth regulators in agriculture. *Plants* 9(1): 43.
 16. **Arayakitcharoenchai P., Suwanthada C. 2011.** Some characteristics of pollen and stomata of diploid and tetraploid *Hippeastrum*. *Journal of Agricultural Research and Extension* 28(2): 1-10.
 17. **Aremu A.O., Bairu M.W., Dolezal K., Finnie J.F., Van Staden J. 2012.** Topolins: a panacea to plant tissue culture challenges? *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 108: 1-16.
 18. **Aremu A.O., Plačková L., Novák O., Stirk W.A., Doležal K., Van Staden J. 2016.** Cytokinin profiles in *ex vitro* acclimatized *Eucomis autumnalis* plants pre-treated with smoke-derived karrikinolide. *Plant Cell Reports* 35(1): 227-238.
 19. **Arroyo S. 1982.** The chromosomes of *Hippeastrum*, *Amaryllis* and *Phycella* (*Amaryllidaceae*). *Kew Bulletin* 372: 211-216.
 20. **Ascough G.D., Van Staden J., Erwin J. E. 2008.** *In vitro* storage organ formation of ornamental geophytes. *Horticultural Reviews-Westport Then New York* 34: 417-445.
 21. **Atienzar F.A., Jha A.N. 2006.** The random amplified polymorphic DNA (RAPD) assay and related techniques applied to genotoxicity and carcinogenesis studies: a critical review. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* 613(2-3): 76-102.
 22. **Auliya I., Hapsari L., Azrianingsih R. 2019.** Comparative study of leaf stomata profiles among different ploidy levels and genomic groups of bananas (*Musa L.*). [W] IOP Conference Series: Earth and Environmental Science 391(1): 012037.
 23. **Ayliffe M.A., Lawrence G.J., Ellis J.G., Pryor A.J. 1994.** Heteroduplex molecules formed between allelic sequences cause nonparental RAPD bands. *Nucleic Acids Research* 22(9): 1632-1636.
 24. **Azimi M.H. 2020.** Heterosis and genetic diversity in the crossings of *Gladiolus* cultivars Amsterdam and White Prosperity. *Ornamental Horticulture* 26(2): 177-189.
 25. **Azimi M.H., Alavijeh M.K. 2020.** Morphological traits and genetic parameters of *Hippeastrum hybridum*. *Ornamental Horticulture* 26(4): 579-590.
 26. **Azimi M.H., Jozghasemi S., Barba-Gonzalez R. 2018.** Multivariate analysis of morphological characteristics in *Iris germanica* hybrids. *Euphytica* 214: 161.

27. **Baack E., Melo M.C., Rieseberg L.H. Ortiz-Barrientos D. 2015.** The origins of reproductive isolation in plants. *New Phytologist* 207: 968-984.
28. **Bairu M.W., Jain N., Stirk W.A., Doležal K., Van-Staden J. 2009.** Solving the problem of shoot-tip necrosis in *Harpagophytum procumbens* by changing the cytokinin types, calcium and boron concentrations in the medium. *South African Journal of Botany* 75: 122-127.
29. **Bandurska H., Florszak-Wieczorek J., Politycka B. 2007.** *Fizjologia roślin*. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Poznań: 434-443.
30. **Banerjee A., Tripathi D.K., Roychoudhury A. 2019.** The karrikin 'calisthenics': Can compounds derived from smoke help in stress tolerance? *Physiologia Plantarum* 165(2): 290-302.
31. **Bardakci F. 2001.** Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Markers. *Turkish Journal of Biology* 25: 185-196.
32. **Barnhoorn F. 1976.** Breeding the 'Hadeco' *Amaryllis* hybrids. *Plant Life* 32: 59-63.
33. **Barnhoorn F. 1991.** Cultivars of *Hippeastrum*: their evolution from the past and their development for the future. *Herbertia* 47: 76-79.
34. **Barnhoorn F. 2005.** Autobiography. *Herbertia* 59: 12-19
35. **Basak A. 2008.** Biostimulators – definitions, classification and legislation. [W] *Biostimulators in Modern Agriculture. General Aspects*. Wieś Jutra, Polska: 7-17.
36. **Bassam B.J., Caetano-Anollés G., Gresshoff P.M. 1992.** DNA amplification fingerprinting of bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology* 381: 70-76.
37. **Bednarek T.P., Chwedorzewska K. 2001.** Markery molekularne, ich charakterystyka genetyczna oraz wybrane zastosowania w analizie genetycznej roślin. *Biotechnologia* 52: 9-34.
38. **Bell W.D. 1973a.** New potential in *Amaryllis* breeding. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society* 86: 462-466.
39. **Bell W.D. 1973b.** The role of triploids in *Amaryllis* hybridization. *Plant Life* 29: 59-61.
40. **Bell W.D. 1977.** Double flowered *Amaryllis*. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society* 90: 121-122.
41. **Bennett M.D., Leitch I.J. 2005.** Nuclear DNA amounts in angiosperms: progress, problems and prospects. *Annals of Botany* 95: 45-90.
42. **Bennetzen J.L., Jianxin M.A., Devos K.M. 2005.** Mechanisms of recent genome size variation in flowering plants. *Annals of Botany* 95: 127-132.
43. **Bergstrom I. 1938.** Tetraploid apple seedlings were obtained from the progeny of triploid varieties. *Hereditas* 21: 383-393.
44. **Bergstrom I. 1940.** On the progeny of diploid × triploid *Populus tremula* with special reference to the occurrence of tetraploidy. *Hereditas* 26: 191-201.

45. **Bishop G., Sakakibara H., Seo M., Yamaguchi S. 2015.** Biosynthesis of Hormones. [W] Biochemistry and Molecular Biology of Plant. Buchanan B.B., Gruissem W., Jones R.L., (red.) John Wiley and Sons: 785-794.
46. **BKD 2023.** Voorlopige statistiek zomerbloeiërs. Bloembollenkultuurdienst. <https://www.bkd.eu/wp-content/uploads/2023/10/voorlopige-statistiek-overige-zomerbloeiërs-2023-versie-4-26102023-website.pdf> [Data dostępu: 28.05.2024]
47. **Blaauw A.H. 1931.** Orgaanvorming en periodiciteit van *Hippeastrum hybridum*. Verhandelingen Der Koninklijke Akademie Van Wetenschappen Te Amsterdam 29: 1-90.
48. **Bodegom S.R., Bouman R., Van Oers S. 2022.** KAVB Registraties 2021. [W] Bijlage Bloembollenvisie; Koninklijke Algemeene Vereeniging voor Bloembollencultuur: Hillegom. The Netherlands.
49. **Bodegom S.R., Bouman R., Van Scheepen J. 2020.** KAVB Registraties 2019. [W] Bijlage Bloembollenvisie; Koninklijke Algemeene Vereeniging voor Bloembollencultuur: Hillegom. The Netherlands.
50. **Bodegom S.R., Bouman R., Van Scheepen J. 2021.** KAVB Registraties 2020. [W] Bijlage Bloembollenvisie; Koninklijke Algemeene Vereeniging voor Bloembollencultuur: Hillegom. The Netherlands.
51. **Bodegom S.R., Van Oers S. 2023.** KAVB Registraties 2022. [W] Bijlage Bloembollenvisie; Koninklijke Algemeene Vereeniging voor Bloembollencultuur: Hillegom. The Netherlands.
52. **Bodegom S.R., Van Oers S. 2024.** KAVB Registraties 2023. [W] Bijlage Bloembollenvisie; Koninklijke Algemeene Vereeniging voor Bloembollencultuur: Hillegom. The Netherlands.
53. **Bolc P. 2020.** Charakterystyka wybranych markerów molekularnych, Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin 290: 27-32.
54. **Brandham P.E., Bhandol P.S. 1997.** Chromosomal relationships between the genera *Amaryllis* and *Hippeastrum* (*Amaryllidaceae*). Kew Bulletin 52: 973-980.
55. **Brandham P.E., Doherty M.J. 1998.** Genome size variation in the *Aloaceae*, an angiosperm family displaying karyotypic orthoselection. Annals of Botany 82: 67-73.
56. **Brickell C. 2001.** Wielka encyklopedia roślin. Muza, Warszawa: 365, 369, 379, 510.
57. **Brown N.A.C., Van Standen J. 1997.** Smoke as a germination cue: a review. Plant Growth Regulation 22(2): 115-124.
58. **Brown P., Saa S. 2015.** Biostimulants in agriculture. Frontiers in Plant Science 6: 671.
59. **Bryan J.E. 2002.** Bulbs, 2nd ed. Timber Press: 281-283.

60. **Buckley T.N. 2005.** The control of stomata by water balance. *New Phytologist* 168(2): 275-292.
61. **Bulgari R., Cocetta G., Trivellini A., Vernieri P., Ferrante A. 2015.** Biostimulants and crop responses: a review. *Biological Agriculture & Horticulture* 31: 1-17.
62. **Burton T.L., Husband B.C. 2001.** Fecundity and offspring ploidy in matings among diploid, triploid and tetraploid *Chamerion angustifolium* (*Onagraceae*): consequences for tetraploid establishment. *Heredity* 87(5): 573-582.
63. **Campos-Rocha A., Meerow A.W., Machado R.M., Mayer J.L.S., Mota R.C.D., Fontana A.P., Ribeiro O.B.C., Garcia N.B., Dutilh, J.H.A. 2022.** Out of the mud: two new species of *Hippeastrum* (*Amaryllidaceae*) from the Doce and Jequitinhonha River basins, Brazil. *Plant Systematics and Evolution* 308(3): 22.
64. **Carbonnel S., Das D., Varshney K., Kołodziej M., Vil-laécijai J.A., Gutjahr C. 2020.** The karrikin signaling regulator SMAX1 controls *Lotus japonicus* root and root hair development by suppressing ethylene biosynthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 117(35): 21757-21765.
65. **Carbonnel S., Torabi S., Gutjahr C. 2021.** MAX2-independent transcriptional responses to rac-GR24 in *Lotus japonicus* roots. *Plant Signaling and Behavior* 16(1): 1840852.
66. **Castañeda-Nava J.J., Santacruz-Ruvalcaba F., Barba-González R., González J.D. J.S., De la Cruz Larios, L. 2023.** Evaluating the correlation of ploidy level, leaf size, stomata characteristics and tuber weight in *Dioscorea* spp. populations from Jalisco, México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 26(2).
67. **Çatav Ş.S., Surgun-Acar Y., Zemheri-Navruz F. 2021.** Physiological, biochemical, and molecular responses of wheat seedlings to salinity and plant-derived smoke. *South African Journal of Botany* 139: 148-157.
68. **Celińska K., Zboránková V. 2010.** Zastosowanie markerów ISSR do oceny zróżnicowania genetycznego iglastych. *Zarządzenie Ochrony Przyrody w Lasach* 4: 8-19.
69. **Chakrabarty D., Datta S.K. 2010.** Application of RAPD markers for characterization of γ -ray induced *rose* mutants and assessment of genetic diversity. *Plant Biotechnology Reports* 4: 237-42.
70. **Chakrabarty D., Gupta V.N., Datta S.K. 2007.** Varietal identification and assessment of genetic relationships in *Hippeastrum* using RAPD markers *Plant Biotechnology Reports* 1: 211-217.
71. **Chandra S., Bandopadhyay R., Kumar, V., Chandra R. 2010.** Acclimatization of tissue cultured plantlets: from laboratory to land. *Biotechnology Letters* 32: 1199-1205.

