WYDZIAŁ ROLNICZY
AKADEMIA TECHNICZNO-ROLNICZA W BYDGOSZCZY
KOŁO NAUKOWE BIOTECHNOLOGII

II KONFERENCJA

BIOTECHNOLOGIA:
DZIŚ W AKADEMII TECHNICZNO-ROLNICZEJ,
JUTRO W REGIONIE KUJAWSKO-POMORSKIM

Streszczenia

60

Biotechnologia: dziś w Ak

004.

Bydgoszcz, 21 maja 2004

60

WYDZIAŁ ROLNICZY ATR BYDGOSZCZ
KOŁO NAUKOWE BIOTECHNOLOGII

II KONFERENCJA

BIOTECHNOLOGIA:
DZIŚ W AKADEMII TECHNICZNO-ROLNICZEJ,
JUTRO W REGIONIE KUJAWSKO-POMORSKIM

Streszczenia

Biblioteka Główna ATR w Bydgoszczy
000000116956

Bydgoszcz, 21 maja 2004

KOMITET HONOROWY

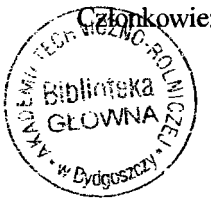
Prof. dr hab. inż. Janusz Prusiński
Prorektor ds. Dydaktycznych i Studenckich

Prof. dr hab. inż. Jacek Żarski
Dziekan Wydziału Rolniczego

Dr inż. Piotr Piszczek
Prodziekan Wydziału Rolniczego ds. Dydaktycznych i Studenckich

KOMITET ORGANIZACYJNY

Przewodniczący: prof. dr hab. inż. Paweł Nowaczyk
Członkowie: dr inż. Dorota Olszewska
dr inż. Iwona Jędrzejczyk
mgr inż. Anna Kisiała
Łukasz Jaźwiński
Ilona Szabłowska-Gadomska



86598

© Copyright
Wydawnictwa Uczelniane Akademii Techniczno-Rolniczej
Bydgoszcz 2004

Wydano za zgodą Rektora ATR

Wydawnictwa Uczelniane Akademii Techniczno-Rolniczej
Redaktor Naczelny
dr hab. Lucyna Drozdowska, prof. nadzw. ATR
ul. Ks. A. Kordeckiego 20, 85-225 Bydgoszcz, tel. (052) 3749482, 3749426
e-mail: wydawucz@atr.bydgoszcz.pl http://www.atr.bydgoszcz.pl/~wyd

---

Wyd. I (dodruk). Nakład 30 egz. Ark. aut. 2,00. Ark. druk. 3,25. Papier druk. kl. III.
Oddano do druku i druk ukończono w maju 2004 r. Zamówienie nr 6/2004
Uczelniany Zakład Małej Poligrafii ATR Bydgoszcz, ul. Ks. A. Kordeckiego 20

Spis treści

WYDZIAŁ ROLNICZY

Katedra Biochemii

Joanna Czapiewska
Aktywność fosfatazy oraz zawartość różnych form fosforu w pszenicy ozimej uprawianej w zmianowaniu wzbogacającym glebę w substancje organiczne 9

Andżelika Czerwińska
Sezonowa zmienność fosfatazy i zawartość różnych form fosforu w glebie i jęczmieniu jarym uprawianym w zmianowaniu zubożającym glebę w materię organiczną 10

Agnieszka Strąkowska
Aktywność fosfataz i zawartość fosforu w glebie oraz jęczmieniu jarym uprawianym w zmianowaniu wzbogacającym glebę w materię organiczną 11

Katedra Chemii Środowiska

Małgorzata Beltner, Anna Sikorska
Indukcja melanotycznych i amelanotycznych mutantów u *Aspergillus niger* 12

Michał Bieniek, Łukasz Jaźwiński
Indukcja poliploidów u *Aspergillus niger* 13

Joanna Biernaciak, Agnieszka Wohlbrecht
Wpływ temperatury, pH i czasu inkubacji na aktywność celulolityczną osadów dennych 14

Małgorzata Cikorska
Wpływ melanotycznych i amelanotycznych mikroorganizmów glebowych na właściwości kwasów huminowych 15

Szymon Staniszewski
Wpływ kwasów huminowych na efekt działania antybiotyków 16

Jarosław Zdziarski
Wykorzystanie metody PCR do badania homologii wybranych *Basidiomycotina* 17

Katedra Fitopatologii

PAULINA JAGIEŁŁO
Wykorzystanie metody PCR do identyfikacji i określania zmienności wybranych izolatów *Fusarium culmorum* (W.G. Smith) Sacc. 18

AGNIESZKA WALCZAK
Występowanie endofita *Neotyphodium coenophialum* w kostrzewie trzcinowej i jego właściwości antagonistyczne w stosunku do wybranych grzybów 19