72. **Chatterjee J., Mandal A.K.A., Chakrabarty D., Datta S.K. 2007.** Use of RAPD analysis to determine genetic diversity and relationships among Bougainvillea cultivars at intra and inter-specific levels. Horticulture Environment and Biotechnology 48(1): 43-51.
73. **Chatterjee J., Mandal A.K.A., Ranade S.A., Da Silva J.A.T., Datta S.K. 2006.** Molecular systematics in *Chrysanthemum* × *grandiflorum* (Ramat) Kitamura. Scientia Horticulturae 110: 373-378.
74. **Chiwocha S.D.S., Dixon K.W., Flematti G.R., Ghisalberti E.L., Merritt D.J., Nelson D.C., Riseborough J.M., Smith S.M., Stevens J.C. 2009.** Karrikins: A new family plant growth regulators in smoke. Plant Science 177(4): 252-256.
75. **Chmiel H., Ilczuk A. 2002.** Zwartnica Chmiela – nowa polska roślina ozdobna. Ogrodnictwo 2: 17-18.
76. **Chmiel H., Mynett K., 1997.** Ocena wartości dekoracyjnych i użytkowych nowego mieszańca międzygatunkowego *Hippeastrum* × *chmielii*. Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych 491: 91-101.
77. **Cho Y.G., Kang K.K. 2020.** Functional analysis of starch metabolism in plants. Plants 9(9): 1152.
78. **Chohura P., 2016.** Nowości w nawożeniu upraw szkółkarskich. Referaty z Międzynarodowej Konferencji „Szkółkarstwo – perspektywy rozwoju”, Warszawa, 29-30 listopada 2016. Agencja Promocji Zieleni: 22-34.
79. **Christie K., Fraser L.S., Lowry D.B. 2022.** The strength of reproductive isolating barriers in seed plants: insights from studies quantifying pre-mating and post-mating reproductive barriers over the past 15 years. Evolution (76): 2228-2243.
80. **Chudzik B., 2002.** Procesy determinujące receptywność zalążków o różnej budowie anatomicznej u roślin z rodzin: *Amaryllidaceae*, *Brassicaceae*, *Liliaceae* i *Oenotheraceae*. Rozprawa doktorska, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Polska.
81. **Chudzik B., Śnieżko R. 2003.** Calcium ions presence as a trait of receptivity in tenuinucellar ovules of *Galanthus nivalis* L. Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica 45(1): 133-141.
82. **Chudzik B., Zarzyka B., Śnieżko R. 2005.** Immunodetection of arabinogalactan proteins in different types of plant ovules. Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica 47(1): 139-146.
83. **Clark J.W., Harris B.J., Hetherington A. J., Hurtado-Castano N., Brench R.A., Casson S., Williams T.A., Gray J.E., Hetherington A.M. 2022.** The origin and evolution of stomata. Current Biology 32(11): R539-R553.

84. **Coimbra S., Duarte C. 2003.** Arabinogalactan proteins may facilitate the movement of pollen tubes from the stigma to the ovules in *Actinidia deliciosa* and *Amaranthus hypochondriacus*. *Euphytica* 133: 171-178.
85. **Craigie J.S. 2011.** Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. *Journal of Applied Phycology* 23(3): 371-393.
86. **Czerpak R., Piotrowska A. 2003.** Cytokininy, ich struktura metabolizm i aktywność biologiczna. *Kosmos* 52 (259-260): 203-215.
87. **Czuchaj P., Szczepaniak S. 2006.** Wpływ rodzaju i objętości podłoża oraz dawki nawozu Hydrocote Typ 40 na wzrost młodych roślin żurawki krwistej [*Heuchera sanguinea* Engelm.]. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych* 510(1): 113-118.
88. **da Silva H.A., Scapim C.A., Vivas J.M.S., do Amaral A.T., Pinto R.J.B., Mourão K.S.M., Rossi A.M., Baleroni A.G. 2020.** Effect of ploidy level on guard cell length and use of stomata to discard diploids among putative haploids in maize. *Crop Science* 60(3): 1199-1209.
89. **Datta S.K. 2022.** *Amaryllis/Hippeastrum*. [W] *Floriculture and Ornamental Plants. Handbooks of Crop Diversity: Conservation and Use of Plant Genetic Resources*. Datta S.K., Gupta Y.C. (red.) Springer, Singapore: 701-724.
90. **Datta S.K. 2023.** Characterization and utilization of DNA based markers for selective breeding of ornamentals: *Hippeastrum/Amaryllis*. *The Nucleus* 66(2): 205-214.
91. **De Lange J.H., Boucher C. 1990.** Autecological studies on *Audouinia capitata* (*Bruniaceae*). I Plant-derived smoke as a seed germination cue. *South African Journal of Botany* 56: 700-703.
92. **Dien D.C., Mochizuki T., Yamakawa T. 2019.** Effect of various drought stresses and subsequent recovery on proline, total soluble sugar and starch metabolisms in Rice (*Oryza sativa* L.) varieties. *Plant Production Science* 22(4): 530-545.
93. **Dixon K.W., Merritt D.J., Flematti G.R., Ghisal-Berti E L. 2009.** Karrikinolide – A phytoactive compound derived from smoke with applications in horticulture, ecological restoration and agriculture. *Acta Horticulturae* 813: 155-170.
94. **Dodsworth S., Leitch A.R., Leitch I.J. 2015.** Genome size diversity in angiosperms and its influence on gene space. *Current Opinion in Genetics & Development* 35: 73-78.
95. **Doležel J., Bartoš J., Voglmayr H., Greilhuber J. 2003.** Nuclear DNA content and genome size of trout and human. *Cytometry*: 127-128.
96. **Dresselhaus T., Franklin-Tong N. 2013.** Male-female crosstalk during pollen germination, tube growth and guidance, and double fertilization. *Molecular Plant* 6: 1018-1036.

97. **Du Jardin P., 2015.** Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae* 196: 3-12.
98. **Duncan G.D. 2013.** Geophyte research and production in South Africa. [W] Ornamental Geophytes. From Basic Science to Sustainable Production. Kamenetsky R., Okubo H., (red.) CRC Press, USA: 485-503.
99. **Dyki B., Hadrys H. 1996.** Metoda izolowania epidermy liści pomidora i ogórka dla mikroskopowej oceny rozwoju grzybów patogenicznych. *Acta Agrobotanica* 49(1-2): 123-129.
100. **Dziopa A. 2017.** Intensywność procesu transpiracji u roślin jednoliściennych (*monocotyledonae*) i dwuliściennych (*dicotyledonae*) na przykładzie cebuli zwyczajnej (*Allium cepa* L.) i fasoli zwyczajnej (*Phaseolus vulgaris* L.). *Acta Juvenum* 2: 11-16.
101. **Ejaz S., Fahad S., Anjum M.A., Nawaz A., Naz S., Hussain S., Ahmad S. 2020.** Role of Osmolytes in the Mechanisms of Antioxidant Defense of Plants. *Sustainable Agriculture Reviews* 39: 95-117.
102. **Engelbrecht G.M., Du Preez C.C., Spies J.J. 2010.** Response of *Lachenalia* growing in soil to interactions between nitrogen and phosphorus fertilisation in the nursery phase. *South African Journal of Plant and Soil* 27(3): 221-228.
103. **Ephrath J.E., Ben-Asher J., Alekparov C., Silberbush M., Wolf S., Dayan E. 2001.** The effect of temperature on the development of *Hippeastrum*: a phytotron study. *Biotronics* 30: 51-62.
104. **Erhardt W. 1993.** Narcissen, Osternglocken, Jonquillen, Tazzeten, Ulmer, Germany: 36-41.
105. **Eurofines 2024.**
<https://www.eurofins.com/agroscience-services/services/regulatory-consultancy/biostimulants-fertilizers/placing-a-biostimulant-on-the-european-market/> [Data dostępu: 28.06.2023]
106. **Fang P., Hu Y., Guo Q., Li L., Xu P. 2023.** Karrikins, redox and plant abiotic stress tolerance: a focal review. *Plant Stress* 100185.
107. **Ferguson S. 2006.** Production of *Amaryllis* doubles as trendy tropical's popularity grows. Press release, Netherlands Flower Bulb Information Center, Danby, VT. <https://www.bulb.com/508/hoe-planten/Amaryllis> [Data dostępu 10.01.2022]
108. **Flematti G.R., Dixon K.W., Smith S.M. 2015.** What are karrikins and how were they 'discovered' by plants. *BMC Biology* 13(1): 1-7.
109. **Flematti G.R., Ghisalberti E.L., Dixon K.W., Trengove R.D. 2004.** A compound from smoke that promotes seed germination. *Science* 305(5686): 977.
110. **Flematti G.R., Ghisalberti E.L., Dixon K.W., Trengove R.D., Skelton B.W., White A.H. 2005.** Structural analysis of a potent seed germination stimulant. *Australian Journal of Chemistry* 58(7): 505-506.

111. **Flematti G.R., Ghisalberti E.L., Dixon K.W., Trengrove R.D. 2009.** Identification of alkyl substituted 2H-furo[2,3-c]pyran-2-ones as germination stimulants present in smoke. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57(20): 9475-9480.
112. **Fry S.C., Aldington S., Hetherington P. R., Aitken J. 1993.** Oligosaccharides as signals and substrates in the plant cell wall. *Plant Physiology* 103: 1-5.
113. **Fu X.P., Ning G.G., Gao L.P., Bao M.Z. 2008.** Genetic diversity of dianthus accessions as assessed using two molecular marker systems (SRAPs and ISSRs) and morphological traits. *Scientia Horticulturae* 117: 263-270.
114. **Fukuoka S., Hosaka K., Kamijim O. 1992.** Use of Random Amplified Polymorphic DNAs (RAPDs) for identification of rice accessions. *The Japanese Journal of Genetics* 67: 243-252.
115. **Gabryszewska E., Saniewski M. 1989.** Czynniki regulujące wzrost i rozwój roślin ozdobnych z rodzin *Liliaceae*, *Amaryllidaceae* i *Iridaceae in vitro*. *Kosmos* 38(4): 461-503.
116. **Gallone A., Hunter A., Douglas G.C. 2014.** Polyploid induction *in vitro* using colchicine and oryzalin on *Hebe* 'Oratia Beauty': production and characterization of the vegetative traits. *Scientia Horticulturae* 179: 59-66.
117. **Garcia N., Folk R.A., Meerow A.W., Chamala S., Gitzendanner M.A., Oliveira R.S., Soltis, D.E., Soltis P.S. 2017.** Deep reticulation and incomplete lineage sorting obscure the diploid phylogeny of rain-lilies and allies (*Amaryllidaceae* tribe *Hippeastreae*). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 11: 231-247.
118. **Garcia N., Meerow A.W., Arroyo-Leuenberger S., Oliveira R.S., Dutilh J.H., Soltis P.S., Judd W.S. 2019.** Generic classification of *Amaryllidaceae* tribe *Hippeastreae*. *Taxon* 68(3): 481-498.
119. **Garcia P.M., Asega A.F., Silva E.A., Carvalho M.A.M. 2011.** Effect of drought and re-watering on fructan metabolism in *Vernonia herbacea* (Vell.) Rusby. *Plant Physiology* 49(6): 664-670.
120. **Garnatje T., Vallès J., Garcia S., Hidalgo O., Sanz M., Canela M.A., Siljak-Yakovlev S. 2004.** Genome size in *Echinops* L. and related genera (*Asteraceae*, *Cardueae*): karyological, ecological and phylogenetic implications. *Biology of the Cell* 96: 117-124.
121. **Gaudinier A., Blackman B.K. 2020.** Evolutionary processes from the perspective of flowering time diversity. *New Phytologist* 225: 1883-1898.
122. **Gawrońska H., Przybysz A. 2011.** Biostymulatory: mechanizmy działania i przykłady zastosowań. Materiały konferencyjne: Targi Sadownictwa i Warzywnictwa 5-6 stycznia 2011. Sumi Agro Poland: 7-13.

123. **Goëmar Goteo 2024.**
<https://www.upl-ltd.com/pl/produkty/goteo> [Data dostępu: 10.09.2023]
124. **Górnik K., Grzesik M., Romanowska-Duda B. 2008.** The effect of chitosan on rooting of grapevine cuttings and on subsequent plant growth under drought and temperatures stress. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research* 16: 333-343.
125. **Grayson T.H., Atienzar F.A., Alexander S.M., Cooper L.F., Gilpin M.L. 2000.** Molecular diversity of *Renibacterium salmoninarum* isolates determined by randomly amplified polymorphic DNA analysis. *Applied and Environmental Microbiology* 66(1): 435-438.
126. **Grzelak M., Pacholczak A., Nowakowska K. 2024.** The effect of several growth regulators and biostimulant on biochemical and physiological changes in acclimation of micropropagated *Echinacea purpurea* Moench 'Raspberry Truffle'. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*,
<https://www.researchsquare.com/article/rs-4730353/v1> (preprint version).
127. **Guercio A.M., Boyer F., Rameau C., de Saint Germain A., Shabek N. 2021.** Structural basis of KAI2 divergence in legume. *BioRxiv*: 425465.
128. **Guo Y.X., Zheng Z.Y., La Clair J.J., Chory J., Noel J.P. 2013.** Smoke-derived karrikin perception by the alpha/beta-hydrolase KAI2 from *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110(20): 8284-8289.
129. **Guzikowski Z., Szczepaniak S. 2013.** Wpływ sposobu uprawy na liczbę i jakość młodych roślin santoliny cyprysikowatej (*Santolina chamaecyparissus* L.) po przezimowaniu. *Nauka Przyroda Technologie* 7(4): 53.
130. **Gwakisa P.S., Kemp S.J., Teale A.J. 1994.** Characterization of Zebu cattle breeds in Tanzania using random amplified polymorphic DNA markers. *Animal Genetics* 25(2): 89-94.
131. **Haber Z., 1992.** Doniczkowe rośliny ozdobne. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Poznań: 170-177.
132. **Haist G., Sidjimova B., Vladimirov V., Georgiev, L., Nikolova M., Bastida J., Berkov S. 2023.** Morphological, cariological, and phytochemical studies of diploid and autotetraploid *Hippeastrum papilio* plants. *Planta* 257(3): 51.
133. **Hambarliyska I., Georgieva P., Vrancheva R., Juan-Vicedo J., Petkova N. 2023.** Fructan content and soluble sugars in some ornamental plants. *Scientific Papers. Series B, Horticulture* 67(1): 390-396.
134. **Hang T.T.H., Phuong P.T.M., Dung T.T.M., Miyajima I. 2015.** Preliminary chromosome studies on *Hippeastrum* species from Vietnam. *Journal of the Faculty of Agriculture* 60(1): 51-55.
135. **Harrison E.L., Arce Cubas L., Gray J. E., Hepworth C. 2020.** The influence of stomatal morphology and distribution on photosynthetic gas exchange. *The Plant Journal* 101(4): 768-779.

136. **Hetherington A.M., Woodward F.I. 2003.** The role of stomata in sensing and driving environmental change. *Nature* 424: 901-908.
137. **Higashiyama T., Takeuchi H. 2015.** The mechanism and key molecules involved in pollen tube guidance. *Annual Review of Plant Biology* 66: 393-413.
138. **Hrdlička J., Gucký T., Van Staden J., Novák O., Doležal K. 2021.** A stable isotope dilution method for a highly accurate analysis of karrikins. *Plant Methods* 17(1): 1-13.
139. **Huang C.L., Chang K.C., Okubo H. 2005a.** *In vitro* morphogenesis from ovaries of *Hippeastrum hybridum*. *Journal of the Faculty of Agriculture Kyushu University* 50: 19-25.
140. **Huang C.L., Chang K.C., Okubo H. 2005b.** *In vitro* morphogenesis from pedicels of *Hippeastrum hybridum*. *Journal of the Faculty of Agriculture Kyushu University* 50: 27-33.
141. **Huang H., Gao S., Wang D., Huang P., Li J. 2014.** Autotetraploidy induced in Nianmaohuangqin (*Radix Scutellariae viscidulae*) with colchicine *in vitro*. *Journal of Traditional Chinese Medicine* 34: 199-205.
142. **Hubner S. 2014.** *International Statistics Flowers and Plants*. Hannover: Center for Business Management in Horticulture and applied research, International Association of Horticultural Producers (AIPH) in association with Union Fleurs 190.
143. **Huong B.T.T., Tuong H.M., Hoa N.H. 2014.** Assessment ploidy level, genetic relationship by RAPD markers of progenies and parental lines in *Hippeastrum*. *Academia Journal of Biology* 36(2): 225-231.
144. **Hussey G. 1975.** Totipotency in tissue explants and callus of some members of the *Liliaceae*, *Iridaceae* and *Amaryllidaceae*. *Journal of Experimental Botany* 91: 253-262.
145. **Ilczuk A. 2005.** Wpływ wybranych czynników na rozwój, rozmnażanie i transformację genetyczną zwartnicy Chmiela (*Hippeastrum × chmielii* Chm.). Rozprawa doktorska, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Polska.
146. **Ilczuk A. 2015a.** *Hippeastrum Chmiela* - ciekawa roślina ozdobna. *Rośliny Ozdobne* 4/2015: 25-28.
147. **Ilczuk A. 2015b.** Rozmnażanie wegetatywne. [W]: Starck Z., Rabiza-Świder J., (red.) *Biologia roślin ozdobnych. Wybrane zagadnienia*. Wydawnictwo SGGW: 155-183.
148. **Ilczuk A., Winkelmann T., Richartz S., Witomska M., Serek M. 2005.** *In vitro* propagation of *Hippeastrum × chmielii* Chm. - Influence of flurprimidol and the culture in solid or liquid medium and in temporary immersion systems. *Plant Cell Tissue Organ Culture* 83: 339-346.

149. **Inkham C., Panjama K., Ruamrungsri S. 2022.** Irrigation levels and fertilization rates as pre-harvest factors affecting the growth and quality of *Hippeastrum*. *Horticulturae* 8(4), 345.
150. **Ivanova M., Van Staden J. 2011.** Influence of gelling agent and cytokinins on the control of hyperhydricity in *Aloe polyphylla*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 104: 13-21.
151. **Jabłońska-Trypuć A., Czerpak R. 2009.** Cytokinins, their biochemical activity in the processes of divisions, aging and apoptosis of human and animal cells. *Postępy Biologii Komórki* 36(1): 135-154.
152. **Jaccard P. 1908.** Nouvelles recherches sur la distribution florae. *Bulletin de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles* 44: 223-270.
153. **Jakubowska A., Zielińska E., Kowalczyk S. 2001.** Metabolizm i transport auksyn w roślinach. *Postępy Biochemii* 47(2): 169, 179-181.
154. **Jamil M.K., Rahman M.M., Hossain M.M., Hossain M.T., Karim A.S. 2016.** Effect of potting media on growth, flowering and bulb production of *Hippeastrum* (*Hippeastrum hybridum* Hort.). *International Journal of Applied Sciences and Biotechnology* 4(3): 259-271.
155. **Jara G., Seemann P., Muñoz M., Riegel R., Schiappacasse F., Peñailillo P., Vico V. 2006.** Respuesta *in vitro* de microbulbillos de *Rhodophiala montana* sometidos a inducción de poliploidía en presencia de colchicina. *Agro Sur* 34: 67-68.
156. **Jin S.W., Park J.Y., Kang S.J., Park H.S., Shim H., Lee T.J., Kang J.H., Sung S.H., Yang T.J. 2018.** The complete chloroplast genome sequence of Magic Lily (*Lycoris squamigera*). *Mitochondrial DNA Part B* 3: 1210-1211.
157. **Jirakiattikul Y. 1999.** Study of intergeneric hybridization in *Hippeastrum*. PhD dissertation, University of Tasmania, Hobart: 204.
158. **Johnson M.A., Harper J.F., Palanivelu R. 2019.** A fruitful journey: pollen tube navigation from germination to fertilization. *Annual Review of Plant Biology* 70: 809-837.
159. **Joubert J.M., Lefranc G. 2008.** Sea weed phytostimulants in agriculture: recent studies on mode of action two types of products from algae: growth and nutrition stimulants and stimulants of plant defense reactions. [W] *Book of Abstracts – Biostimulators in Modern Agriculture*, Arysta Life Science Poland, Warsaw: 16.
160. **Kadota M., Niimi Y. 2003.** Effects of cytokinin types and their concentrations on shoot proliferation and hyperhydricity in *in vitro* pear cultivar shoots. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 72: 261-265.
161. **Kalisz A. 2009.** Efekty stosowania biostymulatora Goëmar Goteo w jesiennej produkcji kapusty pekińskiej (*Brassica pekinensis* RUPR.). *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych* 1(539).