BERENIKA WELTROWSKA, WALDEMAR WASIAK
Identyfikacja zmienności genetycznej izolatów *Bipolaris sorokiniana* pochodzących z jęczmienia jarego uprawianego w różnych systemach i regionach Polski 20

AGNIESZKA WITKOWIAK
Zastosowanie metody PCR do identyfikacji potencjalnie mykotoksynotwórczych izolatów grzybów z rodzaju *Fusarium* i określenia ich zmienności w zależności od środowiska uprawnego 21

KATARZYNA ZAROBKIEWICZ
Antagonistyczne oddziaływanie grzybów z rodzaju *Trichoderma* w stosunku do wybranych patogenów grzybowych identyfikowanych metodą PCR 22

Katedra Fizjologii Roślin

ŁUKASZ KLÓSKA
Potencjał regeneracyjny i efektywność transformacji tytoniu w zależności od zastosowanych regulatorów wzrostu 23

TOMASZ KOWALSKI
Formowanie elementów trachealnych *in vitro* w kalusie papryki odmiany 'Bryza' 24

ESTERA LEWICKA
Wpływ auksyny i cytokininy oraz warunków świetlnych na morfogenezę komórek kalusa papryki w kulturach zawiesinowych 25

Katedra Genetyki i Hodowli Roślin

DOROTA PRZYBOROWSKA
Wydajność biotechnologiczna owoców soft - flesh międzygatunkowych mieszańców *Capsicum frutescens* L. i *Capsicum annuum* L. 26

Joanna Siwicka
Przydatność biotechnologiczna owoców typu soft - flesh mieszańców międzygatunkowych *Capsicum frutescens* L. z *Capsicum annuum* L. 27

Anna Woźna
Ocena biotechnologiczna owoców typu soft - flesh mieszańców międzygatunkowych *Capsicum frutescens* L. i *Capsicum annuum* L. 28

Zakład Biologii Molekularnej i Cytometrii

Agnieszka Stefańska
Aktywność polirybosomów oraz cyklu komórkowego w moczonych nasionach buraka cukrowego *Beta vulgaris* L. 29

Ilona Szabłowska-Gadomska
Polisomatyczność w różniących się stopniem ploidalności siewkach buraka cukrowego (*Beta vulgaris* L.) 30

Adam Szpechciński
Zjawisko endoreduplikacji w rosnących *in vitro* siewkach odmian buraka pastewnego różniących się cechami korzenia 31

Katedra Mikrobiologii

Krystyna Goszczyńska, Magdalena Fałkowska
Identyfikacja i charakterystyka biochemiczna bakterii kwasu mlekowego zdolnych do inhibicji patogenów w osadach pościekowych poddanych procesom biotechnologicznym 32

Karolina Grontkowska, Małgorzata Kaczorowska
Ocena mikrobiologiczna powietrza atmosferycznego w obiektach uzdatniających odpady komunalne do celów rolniczych 33

Katedra Przechowalnictwa i Przetwórstwa Produktów Roślinnych

Agnieszka Bilska
Wpływ nawożenia mineralnego, organicznego oraz środków ochrony roślin na aktywność polifenylooksydazy w bulwach ziemniaków 34

Joanna Litwic-Staniszewska
Wartość biologiczna i konsumpcyjna wybranych produktów roślinnych przetworzonych w procesie fermentacji 35

Katedra Roślin Ozdobnych i Warzywnych

Magdalena Czaja
Wpływ barwy światła na wzrost i ukorzenianie mikrosadzonek pomidora (*Lycopersicon esculentum* Mill.) w kulturach *in vitro* 36

Wojciech Modrzejewski
Separacja chimer chryzantemy wielkokwiatowej (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev) w kulturach *in vitro* 37

Iwona Sobkiewicz
Wpływ jakości światła na aklimatyzację *in vivo* namnażanych *in vitro* mikrosadzonek pomidora (*Lycopersicon esculentum* Mill.) 38

Pracownia Biotechnologii

Filip Ryś
Segregacja chimer chryzantemy wielkokwiatowej (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev) odmiany 'Lady Amber' i 'Lady Rosy' w kulturach *in vitro* 39

WYDZIAŁ ZOOTECHNICZNY

Katedra Biotechnologii Zwierząt

Joanna Adach
Wykorzystanie metody PCR do amplifikacji specyficznych sekwencji DNA i oznaczania płci ptaków 40

Aleksandra Bock
Porównanie rozwoju zarodka kury *in vitro* i *in vivo* 41

Anna Gabrych
Wpływ wybranych czynników na przeżywalność komórek blastodermalnych *in vitro* 42

Anna Maciuszonek
Wykorzystanie metody RAPD-PCR do charakterystyki wybranych populacji gęsi 43

Ewa Wiśniewska
Wykorzystanie metody RAPD-PCR do charakterystyki wybranych populacji kaczek 44