162. **Kapczyńska A., Kowalska I., Prokopiuk B., Pawłowska B. 2020.** Rooting Media and Biostimulator Goteo Treatment effect the adventitious root formation of *Pennisetum* 'Vertigo' cuttings and the Quality of the Final Product. *Agriculture* 10(11): 570.
163. **Karihaloo J.L. 1989.** Chromosome number and pollen viability in some *Hippeastrum* cultivars. *Indian Journal of Horticulture* 46: 100-102.
164. **KAVB 2024.**
<https://www.kavb.nl/detail?cid=36209> [Data dostępu: 14.08.2024].
165. **Kenton A., Dickie J.B., Langton D.V., Bennett M.D. 1990.** Nuclear DNA amount and karyotype symmetry in *Cypella* and *Hesperoxiphion* (*Tigridiae*; *Iridaceae*). *Evol. Trends in Plants* 4: 59-69.
166. **Khaleel T.F., Haven S., Gilg T. 1991.** Karyomorphology of *Amaryllis* hybrids. *Cytologia* 56(1): 31-41.
167. **Khandka D.K., Tuna M., Tal M., Nejjidat A., Golan-Goldhirsh A. 1997.** Variability in the pattern of random amplified polymorphic DNA. *Electrophoresis* 18(15): 2852-2856.
168. **Khatoon A., Rehman S.U., Aslam M.M., Jamil M., Komatsu S. 2020.** Plant-derived smoke affects biochemical mechanism on plant growth and seed germination. *Journal of Molecular Sciences* 21(20): 1-25.
169. **Khodorova N.V., Boitel-Conti M. 2013.** The role of temperature in the growth and flowering of geophytes. *Plants* 2: 699-711.
170. **Khosravi D., Joulaie R., Shore J.S. 2003.** Immunocytochemical distribution of polygalacturonase and pectins in styles of distylous and homostylous Turneraceae. *Sexual Plant Reproduction* 16: 179-190.
171. **Kim J.M., To T.K., Matsui A., Tanoi K., Kobayashi N.I., Matsuda F., Habu Y., Ogawa D., Sakamoto T., Matsu-naga S., Bashir K., Rasheed S., Ando M., Takeda H., Kawaura K., Kusano M., Fukushima A., Endo T.A., Kuromori T., Ishida J., Morosawa T., Tanaka M., Torii C., Takebayashi Y., Sakakibara H., Ogihara Y., Saito K., Shinozaki K., Devoto A., Seki M. 2017.** Ace-tate-mediated novel survival strategy against drought in plants. *Nature Plants* 3: 17097.
172. **Koller B., Lehmann A., McDermott J. M., Gessler C. 1993.** Identification of apple cultivars using RAPD markers. *Theoretical and Applied Genetics* 85: 901-904.
173. **Korytko M., Łaczmańska I. 2016.** Sekwencje mikrosatelitarne i ich wykorzystanie w diagnostyce medycznej. *Kosmos* 65 (1) 310: 11-16.
174. **Koszeghi S., Bereczki C., Balog A., Benedek K. 2014.** Comparing the effects of benzyladenine and meta-Topolin on sweet basil (*Ocimum basilicum*) micropropagation. *Notulae Scientia Biologicae* 6: 422-426.
175. **Kozak M. 2009.** Biostymulator, dobry wybór. *Agrotechnika* 3:61-62.

176. **Krause J. 1991.** Kwiaty cięte uprawiane pod szkłem i folią. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne 133-136.
177. **Krause J. 2004.** Uprawa *Hippeastrum* na kwiat cięty. Hasło Ogrodnicze 5/2004: 160-164.
178. **Krause J. 2006.** Zwartnica. [W] Kwiaty cięte uprawiane pod osłonami Jerzy M., (red.). Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Polska, 325-332.
179. **Krawczyk J., Wasek I. 2011.** Endoreduplikacja jako jeden z mechanizmów zmiany ilości jądrowego DNA w komórce roślinnej. Wiadomości Botaniczne 55: 3-4.
180. **Krichen L., Audergon J.M., Trifi-Farah N. 2012.** Relative efficiency of morphological characters and molecular markers in the establishment of an apricot core collection. Hereditas 149: 163-172.
181. **Krzymińska A., Śmigielska M., Juszczyk R. 2017.** Wzrost i kwitnienie czosnku (*Allium L.*) 'Ivory Queen' pędzonego w warunkach sztucznego oświetlenia. Polish Journal for Sustainable Development 21(2): 77-82.
182. **Küçükakyüz K., Çatav Ş.S. 2021.** Physiological effects of smoke-water and karrikinolide on wheat seedlings grown under boron stress. Russian Journal of Plant Physiology 68(3): 552-558.
183. **Kuehny J.S., Miller W.B. 2008.** Storage duration and temperature affect dormancy of *Hippeastrum*. Acta Horticulturae 766: 169-174.
184. **Kulkarni M.G., Ascough G.D., Verschaeve L., Baeten K., Arruda M.P., Van Staden J. 2010.** Effect of smoke-water and a smoke-isolated butenolide on the growth and genotoxicity of commercial onion. Scientia Horticulturae 124(4): 434-439.
185. **Kulkarni M.G., Light M.E., Van Staden J. 2011.** Plant-derived smoke: old technology with possibilities for economic applications in agriculture and horticulture. South African Journal of Botany 77(4): 972-979.
186. **Kumari A., Papenfus H.B., Kulkarni M.G., Pošta M., Van Staden J. 2014.** Effect of smoke derivatives on *in vitro* pollen germination and pollen tube elongation of species from different plant families. Plant Biology 17(4): 825-830.
187. **Lambrechts H., Rook F., Kolloffel C. 1994.** Carbohydrate status of tulip bulbs during cold-induced flower stalk elongation and flowering. Plant Physiology 104: 515-520.
188. **Lattier J.D., Chen H., Contreras R.N. 2019.** Variation in genome size, ploidy, stomata, and rDNA signals in *Althea*. Journal of the American Society for Horticultural Science 144(2): 130-140.
189. **Lausser A., Kliwer I., Srilunchang K.O., Dresselhaus T. 2010.** Sporophytic control of pollen tube growth and guidance in maize. Journal of Experimental Botany 61: 673-682.

190. **Lee S.R., Kim K., Lee B.Y., Lim C.E. 2019.** Complete chloroplast genomes of all six *Hosta* species occurring in Korea: molecular structures, comparative, and phylogenetic analyses. *BMC Genomics* 20: 1-13.
191. **Leitch I.J., Leitch A.R. 2013.** Genome size diversity and evolution in land plants. [W] *Plant genome diversity*. Leitch I.J., Greilhuber J., Dolezel J., Wendel J.F., (red.) Springer, Austria: 307-322.
192. **Li J., Li Ch., Smith S.M. 2017a.** Hormone metabolism and signaling in plants. Academic Press, Elsevier: 1-597.
193. **Li W., Nguyen K.H., Chu H.D., Ha C.V., Watanabe Y., Osakabe Y., Leyva-González M.A., Sato M., Toyooka K., Voges L., Tanaka M., Mostofa M.G., Seki M., Seo M., Yamaguchi S., Nelson D.C., Herrera-Estrella L., Tran L.S. 2017b.** The karrikin receptor KAI2 promotes drought resistance in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS Genetics* 13(11): e1007076.
194. **Li X., Zhang Y., Jiang H., Sun Y., Li Q., Yang L. 2018.** Karyotype analysis and ploidy identification of *Hippeastrum*. *Acta Agriculturae Shanghai* 34: 1-6.
195. **Light M.E., Daws M.I., Van Staden J. 2009.** Smoke-derived butenolide: towards understanding its biological effects. *South African Journal of Botany* 75(1): 1-7.
196. **Light M.E., Van Staden J. 2004.** The potential of smoke in seed technology. *South African Journal of Botany* 70(1): 97-101.
197. **Lillie R.D. 1951.** Simplification of the Manufacture of Schiff Reagent for use in Histochemical Procedures. *Stain Technology* 26(3): 163-165.
198. **Lindsey K. L., Jäger A. K., Van Staden J. 1998.** Effect of a seaweed concentrate on acclimatization of *in vitro* grown plantlets of *Kniphofia pauciflora* and *Scilla kraussii*. *South African Journal of Botany* 64(4): 262-264.
199. **Liu J., Zhong S., Guo X., Hao L., Wei X., Huang Q., Hou Y., Shi J., Wang C., Gu H, Qu L.J. 2013.** Membrane-bound RLCKs LIP1 and LIP2 are essential male factors controlling male-female attraction in *Arabidopsis*. *Current Biology* 23: 993-998.
200. **Liu X.F., Sun Y.B., Zhu G.F., Huang L.L., Yu, B. 2022.** Complete chloroplast genomes and comparative analyses of *Hippeastrum* ‘Milady’, *Hippeastrum albertii* and *Hippeastrum reticulatum* (Amaryllidaceae). *PLoS One* 17(8): e0271335.
201. **Livingston D.P., Hinch D.K., Heyer A.G. 2009.** Fructan and its relationship to abiotic stress tolerance in plants. *Cellular and Molecular Life Sciences* 66: 2007-2023.
202. **Lloyd J., Kötting O. 2016.** Starch Biosynthesis and Degradation in Plants. [W] eLS. John Wiley and Sons 1-10.