Katedra Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt

Karina Bartczak
Występowanie polimorfizmu rejonów jąderkotwórczych u świń w 8. parze chromosomów 45

Justyna Dobrzańska
Występowanie polimorfizmu rejonów jąderkotwórczych u świń w 10. parze chromosomów 46

Małgorzata Drożniewska
Poszukiwanie różnic rasowych na podstawie analizy chromosomów płciowych świń 47

Karolina Katlewska
Określenie różnic rasowych w występowaniu Ag-NOR u świń 48

INSTYTUT HODOWLI I AKLIMATYZACJI ROŚLIN

Pracownia Chorób i Szkodników Kwarantannowych Ziemniaka

Sebastian Brzozowski
Ocena podatności wybranych odmian ziemniaka (*Solanum tuberosum* L.) na infekcję *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* (Spieckermman et Kotthoff) Davis et al. 49

Weronika Grzech
Ocena podatności wybranych odmian ziemniaka (*Solanum tuberosum* L.) na infekcję *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* (Spieckermman et Kotthoff) Davis et al. 50

Zakład Genetyki i Hodowli Roślin

Andrzej Domachowski
Wpływ proteoglikanów AGP na rozwój komórek zawiesinowych buraka cukrowego (*B. vulgaris*) w kulturze *in vitro* 51

Aktywność fosfatazy oraz zawartość różnych form fosforu w pszenicy ozimej uprawianej w zmianowaniu wzbogacającym glebę w substancje organiczne

JOANNA CZAPIEWSKA

Katedra Biochemii
Wydział Rolniczy, Akademia Techniczno-Rolnicza
ul. Bernardyńska 6, 85-029 Bydgoszcz

Fosfor jest jednym z biopierwiastków spełniających w roślinie ważne funkcje: uczestniczy w procesie fotosyntezy i przemianach azotowych. W glebie znaczna jego ilość występuje w połączeniach organicznych, które nie są dostępne dla roślin. Organiczne związki fosforu muszą ulec hydrolizie przy udziale fosfataz. Materiał badawczy stanowiła pszenica ozima oraz gleba pochodząca z doświadczenia prowadzonego przez IUNG w Puławach. Glebę nawożono obornikiem w dawkach: 0, 20, 40, 60, 80 $t \cdot ha^{-1}$ oraz azotem mineralnym w ilości: 0, 40, 80, 120 $kg \cdot ha^{-1}$. Próbki roślinne do analiz pobrano w różnych fazach rozwojowych pszenicy ozimej, w maju, lipcu i październiku 2002 roku. W odpowiednio przygotowanym materiale roślinnym i glebowym oznaczono: aktywność fosfatazy alkalicznej i kwaśnej metodą Tabatabai i Bremnera, zawartość fosforu ogółem ($P_{og.}$) metodą Mehta, zawartość fosforu związków organicznych ($P_{org.}$) wyliczoną z różnicy pomiędzy fosforem ogółem a nieorganicznym, fosfor przyswajalny (P_{E-R}) metodą Egnera-Riehma. Zaobserwowano istotny wpływ nawożenia obornikiem i azotem mineralnym na aktywność fosfataz roślinnych i glebowych oraz zawartość wybranych frakcji fosforu. Stwierdzono różnicę zawartości badanych frakcji fosforu w części nadziemnej i podziemnej pszenicy ozimej. Stosowanie wzrastających dawek obornika wpłynęło istotnie na aktywność fosfataz w próbkach glebowych pobranych we wszystkich trzech terminach. Zawartość P_{E-R} wzrastała wraz ze zwiększającymi się dawkami nawozu organicznego. Aktywność fosfatazowa oraz zawartość fosforu zmieniała się w próbkach pobranych w trakcie sezonu wegetacyjnego uprawianej rośliny.

Promotor: dr hab. Jan Koper, prof. nadzw. ATR

Sezonowa zmienność fosfatazy i zawartość różnych form fosforu w glebie i jęczmieniu jarym uprawianym w zmianowaniu zubożającym glebę w materię organiczną

ANDŻELIKA CZERWIŃSKA

Katedra Biochemii
Wydział Rolniczy, Akademia Techniczno-Rolnicza
ul. Bernardyńska 6, 85-029 Bydgoszcz