203. **Łojkowska E. 2004.** Diagnostyka Molekularna Roślin. [W] Biotechnologia roślin. Malepszy S., (red.) Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Polska: 462-463, 465-483.
204. **Lord E.M., Russell S.D. 2002.** The mechanisms of pollination and fertilization in plants. Annual Review of Cell and Developmental Biology 18: 81-105.
205. **Loureiro J., Travnicek P., Rauchova J., Urfus T., Vit P., Stech M., Castro S., Suda J. 2010.** The use of flow cytometry in the biosystematics, ecology and population biology of homoploid plants. Preslia 82: 3-21.
206. **Lowry D.B., Modliszewski J.L., Wright K.M., Wu C.A., Willis J.H. 2008.** The strength and genetic basis of reproductive isolating barriers in flowering plants. Philos. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences 363: 3009-3021.
207. **Malkawi A., Jensen B.L., Langille A.R. 2007.** Plant hormones isolated from “Katahdin” potato plant tissues and the influence of photoperiod and temperature on their levels in relation to tuber induction. Journal of Plant Growth Regulation 26: 308-317.
208. **Marasek A., Mizuochi H., Okazaki K. 2006.** The origin of Darwin hybrid tulips analyzed by flow cytometry, karyotype analyses and genomic *in situ* hybridization. Euphytica 151: 279-290.
209. **Marasek-Ciolakowska A., Arens P.F.P., Van Tuyl J.M. 2016.** The role of polyploidization and interspecific hybridization in the breeding of ornamental crops. Polyploidy and Hybridization for Crop Improvement. CRC Press: 159-181.
210. **Marasek-Ciolakowska A., Sochacki D., Marciniak P. 2021.** Breeding aspects of selected ornamental bulbous crops. Agronomy 11(9): 1709.
211. **Marciniak P., Jędrzejuk A., Sochacki D. 2021.** Evaluation of the possibility of obtaining viable seeds from the cross-breeding *Hippeastrum ×chmielii* Chm. with selected cultivars of *Hippeastrum hybridum* Hort. Folia Horticulturae 33(1): 185-194.
212. **Marciniak P., Sochacki D. 2023.** Trendy w hodowli hipeastrum. Szkółkarstwo 5: 36-40.
213. **Marciniak P., Sochacki D., Nowakowska K. 2023.** Karrikins – effect on plants, interaction with other growth regulators, and potential use in horticulture. Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus 22(3), 3-16.
214. **Marques G.G.L. 2015.** Anatomia do escapo foral e da folha de espécies de *Hippeastrum* Herb. *Habranthus* Herb. (*Amaryllidaceae*) ocorrentes no Distrito Federal. MSc Thesis, University of Brasília, Brazil.
215. **Masojć P. 2009.** Metody detekcji polimorfizmu sekwencji DNA i ich zastosowania. [W] Malepszy S., (red.) Biotechnologia roślin. Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Polska: 277-279.

216. **Masondo N.A., Loubser J., Moyo M., Makunga N.P., Hills P.N., Aremu A.O. 2022.** Application of Biostimulants in Establishing and Acclimatizing *In Vitro*-Raised Plants. [W] Gupta S., Chaturvedi P., (red.) Commercial Scale Tissue Culture for Horticulture and Plantation Crops. Springer, Singapur.
217. **McRary W.L., Slattery M.C. 1945.** The colorimetric determination of fructosan in plant material. *Journal of Biological Chemistry* 157: 161-167.
218. **Meerow A.W. 2009.** Tilting at windmills: 20 years of *Hippeastrum* breeding. *Israel Journal of Plant Sciences* 57: 303-313.
219. **Meerow A.W. 2014.** The Florida series of hybrid *Amaryllis*: five new *Hippeastrum* cultivars. *Hortscience* 49(8): 1102-1107.
220. **Meerow A.W., Charles L.G., Qin-Bao L., Si-Lin Y. 2000.** Phylogeny of the American *Amaryllidaceae* based on nrDNA ITS sequences. *Systematic Botany* 25: 708-726.
221. **Meerow A.W., Snijman D.A. 1998.** *Amaryllidaceae*. [W] Families and Genera of Vascular Plants. Kubitzki K., (red.) Springer, Niemcy: 83-110.
222. **Meng J.G., Zhang M.X., Yang W.C., Li H.J. 2019.** TICKET attracts pollen tubes and mediates reproductive isolation between relative species in *Brassicaceae*. *Science China Life Sciences* 62: 1413-1419.
223. **Michalik. B. 2009.** Zastosowanie kultur *in vitro*. [W] Hodowla roślin z elementami genetyki i biotechnologii. Michalik B., (red.) Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Polska: 298-299.
224. **Mii M., Mori T., Iwase N. 1974.** Organ formation from the excised bulb scales of *Hippeastrum hybridum in vitro*. *Journal of Horticultural Science* 49(3): 241-244.
225. **Mikowska M., Świergosz-Kowalewska R., Śliwińska E. 2012.** Ocena różnorodności genetycznej przy pomocy markerów molekularnych – zastosowanie w ekotoksykologii. *Wszechświat* 113(7-9): 171-175.
226. **Miller W.B. 1992.** A review of carbohydrate metabolism in geophytes. *Acta Horticulturae* 325: 239-249.
227. **Mishra M.K. 1997.** Stomatal Characteristics at Different Ploidy Levels in *Coffea* L. *Annals of Botany* 80(5): 689-692.
228. **Moghbel N., Borujeni K.M., Bernard F. 2015.** Colchicine effect on the DNA content and stomata size of *Glycyrrhiza glabra* var. *glandulifera* and *Carthamus tinctorius* L. cultured *in vitro*. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology* 13: 1-6.
229. **Molnár Z., Virág E., Ördög V. 2011.** Natural substances in tissue culture media of higher plants. *Acta Biologica Szegediensis* 55(1): 123-127.

230. **Morffy N., Faure L., Nelson D.C. 2016.** Smoke and hormone mirrors: action and evolution of karrikin and strigolactone signaling. *Trends in Genetics* 32(3): 176-188.
231. **Moscatello S., Battistelli A., Mattioni M., Proietti S. 2023.** Yield, Fructans Accumulation, and Nutritional Quality of Young Chicory Plants as Related to Genotype and Nitrogen Fertilization. *Agronomy* 13(7): 1752.
232. **MRiRW 2024.** <https://www.gov.pl/web/rolnictwo/wykaz-nawozow-i-srodkow-wspomagajacych-uprawe-roslin> [Data dostępu: 11.01.2024].
233. **Mujib A., Banerjee S., Ghosh P.D. 2005.** Origin, development and structure of somatic embryos in selected bulbous ornamentals: BAP as inducer. [W] *Somatic embryogenesis*. Springer, Niemcy: 15-24.
234. **Mullis K.B. 1991.** The polymerase chain reaction in an anemic mode: how to avoid cold oligodeoxyribonuclear fusion. *Genome Research* 1(1): 1-4.
235. **Murashige T., Skoog F. 1962.** A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15: 473-497.
236. **Mystkowska I., Zarzecka K., Gugala M., Ginter A., Sikorska A., Dmitrowicz A. 2023.** Impact of care and nutrition methods on the content and uptake of selected mineral elements in *Solanum tuberosum*. *Agronomy* 13(3), 690.
237. **Naaz A., Hussain S.A., Anis M., Alatar A.A. 2019.** Meta-Topolin improved micropropagation in *Syzygium cumini* and acclimatization to *ex vitro* conditions. *Biologia Plantarum* 63(1): 174-182.
238. **Naidoo D., Aremu A.O., Van Staden J., Finnie J.F. 2017.** *In vitro* plant regeneration and alleviation of physiological disorders in *Scadoxus puniceus*. *South African Journal of Botany* 109: 316-322.
239. **Nakhoda M., Watt M.P., Mycock D. 2012.** The properties and interaction of auxins and cytokinins influence rooting of shoot cultures of *Eucalyptus*. *African Journal of Biotechnology* 11(100): 16568-16578.
240. **Narain P. 1983.** *Amaryllis* hybrids. *Plant Life* 38: 72-78.
241. **Narain P. 1987.** *Hippeastrum* hybrids. *Herbertia* 43: 25-27.
242. **Narain P. 1991.** *Hippeastrum* hybrids. *Herbertia* 47: 72.
243. **Naranjo C.A. 1969.** Cariotipo de nueve especies argentinas de *Rhodophiala*, *Hippeastrum*, *Zephyrantes*, *Habranthus* (*Amaryllidaceae*). *Kurtziana* 5: 67-87.
244. **Naranjo C.A., Ferrari M.R., Palermo A.M., Poggio L. 1998.** Karyotype, DNA content, and meiotic behaviour in five South American species of *Vicia* (*Fabaceae*). *Annals of Botany* 82: 757-764.
245. **Naranjo C.A., Poggio L. 1988.** A comparison of karyotype, AgNOR bands and DNA contents in *Amaryllis* and *Hippeastrum* (*Amaryllidaceae*). *Kew Bulletin* 42: 317-325.

246. Nascimento N.F.F., Nascimento M.F., Santos R.M.C., Rêgo E.R., Silva Neto J., Rêgo M., Bruckner C.H., Finger, F.L. 2013. Genetic variability of bulbs and flowers traits in *Hippeastrum puniceum*. Acta Horticulturae 1000: 147-152.
247. Nelson C.J., Spollen W.G. 1987. Fructans. Physiologia Plantarum 71: 512-516.
248. Nelson D.C., Riseborough J.A., Flematti G.R., Stevens J., Ghisalberti E.L., Dixon K.W., Smith S.M. 2009. Karrikins discovered in smoke trigger Arabidopsis seed germination by a mechanism requiring gibberellic acid synthesis and light. Plant Physiology 149(2): 863-873.
249. Niedojadło K., Hyjek M., Bednarska-Kozakiewicz E. 2015. Spatial and temporal localization of homogalacturonans in *Hyacinthus orientalis* L. ovule cells before and after fertilization. Plant Cell Reports 34: 97-109.
250. Normasiwi S., Efendi M., Rahman W., Hafiizh E.A., Ermayanti T.M., Lelono R.A., Yunarto N. 2021. Growth, stomata and trichome characteristics of diploid and tetraploid *Artemisia annua* L. plants. [W] IOP Conference Series: Earth and Environmental Science 762(1): 012022.
251. Obwieszczenie Marszałka Sejmu Rzeczypospolitej Polskiej z dnia 24 stycznia 2024 r. w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu ustawy o nawozach i nawożeniu (Dz. U. 2024 poz. 105)
252. Ockenga S. 2002. *Amaryllis*. New York: Random House, 96.
253. Ogur M., Erickson R.O., Rosen G.U., Sax K.B., Holden C. 1951. Nucleic acids in relation to cell division in *Lilium longiflorum*. Experimental Cell Research. 2: 73-89.
254. Okubo H. 1993. *Hippeastrum (Amaryllis)*. [W] The Physiology of Flower Bulbs. De Hertogh A., Le Nard M., (red.) Elsevier, The Netherlands: 321-334.
255. Oláh D., Molnár Á., Soós V., Kolbert Z. 2021. Nitric oxide is associated with strigolactone and karrikin signal transduction in *Arabidopsis* roots. Plant Signaling and Behavior 16(3): 1868148.
256. Olszewska M.J., Małuszyńska J. 2012. Budowa genomu jądrowego. [W] Podstawy cytogenetyki roślin. Rogalska S., Małuszyńska J., Olszewska M.J., (red.) Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Polska: 13-55.
257. Ördög V., Stirk W.A., Van Staden J, Novák O., Strnad M. 2004. Endogenous cytokinins in three genera of microalgae from the *Chlorophyta* Journal of Phycology 40: 88-95.
258. Ördög M., Beregi Z., Mándy A.T. 2019. The effect of different biostimulators on morphological and biochemical parameters of micropropagated *Hosta* 'Gold Drop'. International Journal of Horticultural Science 25(1-2): 22-29.
259. Orlikowska T., Podwyszyńska M., Marasek-Ciołakowska A., Sochacki D., Szymański R. 2018. Tulip. [W] Ornamental Crops; Van Huylenbroeck J., (red.) Springer, Niemcy: 769-802.