Fosfor uczestniczy w regulacji fotosyntezy, oddychania, metabolizmu tłuszczowego, przemian azotowych oraz syntezy enzymów. Motorem wszystkich przemian i procesów zachodzących w roślinach są enzymy. Dużą rolę przypisuje się fosfatazom, które w roślinie i glebie są odpowiedzialne za gospodarkę fosforem. Próbki glebowe i roślinne pobrano w 2003 roku z doświadczenia polowego prowadzonego przez IUNG w Puławach. W badaniach uwzględniono nawożenie obornikiem w dawkach: 0, 20, 40, 60, 80 $t \cdot ha^{-1}$ oraz wzrastającymi dawkami azotu w postaci saletry amonowej na poziomie: 0, 40, 80, 120 $kg \cdot ha^{-1}$. Próbki pobrano dwukrotnie w sezonie wegetacyjnym jęczmienia jarego – w maju i lipcu. W materiale glebowym i roślinnym oznaczono: aktywność fosfatazy kwaśnej i alkalicznej metodą Tabatabai i Bremnera, fosfor ogółem metodą Mehta, fosfor przyswajalny metodą Egnera-Riehma, fosfor związków organicznych wyliczono z różnicy, jaką uzyskano w mineralizowanych i nie mineralizowanych próbach. Doświadczenie prowadzono w zmianowaniu uwzględniającym dobór roślin zubożający glebę w substancje organiczne. Istotnym czynnikiem wpływającym na zawartość różnych frakcji fosforu oraz zmiany aktywności fosfatazy w glebie i roślinie jest nawożenie organiczne i mineralne. Stwierdzono istotny wpływ nawożenia obornikiem i azotem na aktywność fosfatazy alkalicznej i kwaśnej w części nadziemnej i podziemnej jęczmienia jarego. Wyższą aktywnością fosfatazową charakteryzowały się próbki glebowe i roślinne pobrane w maju. Zastosowanie zwiększających się dawek azotu istotnie wpłynęło na wzrost fosforu ogółem i fosforu związków organicznych w analizowanych próbach glebowych i roślinnych pobranych w maju.

Promotor: dr hab. Jan Koper, prof. nadzw. ATR

Aktywność fosfataz i zawartość fosforu w glebie oraz jęczmieniu jarym uprawianym w zmianowaniu wzbogacającym glebę w materię organiczną

Agnieszka Strąkowska

Katedra Biochemii
Wydział Rolniczy, Akademia Techniczno-Rolnicza
ul. Bernardyńska 6, 85-029 Bydgoszcz

Fosfor odgrywa ważną rolę w wielu procesach biochemicznych i fizjologicznych roślin. Formą dostępną dla roślin są związki mineralne fosforu, dlatego też proces hydrolizy form organicznych jest bardzo ważny, a odbywa się dzięki fosfatazie alkalicznej i kwaśnej. Do badań użyto próbek glebowych i roślinnych pochodzących z doświadczenia założonego na terenie RZD Grabów. Glebę nawożono obornikiem w dawkach: 0, 20, 40, 60, 80 $t \cdot ha^{-1}$ oraz dawkami azotu mineralnego: 0, 40, 80, 120 $kg \cdot ha^{-1}$. Próbki do analiz pobrano w maju i lipcu. W próbkach glebowych i roślinnych oznaczono: fosfatazę alkaliczną i kwaśną metodą Tabatabai i Bremnera, fosfor ogółem metodą Mehta, fosfor przyswajalny (DL) metodą Egnera-Riehma, fosfor związków organicznych wyliczono z różnicy między zawartością fosforu ogółem i fosforu nieorganicznego. W doświadczeniu stwierdzono istotny wpływ nawożenia obornikiem i azotem na aktywność obu fosfataz. W maju najwyższą aktywność fosfatazy alkalicznej odnotowano w części nadziemnej jęczmienia jarego pobranego z poletek nawożonych dawką obornika 40 $t \cdot ha^{-1}$, natomiast w próbkach pobranych w lipcu najwyższą aktywność zaobserwowano przy maksymalnej dawce azotu. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono istotny wpływ nawożenia obornikiem i azotem na zawartość wybranych frakcji fosforu. Większą zawartością fosforu ogółem charakteryzowały się próbki korzenia jęczmienia jarego pobrane w maju w porównaniu z próbkami z lipca. Najwięcej $P_{org.}$ zawierała część nadziemna jęczmienia jarego pobranego z poletek nawożonych dawką obornika 80 $t \cdot ha^{-1}$ i azotu 80 $kg \cdot ha^{-1}$. W glebie największa zawartość $P_{org.}$ wyniosła 0,530 $g \cdot kg^{-1}$.

Promotor: dr hab. Jan Koper, prof. nadzw. ATR

Indukcja melanotycznych i amelanotycznych mutantów u *Aspergillus niger*

Małgorzata Beltner, Anna Sikorska

Katedra Chemii Środowiska
Wydział Rolniczy, Akademia Techniczno-Rolnicza
ul. Bernardyńska 6, 85-029 Bydgoszcz

Pigmenty melaninowe stanowią obecnie interesujący, choć trudno dostępny obiekt badawczy. Wzmożone zainteresowanie tymi barwnikami wpływa na ich większe zapotrzebowanie jako materiału badawczego, a pozyskanie naturalnych melanin jest kosztowne. W handlu dostępne są melaniny syntetyczne lub pozyskiwane z *Sepia officinalis*. Rozwiązaniem problemu może być wykorzystanie mikroorganizmów do produkcji tego pigmentu. Dlatego podjęto badania nad indukcją mutacji u *Aspergillus niger* prowadzącą do nadmiernej produkcji melanin. Poprzez chemiczną mutagenezę uzyskano 94 szczepy mutantów. W testach *in vitro* sprawdzono ich zdolności biochemiczne do rozkładu: celulozy, skrobi, pektyn i żelatyny oraz oceniono zdolność do syntezy melanin. Zastosowana metoda chemicznej indukcji mutantów pozwoliła na uzyskanie szczepów o ograniczonej zdolności do syntezy melanin. Większość szczepów zatraciła zdolność do syntezy melanin, a 30% do wytwarzania czarnych, melanotycznych zarodników.