260. **Orlikowska T., Wiejacha K., Marasek A. 2001.** Identyfikacja roślinnych mieszańców oddalonych - przegląd metod. Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji 220. Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, Polska: 10-13.
261. **Orthen B., i Wehrmeyer A. 2004.** Seasonal dynamics of non – structural carbohydrates in bulbs and shoots of the geophyte *Galanthus nivalis*. *Physiologia Plantarum* 120: 529-536.
262. **Pacholczak A., Szydło W. 2010.** Wykorzystanie biostymulatorów w szkółkarstwie. *Szkółkarstwo* 5: 70-75.
263. **Palmer R., Cornuault V., Marcus S.E., Knox J.P., Shewry P.R., Tosi P. 2015.** Comparative in situ analyses of cell wall matrix polysaccharide dynamics in developing rice and wheat grain. *Planta* 241: 669-685.
264. **Papenfus H.B., Kumari A., Kulkarni M.G., Finnie J.F., Van Staden J. 2013.** Smoke-water enhances *in vitro* pollen germination and tube elongation of three species of *Amaryllidaceae*. *South African Journal of Botany* 90: 87-92.
265. **Park I., Kim W.J., Yeo S.M., Choi G., Kang Y.M., Piao R., Moon B.C. 2017.** The complete chloroplast genome sequences of *Fritillaria ussuriensis* Maxim. and *Fritillaria cirrhosa* D. Don, and comparative analysis with other *Fritillaria* species. *Molecules* 22(6): 982.
266. **Pautasso M. 2009.** Geographical genetics and the conservation of forest trees. *Perspect. Evolution and Systematics* 11: 157-189.
267. **PBS 2024.** -
<https://www.pacificbulbsociety.org/pbswiki/index.php/Hippeastrum> [Data dostępu: 14.07.2024].
268. **Peshev D., Vergauwen R., Moglia A., Hideg É., Van den Ende W. 2013.** Towards understanding vacuolar antioxidant mechanisms: a role for fructans? *Journal of Experimental Botany* 64(4): 1025-1038.
269. **Petkova N.T., Ivanov I.G., Raeva M., Topuzova M.G., Todorova M.M., Denev P.P. 2019.** Fructans and antioxidants in leaves of culinary herbs from *Asteraceae* and *Amaryllidaceae* families. *Food Research* 3(5): 407-15.
270. **Pfister B., Zeeman S.C. 2016.** Formation of starch in plant cells. *Cellular and Molecular Life Sciences* 73: 2781-2807.
271. **Phuong P.T.M., Isshiki S. Miyajima I. 2014.** Genetic variation of *Hippeastrum* accessions in Vietnam. *Journal of the Faculty of Agriculture Kyushu University*. 59: 235-241.
272. **Pilon-Smits E.A., Ebskamp M.J., Paul M.J., Jeuken M.J., Weisbeek P.J., Smeekens S.C. 1995.** Improved performance of transgenic fructan-accumulating tobacco under drought stress. *Plant Physiology* 107(1): 125-130.

273. **Podwyszyńska M., Gabryszewska E., Dyki B., Stębowska A.A., Kowalski A., Jasiński A. 2015.** Phenotypic and genome size changes (variation) in synthetic tetraploids of daylily (*Hemerocallis*) in relation to their diploid counterparts. *Euphytica* 203: 1-16.
274. **Podwyszyńska M., Gabryszewska E., Sochacki D., Jasiński A. 2011.** Histogenic identification by cytological analysis of colchicine induced polyploids of *Hemerocallis*. *Acta Horticulturae* 886: 247-25.
275. **Podwyszyńska M., Nowak J.S. 2004.** The effect of the growing conditions on the growth and reproduction of tulip bulbs produced *in vitro*. *Folia Horticulturae* 16(1): 133-145.
276. **Podwyszyńska M., Sochacki D. 2010.** Micropropagation of tulip: Production of virus-free stock plants. [W] *Protocols for in Vitro Propagation of Ornamental Plants, Methods in Molecular Biology*. Jain, S.M., Ochatt, S.J., (red.) Humana Press, USA: 243-256.
277. **Poggio L., González G., Naranjo C.A. 2007.** Chromosome studies in *Hippeastrum* (*Amaryllidaceae*): Variation in genome size. *Botanical Journal of the Linnean Society* 155: 171-178.
278. **Poggio L., Realini M.F., Fourastié M.F., García A.M., González G.E. 2014.** Genome downsizing and karyotype constancy in diploid and polyploid congeners: A model of genome size variation. *AoB Plants* 6: 1-11.
279. **Posmyk M.M., Szafrńska K. 2016.** Biostimulators: A new trend towards solving an old problem. *Frontiers in Plant Science* 1-6.
280. **Pouris J., Tampiziva E., Rhizopoulou S. 2023.** Unraveling Seasonal Allocation of Soluble Sugars, Starch and Proline in *Sternbergia lutea*. *Plants* 12: 3043.
281. **POWO 2024.**
<https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:331211-2> [Data dostępu: 28.07.2024]
282. **Pradeep Reddy M., Sarla N., Siddiq E.A. 2002.** Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. *Euphytica* 128: 9-17.
283. **Pruszyński S. 2008.** Biostymulatory w ochronie roślin. [W] *Biostymulatory w nowoczesnej uprawie roślin*. Sadowski A., (red.) Wieś Jutra. Polska: 12.
284. **Qu L.J., Li L., Lan Z., Dresselhaus T. 2015.** Peptide signalling during the pollen tube journey and double fertilization. *Journal of Experimental Botany* 66: 5139-5150.
285. **Rademacher W. 2015.** Plant Growth Regulators: Backgrounds and uses in plant production. *Journal of Plant Growth Regulation* 34(4): 845-872.
286. **Radkowski A., Radkowska I., Bocianowski J., Florkiewicz, A. 2020.** Synergistic effects of foliar application of amino acids and silicon on the content

- of micro-and macroelements in phytomass of grassland. *Journal of Elementology* 25(3): 879-891.
287. **Ramanna M.S., Marasek-Ciolakowska A., Xie S., Khan N., Arens P., Van Tuyl J.M. 2012.** The significance of polyploidy for bulbous ornamentals: a molecular cytogenetic assessment. *Floriculture and ornamental biotechnology, 6th edn.* Global Science Books, London: 116-121.
288. **Ranwala A.P., Miller W.B. 2008.** Analysis of nonstructural carbohydrates in storage organs of 30 ornamental geophytes by high-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection. *New Phytologist* 180(2): 421-433.
289. **Read V.M. 1999.** *Hippeastrum* hybridization developments. *Herbertia* 54: 84-109.
290. **Read V.M. 2004.** *Hippeastrum*, the gardener's amaryllis. Timber Press Incorporated 19-20.
291. **Rees A.R. 1972.** The Growth of Bulbs, Applied Aspects of the Physiology of Ornamental Bulbous Crop Plants, 1st ed.; Academic Press: UK: 311.
292. **Rigui A.P., Gaspar M., Oliveira V.F., Purgatto E., Carvalho M.A.M.D. 2015.** Endogenous hormone concentrations correlate with fructan metabolism throughout the phenological cycle in *Chrysolea obovata*. *Annals of Botany* 115(7): 1163-1175.
293. **Rogalska S. 2012.** Zmienność liczby chromosomów i układów chromosomowych. [W] Podstawy cytogenetyki roślin. Rogalska S., Małuszyńska J., Olszewska M.J., (red.) Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Polska: 173-196.
294. **Sage T.L., Hristova-Sarkovski K., Koehl V., Lyew J., Pontieri V., Bernhardt P., Weston P., Bagha S., Chiu G. 2009.** Transmitting tissue architecture in basal-relictual angiosperms: implications for transmitting tissue origins. *American Journal of Botany* 96: 183-206.
295. **Salachna P., Zawadzinska A., Piechocki R., Wilas J. 2014.** Rozmnażanie śniedka arabskiego (*Ornithogalum arabicum* L.) przez sadzonki dwułuskowe z wykorzystaniem ekstraktów z alg morskich. *Folia Pomeranae Universitatis Technologiae Stetinensis* 310(30): 105-112.
296. **Samotus B., Duliński J., Leja M., Ścigalski A. 1988.** Wybrane metody analizy materiałów roślinnych. Skrypt dla Szkół Wyższych 44-50.
297. **Sandler-Ziv D., Cohen A., Ion A., Efron H., Amit D. 1997.** A two year production cycle of Israeli-grown *Hippeastrum* bulbs from bulb sectioning to Christmas flowering. *Acta Horticulturae* 430: 361-368.
298. **Santner A., Calderon-Villalobos L.I.A., Estelle M. 2009.** Plant hormones are versatile chemical regulators of plant growth. *Nature Chemical Biology* 5(5): 301-307.