Promotor: prof. dr hab. Sławomir Gonet

Indukcja poliploidów u *Aspergillus niger*

MICHAŁ BIENIEK, ŁUKASZ JAŻWIŃSKI

Katedra Chemii Środowiska
Wydział Rolniczy, Akademia Techniczno-Rolnicza
ul. Bernardyńska 6, 85-029 Bydgoszcz

Melaniny ze względu na swoje unikalne właściwości budzą coraz większe zainteresowanie. Dlatego podjęto próbę pozyskania poliploidalnych szczepów *Aspergillus niger* wydzielających duże ilości pigmentów melaninowych. Poliploidyzację przeprowadzono z zastosowaniem kolchicyny. Uzyskano 50 szczepów poliploidów. W testach *in vitro* sprawdzono ich zdolności biochemiczne do rozkładu: celulozy, skrobi, pektyn i żelatyny oraz oceniono zdolność do syntezy melanin. Uzyskane wyniki pozwalają stwierdzić, że poliploidyzacja jest prostą metodą uzyskania szczepów grzybów zdolnych do wydzielania nadmiernych ilości melanin. Indukcja i hodowla poliploidalnych szczepów melanotycznych grzybów pozwoli na pozyskanie taniego źródła melanin.

Promotor: prof. dr hab. Sławomir Gonet

Wpływ temperatury, pH i czasu inkubacji na aktywność celulolityczną osadów dennych

Joanna Biernaciak, Agnieszka Wohlbrecht

Katedra Chemii Środowiska
Wydział Rolniczy, Akademia Techniczno-Rolnicza
ul. Bernardyńska 6, 85-029 Bydgoszcz

Materiał badawczy stanowiły osady denne jezior. Aktywność celulolityczną tych osadów badano w różnej temperaturze (30-60°C), przy zróżnicowanym pH (4,0-8,0), po 3, 6 i 9 dniach inkubacji. Aktywność celulolityczną wyrażono liczbą μM glukozy·h^{-1}·g^{-1}. Glukozę oznaczano metodą Somogy'ego i Nelsona. Wszystkie testowane czynniki (temperatura, pH i czas inkubacji) istotnie wpłynęły na aktywność celulolityczną osadów dennych. Wydłużenie czasu inkubacji do 6 dni powodowało wzrost aktywności celulolitycznej, jednak po 9 dniach następowało jej obniżenie. Analiza wpływu temperatury oraz poziomu pH na aktywność celulolityczną osadów wykazała, że maksymalną aktywność uzyskano przy 45°C i zakresie pH od 5,5 do 6,0. Na podstawie otrzymanych wyników można stwierdzić, że do oceny aktywności celulolitycznej osadów dennych należy przygotować roztwór substratu o pH 5,5 i inkubację prowadzić przez 6 dni w temperaturze 45°C.

Promotor: prof. dr hab. Janusz Hermann

Wpływ melanotycznych i amelanotycznych mikroorganizmów glebowych na właściwości kwasów huminowych

MAŁGORZATA CIKORSKA

Katedra Chemii Środowiska
Wydział Rolniczy, Akademia Techniczno-Rolnicza
ul. Bernardyńska 6, 85-029 Bydgoszcz

Jedną z mało poznanych funkcji melanin glebowych jest ich udział w powstawaniu substancji próchniczych. Dlatego celem podjętych badań było określenie podstawowych parametrów fizykochemicznych kwasów huminowych powstałych po rozkładzie resztek roślinnych w obecności melano- i amelanotycznych mikroorganizmów. Kwasy huminowe wyizolowano po 12 miesiącach inkubacji materiału glebowego i resztek roślinnych z melano- i amelanotycznymi mikroorganizmami. W kwasach tych określono skład pierwiastkowy i stopień utlenienia wewnętrznego. Zarejestrowano również widma FT-IR oraz UV-VIS. Badane kwasy charakteryzują się średnim udziałem struktur aromatycznych. W widmach FT-IR obserwuje się wiele pasm absorpcyjnych. We wszystkich widmach występuje szerokie pasmo w zakresie 3500-3490 cm^{-1}, odpowiadające drganiom walencyjnym grup -OH w alkoholach i fenolach, grupy te tworzą silne wiązania wodorowe.