299. **Schwedersky M.B., Scopel M., Tallini L.R., Bastida J., Souza-Chies T.T., Oleas, N.H., Zuanazzi J.A.S. 2020.** Genetic diversity and chemical profile of *Rhodophiala bifida* Populations from Brazil. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 30(3): 427-431.
300. **Scott M.P., Haymes K.M., Williams S.M. 1992.** Parentage analysis using RAPD PCR. *Nucleic Acids Research*. 20(20): 5493.
301. **Seabrook J.E.A., Cumming B.G. 1977.** The *in vitro* propagation of *Amaryllis* (*Hippeastrum* spp. *hybrids*). *In Vitro* 13: 831-836.
302. **Senthil Kumar N., Gurusubramanian G., 2011.** Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers and its applications. *Science Vision* 3: 116-124.
303. **Serpe M.D., Nothnagel E.A. 1999.** *Arabinogalactan*- proteins in the multiple domains of the plant cell surface. *Advances in Botanical Research* 30: 207-289.
304. **Shakirova F.M., Avalbaev A.M., Bezrukova M.V., Kudoyarova G.R. 2010.** Role of endogenous hormonal system in the realization of the antistress action of plant growth regulators on plants. *Plant Stress* 4(1): 32-38.
305. **Shao Q.S., Guo Q.S., Deng Y.M., Guo H.P. 2010.** A comparative analysis of genetic diversity in medicinal *Chrysanthemum morifolium* based on morphology, ISSR and SRAP markers. *Biochemical Systematics and Ecology* 38: 1160-1169.
306. **Shi Z., Zheng Q., Sun X., Xie F., Zhao J., Zhang G., Zhao W., Guo Z., Ariunzul A., Fahad S., Adnan M., Qin D., Saud S., Yajun C. 2020.** Assessment of differences in morphological and physiological leaf lodging characteristics between two cultivars of *Hippeastrum rutilum*. *BMC Plant Biology* 20: 1-13.
307. **Shulman A. 2007.** Molecular markers to assess genetic diversity. *Euphytica* 158: 313-321.
308. **Silva T.D.J.A. 2004.** Ornamental Chrysanthemums: improvement by biotechnology. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 79: 1-18.
309. **Sliwinska E. 2018.** Flow cytometry – a modern method for exploring genome size and nuclear DNA synthesis in horticultural and medicinal plant species. *Folia Horticulturae* 30: 103.
310. **Słowiński A. 2008.** Biostymulatory w polowej produkcji roślinnej. *Więś Jutra* 5(118): 29-30.
311. **Smith S.M., Li J. 2014.** Signalling and responses to strigolactones and karrikins. *Current Opinion in Plant Biology* 21: 23-29.
312. **Sochacki D., Marciniak P., Ciesielska M., Zaród J., Sutrisno. 2023.** The influence of selected plant growth regulators and carbohydrates on *in vitro* shoot multiplication and bulbing of the tulip (*Tulipa* L.). *Plants* 12(5): 1134.
313. **Sochacki D., Pijanowski G., Pacholczak A. 2017.** Wpływ biostymulatorów na inicjowanie oraz wzrost cebul przybyszowych 2 odmian lili (*Lilium* L.) -

- 'Brindisi' oraz 'Santander' rozmnażanych metodą łuskowania. Materiały Ogólnopolskiej Ogrodniczej Konferencji Naukowej „Ziemia – Roślina – Człowiek”, Kraków, 20-21 września 2017 r. Materiały konferencyjne: 59.
314. **Sochacki D., Podwyszyńska M., Machlańska A., Dyki B. 2022.** Nuclear DNA Content, Selected Morphological and Anatomical Traits of *Narcissus* Cultivars and Breeding Clones. *Agronomy* 12(3): 648.
315. **Sochacki D., Woźniak E., Marciniak, P. 2018.** The effect of selected factors on micropropagation efficacy and on the first bulb yield in *Hippeastrum* × *chmielii* Chm. and *H. hybridum* 'Double Roma'. *Propagation of Ornamental Plants* 18: 87-96.
316. **Sposaro M.M., Chimenti C.A., Hall A.J. 2008.** Root lodging in sunflower. Variations in anchorage strength across genotypes, soil types, crop population densities and crop developmental stages. *Field Crops Research*. 106: 179-86.
317. **Sprzączka I. 2014.** Piękne bez wody. *Rośliny Ozdobne* 3: 5.
318. **Stirk W.A., Ördög V., Van Staden J., Jäger K. 2002.** Cytokinin- and auxin-like activity in *Cyanophyta* and *Microalgae*. *Journal of Applied Phycology* 14: 215-221.
319. **Suárez C., Zienkiewicz A., Castro A.J., Zienkiewicz K., Majewska-Sawka A., Rodríguez-García M.I. 2013.** Cellular localization and levels of pectins and arabinogalactan proteins in olive (*Olea europaea* L.) pistil tissues during development: implications for pollen–pistil interaction. *Planta* 237: 305-319.
320. **Suárez-González E.M., López M.G., Délano-Frier J.P., Gómez-Leyva J.F. 2014.** Expression of the 1-SST and 1-FFT genes and consequent fructan accumulation in *Agave tequilana* and *A. inaequidens* is differentially induced by diverse (a) biotic-stress related elicitors. *Journal of Plant Physiology* 171(3–4): 359-372.
321. **Swarbreck S.M. 2021.** Phytohormones interplay: karrikin signalling promotes ethylene synthesis to modulate roots. *Trends in Plant Science* 26(4): 308-311.
322. **Swarbreck S.M., Guerringue Y., Matthus E., Jamieson F.J.C., Davies J.M. 2019.** Impairment in karrikin but not strigolactone sensing enhances root skewing in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal* 98(4): 607-621.
323. **Szabó V., Sárvári A., Hrotkó K. 2011.** Treatment of stockplants with biostimulators and their effects on cutting propagation of *Prunus marianna* 'GF 8-1', *Acta Horticulturae* 923: 277-282.
324. **Szlachetka W. 2000.** *Hippeastrum* Herb. – hipeastrum, zwartnica. [W] *Uprawa roślin ozdobnych*. Chmiel H., (red.). Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne. Polska: 523-533.
325. **Szućko I., Achrem M., Kalinka A. 2012.** Charakterystyka i zastosowanie SSR oraz ISSR w badaniach genomów roślinnych. *Kosmos* 61(4): 597-602.

326. **Szweykowska A., Szweykowski J., 1999.** Botanika Tom I. Morfologia. Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa: 146-157, 162, 283-292, 306.
327. **Taiz L., Zeiger E. 2002.** Plant Physiology. Sinauer Associates Inc Publishers. Sunderland: 690.
328. **Takayama S., Isogai A. 2005.** Self-incompatibility in plants. Annual Review of Plant Biology 5: 467-489.
329. **Takeuchi H., Higashiyama T. 2012.** A species-specific cluster of defensin-like genes encodes diffusible pollen tube attractants in *Arabidopsis*. PLoS Biology 10: e1001449.
330. **Takeuchi H., Higashiyama T. 2016.** Tip-localized receptors control pollen tube growth and LURE sensing in *Arabidopsis*. Nature 531: 245-248.
331. **Teixeira da Silva J.A., Bolibok H., Rakoczy-Trojanowska M. 2007.** Molecular Markers in Micropropagation, Tissue Culture and *In Vitro* Plant Research. Genes, Genomes and Genomics 1(1): 66-67.
332. **Theron K.I., Hertogh A. 2001.** *Amaryllidaceae*: geophytic growth, development and flowering. Horticultural Reviews 25: 1-70.
333. **Theron K.I., Jacobs G. 1996.** Changes in Carbohydrate Composition of the Different Bulb Components of *Nerine bowdenii* W. Watson (*Amaryllidaceae*). Journal of the American Society for Horticultural Science 121(2): 343-346.
334. **Thorpe T.A. 1990.** The current status of plant tissue culture. [W] Plant Tissue Culture: Applications and Limitations. Bhojwani S.S., (red.) Elsevier Science Publisher, The Netherlands: 1-33.
335. **Thorpe T.A., Stasolla C., Yeung E.C., de Klerk G.J., Roberts A., George E.F. 2008.** The Components of Plant Tissue Culture Media II: Organic Additions, Osmotic and pH Effects, and Support Systems. [W] Plant Propagation by Tissue Culture. George E.F., Hall M.A., de Klerk G.J., (red.) Springer, The Netherlands: 115-173.
336. **Toit Du. E.S., Robbertse P.J., Niederwieser J.G. 2004.** Plant carbohydrate partitioning of *Lachenalia* cv. Ronina during bulb production. Scientia Horticulturae 1002: 433-440.
337. **Tombolato A. Matthes L. 1998.** Collection of *Hippeastrum* spp., *Alstroemeria* spp. and other Brazilian bulbous species. Acta Horticulturae 454: 91-98.
338. **Tombolato A.F.C, Bovi V., Matthes L.A.F, Azevedo C., 1991.** Breeding new varieties of *Hippeastrum* with Brazilian native species. Herbertia 47: 88-92.
339. **Tombolato A.F.C., Uzzo R.P., Junqueira A.H., Peetz M., Stancato G.C 2013.** Geophyte research and production in Brazil. [W] Ornamental Geophytes. From Basic Science to Sustainable Production. Kamenetsky R., Okubo H., (red.) CRC Press, USA: 435-448.

340. **Traub H.P. 1958.** The *Amaryllis* manual. The Macmillan Company. New York: 233-235.
341. **Treder J. 2002.** Partitioning of carbohydrates in the bulb of oriental lily 'Stargazer' is influenced by supplemental lighting during forcing. [W] XXVI International Horticultural Congress: Elegant Science in Floriculture 624: 199-205.
342. **Trevisan F., Chu E.P., Gaspar M., Carvalho M.A. 2014.** *In vitro* culture and fructan production by *Vernonia herbacea* (Asteraceae). Acta Physiologiae Plantarum 36(9): 2299-2307.
343. **Turner P., McLennan A., Bates A., White M. 2012.** Biologia molekularna – krótkie wykłady. Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa: 196-201.
344. **Uddin M., Singh S., Chishti A.S., Singh S., Bhat U.H., Khan M.M.A. 2023.** Rhizomes Priming with Smoke–Water and Karrikinolide Enhance the Production of Essential Oil and Bioactive Constituents of *Mentha arvensis* L. via Improving the Growth and Physiological Attributes of Plant. Journal of Plant Growth Regulation 42(11): 7023-7037.
345. **UPOV 2001.** Guidelines for the conduct of tests for distinctness, uniformity and stability *Amaryllis* (*Hippeastrum* Herb.). Geneva: International Union for The Protection of New Varieties of Plant TG/181/3, 17.
346. **UPOV 2005.** Report on the impact of plant variety protection - https://www.upov.int/export/sites/upov/about/en/pdf/353_upov_report.pdf [Data dostępu: 15.05.2024]
347. **Vaillancourt A., Nikongolo K., Michael P., Mehes M. 2008.** Identification, characterisation, and chromosome locations of rye and wheat specific ISSR and SCAR markers useful for breeding purposes. Euphytica 159: 297-306.
348. **Van Scheepen J., Moerman A., Bodegom S. 2007.** *Hippeastrum* cultivars zoals die in teelt en handel zijn. Bloembollennisie 125: 29-30.
349. **Van Staden J., Jäger A.K., Light M.E., Burger B.V. 2004.** Isolation of the major germination cue from plant-derived smoke. South African Journal of Botany 70: 654-659.
350. **Van Staden J., Zazimalova E., George E.F. 2008.** Plant growth regulators II: cytokinins, their analogues and antagonists. [W] Plant propagation by tissue culture. George E.F., Hall M.A., De Klerk G.J., (red.) Springer, Berlin: 205-226.
351. **Van Tuyl J.M., Arens P. 2010.** *Lilium*: Breeding history of the modern cultivar assortment. II International Symposium on the Genus *Lilium* 900.
352. **Van Tuyl J.M., Arens P., Marasek-Ciolakowska A. 2012.** Breeding and Genetics of Ornamental Geophytes. [W] Ornamental Geophytes: From Basic Science to Sustainable Horticultural Production. Kamenetsky., R., Okubo, H., (red.) CRC Press, USA, 2: 131-158.

353. **Van Tuyl J.M., Lim K.B., Ramanna M.S. 2002.** Interspecific hybridization and introgression. [W] Breeding for ornamentals: Classical and Molecular Approaches. Veinsten A., (red.) Springer-Science + Business Media, B.V: 85-103.
354. **Varkulevičienė J., Žukauskienė J. 2016.** Morphologic and genetic evaluation of Lithuanian *Hippeastrum* × *hybridum*. Optimization of Ornamental and Garden Plant Assortment, Technologies and Environment 12(7): 125-130.
355. **Vazquez C., Reed S.T., Dunn C. 2015.** Nitrogen Fertilization as Ammonium or Nitrate-N on *Hippeastrum hybridum* BulbGrowth. Agricultural Sciences 6: 1547-1554.
356. **Villaecija-Aguilar J.A., Hamon-Josse M., Carbonnel S., Kretschmar A., Schmid C., Dawid C., Bennett T., Gutjahr C. 2019.** SMAX1/SMXL2 regulate root and root hair development downstream of KAI2-mediated signalling in *Arabidopsis*. PLoS Genetics 15(8): e1008327.
357. **Vosa C.G. 2005.** On chromosome uniformity, bimodality and evolution in the tribe *Aloineae* (*Asphodelaceae*). Caryologia 581: 83-85.
358. **Wang C., Tillberg J.E. 1996.** Effects of nitrogen deficiency on accumulation of fructan and fructan metabolizing enzyme activities in sink and source leaves of barley (*Hordeum vulgare*). Physiologia Plantarum 97(2): 339-345.
359. **Wang G.Y., Yuan M.F., Hong Y. 2002.** *In vitro* flower induction in roses. In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant 38(5): 513-518.
360. **Wang Y., Chen D., He X., Shen J., Xiong M., Wang X., Zhou D., Wei Z. 2018.** Revealing the complex genetic structure of cultivated *Amaryllis* (*Hippeastrum hybridum*) using transcriptome-derived microsatellite markers. Scientific Reports 8: 1-12.
361. **Waters M.T. 2017.** From little things big things grow: karrikins and new directions in plant development. Functional Plant Biology 44(4): 373-385.
362. **Weiss-Schneeweiss H., Schneeweiss G.M. 2013.** Karyotype diversity and evolutionary trends in angiosperms. [W] Plant genome diversity. Leitch I.J., Greilhuber J., Dolezel J., Wendel J.F., (red.) Austria, Springer: 209-230.
363. **Welsh J., McClelland M. 1990.** Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. Nucleic Acids Research 18(24): 7213-7218.
364. **Werbrouck S.P.O., Strnad M., Van Onckelen H.A., Debergh P.C. 1996.** *Meta-Topolin*, an alternative to benzyladenine in tissue culture? Physiologia Plantarum 98(2): 291-297.
365. **Werner T., Motyka V., Strnad M., Schmülling T. 2001.** Regulation of plant growth by cytokinin. Proceedings of the National Academy of Sciences 98 (18): 10487-10492.

366. **Widlak M. 2016.** Przyrodniczy wskaźnik zasolenia gleby. Proceedings of ECOpole 10(1): 359-365.
367. **Widmer A., Lexer C., Cozzolino S. 2009.** Evolution of reproductive isolation in plants. Heredity 102: 31-38.
368. **Williams J.G., 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 Research 18(22): 6531-6535.
369. **Williams M., Dudley T.R. 1984.** Chromosome count for *Hippeastrum iguazuuanum*. Taxon 33: 271-275.
370. **Witomska M., Ilczuk A. 2004.** Formation of adventitious bulblets *in vitro* on scale explants in *Hippeastrum × chmielii* Chm. Biotechnologia 2: 199-205.
371. **Witomska M., Łukaszewska A., Wojtowicz M. 2008.** Micropropagation of *Hippeastrum × chmielii* Chm. from scale and scape explants. Propagation of Ornamental Plants 8: 158-160.
372. **Wojdyła A.T. 2018.** Potential of using products containing amino acids in the protection of garden pansy (*Viola wittrockiana*) against pansy leaf anthracnose (*Colletotrichum violae-tricoloris*) and their impact on plant growth. Progress in Plant Protection 58(2): 107-114.
373. **Wojdyła A.T. 2019.** Evaluation of the effectiveness of Agro-Sorb Folium and its mixtures with fungicides in the protection of roses against powdery mildew. Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych (598): 63-74.
374. **Wolf S., Mauille G., Pelloux J. 2009.** Homogalacturonan methylesterification and plant development. Molecular Plant 2: 851-860.
375. **Wóycicki S. 1966.** Zarys Hodowli Roślin Ozdobnych. Państwowe Wydawnicwo Rolnicze i Leśne: Warszawa, Polska.
376. **Xie D.F., Tan J.B., Yu Y., Gui L.J., Su D.M., Zhou S.D., He X.J. 2020.** Insights into phylogeny, age and evolution of *Allium* (*Amaryllidaceae*) based on the whole plastome sequences. Annals of Botany 125: 1039-1055.
377. **Xiong D., Flexas J. 2020.** From one side to two sides: the effects of stomatal distribution on photosynthesis. New Phytologist 228(6): 1754-1766.
378. **Xiong M., Yang S., Wang Y., Chen D., Wang X., Zhou D., Wei Z. 2021.** Genetic analysis of 38 double-flowered amaryllis (*Hippeastrum hybridum*) cultivars based on SRAP markers. Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus 20(3): 15-25.
379. **Xue-Qin G.O.N.G., Cui-Rong Y., Fu-Ning Q.U., Li-Xue C.H.E.N., Wen-Sheng Y.U., Xiao-Xu J.I.E. 2012.** Somatic embryogenesis and plant regeneration in *Hippeastrum hybridum*. Journal of Acta Horticulturae Sinica 39(2): 381.
380. **Yang T., Lian Y., Wang C. 2019.** Comparing and contrastin the multiple roles of butenolide plant growth regulators: strigolactones and karrikins in plant

- development and adaptation to abiotic stress. *International Journal of Molecular Sciences* 20(24): 1-36.
381. **Ye L., Shi Y.M. 2008.** Research on pollen germination and pollen preservation characteristic of *Hippeastrum*. *Journal of Shanghai Jiaotong University - Agricultural Science* 1: 3.
382. **Yoshida M. 2021.** Fructan structure and metabolism in overwintering plants. *Plants* 10(5): 933.
383. **Yu B., Huang L.L., Zhu Y., Zhu G.F., Sun Y.B. 2020.** Induction of embryogenic calli from immature pedicels and efficient plant regeneration of *Hippeastrum*. *Acta Horticulturae Sinica* 47(5): 907-915.
384. **Yu B., Liu M., Zhu Y., Zhong A., Huang L., Zhu D., Li C., Zhu G., Sun Y. 2018.** Cultivation of *Hippeastrum vittatum* Embryogenic Calli and Their Sensitivity to Antibiotics. *Agricultural Biotechnology* 7(1): 5-8.
385. **Zakizadeh S., Kavani B., Onsinejad R. 2013.** *In vitro* rooting of amaryllis (*Hippeastrum ×johnsonii*), a bulbous plant, via NAA and 2-iP. *Annals of Biological Research*. 4: 69-71.
386. **Zayed R., El-Shamy H., Berkov S., Batista J., Codina C. 2011.** *In vitro* micropropagation and alkaloids of *Hippeastrum vittatum*. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant* 47: 695-701.
387. **Zeeman S.C., Kossmann J., Smith A.M. 2010.** Starch: its metabolism, evolution, and biotechnological modification in plants. *Annual Review of Plant Biology*. 61: 209-234.
388. **Zenkter M., 2007.** Kultura zalążków, zalążni i zarodków. [W] *Biotechnologia roślin*. Malepszy S., (red.). Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Polska: 70-87.
389. **Zhang F., Shu X., Wang T., Zhuang W., Wang Z.L. 2019a.** The complete chloroplast genome sequence of *Lycoris radiata*. *Mitochondrial DNA Part B* 4: 2886-2887.
390. **Zhang F., Tong H., Yang H., Wang T., Zhuang W., Shu X., Wang Z. 2019b.** Characterisation of the complete chloroplast genome of *Lycoris longituba* (*Amaryllidaceae*). *Mitochondrial DNA Part B* 4: 3782-3783.
391. **Zhang F., Wang T., Shu X., Wang N., Zhuang W., Wang Z. 2020.** Complete Chloroplast Genomes and Comparative Analyses of *L. chinensis*, *L. anhuiensis*, and *L. aurea* (*Amaryllidaceae*). *International Journal of Molecular Sciences* 21: 5729.
392. **Zhang F., Zhuang W., Shu X., Wang T., Wang Z.L. 2019c.** Complete chloroplast genome of *Lycoris sprengeri* (*Amaryllidaceae*) and genetic comparison. *Mitochondrial DNA Part B* 4: 3577-3578.
393. **Zhang L., Xu Y.C., Cheng H.Z., Zhou Y.Z., Lou X.M., Lü W.T. 2012.** Genetic relationship analysis and fingerprint construction of 62 cultivars of *Hippeastrum*

- spp. based on ISSR marker. Journal of Plant Resources and Environment 21: 48-54.
394. **Zhang S., Carey J. 2014.** Polyploidization in *Hippeastrum* Hybrids and *H. papilio*. Hortscience 9: 381-381.
395. **Zhang X., Liu W., Nagae T.T., Takeuchi H., Zhang H., Han Z., Higashiyama T., Chai J. 2017.** Structural basis for receptor recognition of pollen tube attraction peptides. Nature Communications 8: 1331.
396. **Zhong S., Qu L.J. 2019.** Peptide/receptor-like kinase-mediated signaling involved in male-female interactions. Current Opinion in Plant Biology 51: 7-14.
397. **Zhou C., Liu Y., Yang C. 2012.** Comparison of *Amaryllidaceae* leaf anatomical structure and microstructure. Hubei Agricultural Sciences 8: 1603-1607.
398. **Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. 1994.** Genomic fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)- anchored polymerase chain reaction amplification. Genomics 20: 176-183.