Promotor: prof. dr hab. Janusz Hermann

Wpływ kwasów huminowych na efekt działania antybiotyków

SZYMON STANISZEWSKI

Katedra Chemii Środowiska
Wydział Rolniczy, Akademia Techniczno-Rolnicza
ul. Bernardyńska 6, 85-029 Bydgoszcz

Badania przeprowadzono w oparciu o laboratoryjne testy *in vitro*, przy wykorzystaniu metody antybiogramu krążkowo-dyfuzyjnego. Bakteriami testowymi były: *Bacillus subtilis* i *Staphylococcus* sp. Hodowle prowadzono na podłożu Mullera i Hintona z dodatkiem kwasów huminowych wyizolowanych z węgla brunatnego, torfu i gleby płowej. Stężenia kwasów huminowych w pożywce wynosiły: 800, 1600 i 2400 $mg \cdot L^{-1}$. W badaniach wykorzystano 46 antybiotyków z różnych grup chemicznych. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że kwasy huminowe osłabiają aktywność wielu testowanych antybiotyków, np.: aminoglikozydów, tetracyklin i makrolidów. Na podstawie przeprowadzonych badań nie można wyjaśnić mechanizmu tych efektów. Można jedynie przypuszczać, że polimorficzne i heterogenne kwasy huminowe zachowują się jak sorbenty wiążące niektóre antybiotyki. Konsekwencją tego jest znaczne zmniejszenie efektu bakteriostatycznego i bakteriobójczego działania antybiotyków.

Promotor: dr Sławomir Smoliński

Wykorzystanie metody PCR do badania homologii wybranych *Basidiomycotina*

JAROSŁAW ZDZIARSKI

Katedra Chemii Środowiska
Wydział Rolniczy, Akademia Techniczno-Rolnicza
ul. Bernardyńska 6, 85-029 Bydgoszcz

Tyrozynaza jest kluczowym enzymem utleniającym tyrozynę do melanin. Badanie obecnego u grzybów genu tyrozynazy pozwoli na określenie homologii w obrębie *Basidiomycotina*. W doświadczeniach zastosowano metodę PCR, z wykorzystaniem trzech starterów zaprojektowanych dla genu tyrozynazy z *Agaricus bisporus*. Badaniami objęto 10 szczepów grzybów należących do *Basidiomycotina*. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono wysoki poziom homologii genu tyrozynazy w obrębie *Agaricales*, nie zaobserwowano homologii tego genu u *Agaricales* i *Boletace*. Przeprowadzone badania pozwalają na uznanie techniki PCR za jedną z metod badania homologii u grzybów i uzupełnienie procedur w ich systematyce. Ocena morfologiczna owocników grzybów nie może już stanowić podstawowego czy wręcz jedynego kryterium w systematyce grzybów.

Promotor: prof. dr hab. Janusz Hermann

Wykorzystanie metody PCR do identyfikacji i określania zmienności wybranych izolatów *Fusarium culmorum* (W.G. Smith) Sacc.

PAULINA JAGIEŁŁO

Katedra Fitopatologii
Wydział Rolniczy, Akademia Techniczno-Rolnicza
ul. Ks. A. Kordeckiego 20, 85-225 Bydgoszcz

Fusarium culmorum jest jednym z najliczniej występujących gatunków grzybów z tego rodzaju, szczególnie często atakującym zboża, z których największe znaczenie ma pszenica. Objawy chorobowe mogą być obserwowane na korzeniach, podstawie źdźbła oraz kłosach. W przypadku silnego porażenia pszenicy jej plon może ulec znacznemu obniżeniu. *F. culmorum* charakteryzuje się znacznym zróżnicowaniem morfologicznym. Ma potencjalną zdolność do produkcji toksycznych metabolitów wtórnych, zwanych mykotoksynami, zwłaszcza deoksyniwalenolu (DON) należącego do trichotecenów. Zależy to od różnych czynników zewnętrznych, jednak najbardziej istotne jest genetyczne uwarunkowanie możliwości wytwarzania mykotoksyn za pośrednictwem genu Tri5 kodującego enzym – syntetazę trichotecenów. W badaniach określano stopień porażenia przez *F. culmorum* podstaw źdźbła i korzeni pszenicy ozimej 'Roma' uprawianej na polach doświadczalnych IUNG w Puławach w czterech systemach: ekologicznym, integrowanym, konwencjonalnym oraz monokulturze. Materiał badawczy stanowiły porażone chorobą rośliny, z których wyizolowano patogen. Uzyskane izolaty testowano pod względem patogeniczności w stosunku do siewek pszenicy w doświadczeniu infekcyjnym, które potwierdziło ich zróżnicowanie. W celu określenia zależności między patogenicznością a ewentualną zmiennością grzyba wykonano analizę RAPD-PCR, z użyciem kilku zestawów 10-merowych starterów firmy OPERON (USA).

Promotor: prof. dr hab. Czesław Sadowski

Występowanie endofita *Neotyphodium coenophialum* w kostrzewie trzcinowej i jego właściwości antagonistyczne w stosunku do wybranych grzybów

AGNIESZKA WALCZAK

Katedra Fitopatologii
Wydział Rolniczy, Akademia Techniczno-Rolnicza
ul. Ks. A. Kordeckiego 20, 85-225 Bydgoszcz

Neotyphodium coenophialum jest grzybem endofitycznym występującym w kostrzewie trzcinowej (*Festuca arundinaceae*). Wytwarza on alkaloidy, które mogą negatywnie oddziaływać na zwierzęta, a jednocześnie korzystnie wpływać na roślinę (stymulują wzrost i rozwój, zwiększają odporność na czynniki biotyczne i abiotyczne). Ważnym zagadnieniem jest określenie wpływu wytwarzanych przez ten endofit związków na inne grzyby zasiedlające trawę, zwłaszcza patogeniczne. Celem badań było określenie stopnia zasiedlenia zarejestrowanych w Polsce odmian kostrzewy trzcinowej przez *N. coenophialum* i jego właściwości antagonistycznych w stosunku do wybranych grzybów. Metodą PCR przeanalizowano 20 prób nasion różnych odmian kostrzewy pod kątem obecności endofita. Grzybnię wykryto tylko w próbie odmiany 'Barrocco'. Po zastosowaniu metody barwienia różem bengalskim stwierdzono, że stopień zasiedlenia nasion tej odmiany przez *N. coenophialum* wynosił 47%. Następnie wyizolowano endofit z roślin wyrosłych z zasiedlonych nasion, wykładając skrawki najniższych pochew liściowych roślin na płytki Petriego z pożywką PDA, z dodatkiem streptomycyny i penicyliny dla ograniczenia wzrostu bakterii. Określono właściwości antagonistyczne *N. coenophialum* w stosunku do 15 wybranych grzybów. W tym celu na płytki Petriego z koloniami endofita w centrum nakładano w części brzegowej po 3 krążki pożywki przerośnięte strzępką badanego grzyba. Płytki umieszczano w temperaturze 15 i 22°C. Po 14 dniach dokonywano pomiaru strefy zahamowania wzrostu testowanych organizmów. Stwierdzono hamujący wpływ endofita na rozwój kilku testowanych organizmów.

Promotor: dr inż. Dariusz Pańka

Identyfikacja zmienności genetycznej izolatów *Bipolaris sorokiniana* pochodzących z jęczmienia jarego uprawianego w różnych systemach i regionach Polski

Berenika Weltrowska, Waldemar Wasiak

Katedra Fitopatologii
Wydział Rolniczy, Akademia Techniczno-Rolnicza
ul. Ks. A. Kordeckiego 20, 85-225 Bydgoszcz

Jęczmień, obok pszenicy, jest jedną z najczęściej uprawianych roślin zbożowych. Poważnym patogenem dla tej rośliny jest *Bipolaris sorokiniana*, grzyb występujący na całym świecie. Ubytki plonu ziarna w następstwie uszkodzeń mogą dochodzić do 30%. Jęczmień jest podatny na zakażenie w każdej fazie rozwoju. Grzyb poraża korzenie, powodując ich zgniliznę, pochwy i blaszki liściowe oraz kłosy i ziarniaki. Ograniczanie skutków porażenia roślin przez *B. sorokiniana* może odbywać się dzięki zwiększaniu odporności odmian jęczmienia, do czego niezbędna jest znajomość populacji patogena. Ze względu na brak informacji dotyczących występowania lub braku różnorodności genetycznej izolatów konieczne jest przeprowadzenie badań, które mogą być przydatne w pracach hodowlanych nad odpornością jęczmienia na ten patogen. Niezbędne jest zatem zbadanie zróżnicowania wewnątrzgatunkowego pomiędzy izolatami *B. sorokiniana* przy użyciu metody RAPD-PCR. Celem doświadczeń było sprawdzenie, czy izolaty *Bipolaris sorokiniana* wyizolowane w ciągu dwóch lat, pochodzące z dwóch regionów, różnych systemów uprawy i odmian jęczmienia jarego, są zróżnicowane genetycznie. Badaniu poddano izolaty uzyskane z ziarna po zbiorze, podstawy źdźbła i korzenia w latach 2002 i 2003.

Promotor: dr inż. Anna Baturo

Zastosowanie metody PCR do identyfikacji potencjalnie mykotoksynotwórczych izolatów grzybów z rodzaju *Fusarium* i określenia ich zmienności w zależności od środowiska uprawnego

Agnieszka Witkowiak

Katedra Fitopatologii
Wydział Rolniczy, Akademia Techniczno-Rolnicza
ul. Ks. A. Kordeckiego 20, 85-225 Bydgoszcz

W światowej uprawie zbóż największe znaczenie ma pszenica. Choroby grzybowe powodują znaczne straty w wysokości i jakości jej plonów. Grzyby z rodzaju *Fusarium* mogą porażać rośliny we wszystkich stadiach rozwojowych, wywołując fuzaryjną zgorzel siewek, fuzariozę korzeni i podstawy źdźbła oraz liści i kłosów. Grzyby te są zdolne do produkcji mykotoksyn, które mogą być przyczyną groźnych chorób ludzi i zwierząt – mykotoksykoz. Ważna jest szybka identyfikacja tych patogenów w roślinie, jeszcze przed wystąpieniem objawów chorobowych, w celu zastosowania odpowiednio wcześnie zabiegów ochronnych zmniejszających szkodliwość patogena. Niezwykle istotne jest także określenie potencjalnej mykotoksynotwórczości występujących gatunków grzybów. Możliwe jest to dzięki wykorzystaniu łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR), którą zastosowano w pracy dla przebadania 17 izolatów *Fusarium poae,* wyizolowanych z ziarna pszenicy ozimej uprawianej w systemie konwencjonalnym, ekologicznym, integrowanym i monokulturze. W doświadczeniach podjęto również próbę określenia zależności między patogenicznością badanych izolatów *F. poae* a ich ewentualną zmiennością genetyczną. W tym celu na polu oceniono stopień porażenia kłosów przez *Fusarium* ssp., a po zbiorach określono zasiedlenie ziarna przez patogen testem bibułowym (metoda Limonarda) i poprzez izolację na pożywce PDA. Patogeniczność uzyskanych izolatów określano w teście infekcyjnym, w warunkach doświadczenia wazonowego. Badania nad zmiennością genetyczną przeprowadzono metodą RAPD-PCR, z wykorzystaniem zestawów 10-merowych primerów firmy OPERON (USA).

Promotor: prof. dr hab. Czesław Sadowski

Antagonistyczne oddziaływanie grzybów z rodzaju *Trichoderma* w stosunku do wybranych patogenów grzybowych identyfikowanych metodą PCR

KATARZYNA ZAROBKIEWICZ

Katedra Fitopatologii
Wydział Rolniczy, Akademia Techniczno-Rolnicza
ul. Ks. A. Kordeckiego 20, 85-225 Bydgoszcz

Jednym ze sposobów ograniczania populacji patogenów roślin jest wykorzystanie mikroorganizmów. Przeprowadzono wiele badań, które udowodniły, że doglebowe stosowanie antagonistycznych mikroorganizmów może wpływać na wzrost zdrowotności roślin oraz poprawę ich rozwoju. Do takich organizmów należą grzyby z rodzaju *Trichoderma*, które wykazują właściwości mykopasożytnicze względem stosunkowo dużej liczby patogenów. Celem badań było znalezienie izolatów grzyba *Trichoderma viride* o silnych właściwościach antagonistycznych w stosunku do 11 patogenów: *Fusarium culmorum*, *F. avenaceum*, *F. sporotrichioides*, *F. tricinctum*, *F. graminearum*, *F. cerealis*, *F. poae*, *Bipolaris sorokiniana*, *Colleotrichum gloeosporioides*, *Rhizoctonia solani*, *R. cerealis*. Przeprowadzono test biotyczny 20 izolatów *Trichoderma* pochodzących z różnych siedlisk kraju oraz jednego jako kontroli, o potwierdzonej bardzo dużej agresywności. Doświadczenie prowadzono w temperaturze 10 i 22°C. Na tej podstawie wybrano izolaty wykazujące najsilniejsze właściwości antagonistyczne i testowano je w warunkach laboratoryjnych na siewkach roślin, na pożywce Hoaglanda. Identyfikację wybranych patogenów przeprowadzono metodą PCR. Duży wpływ na właściwości antagonistyczne testowanych grzybów miała temperatura. Doświadczenie na siewkach potwierdziło zróżnicowane zdolności antagonistyczne wybranych izolatów w stosunku do badanych patogenów.

Promotor: prof. dr hab. Czesław Sadowski

Potencjał regeneracyjny i efektywność transformacji tytoniu w zależności od zastosowanych regulatorów wzrostu

ŁUKASZ KLÓSKA

Katedra Fizjologii Roślin
Wydział Rolniczy, Akademia Techniczno-Rolnicza
ul. Bernardyńska 6, 85-029 Bydgoszcz

Transformację tytoniu przeprowadza się najczęściej na podstawie procedury, zgodnie z którą pożywka regeneracyjna zawiera kwas β-naftalenooctowy (NAA), benzyloaminopurynę (BAP) oraz witaminy B5 Gamborga. W badaniach podjęto próbę optymalizacji warunków regeneracji i transformacji tytoniu poprzez modyfikację tej metody. Zastąpiono NAA i witaminy Gamborga B5, wchodzące w skład pożywki regeneracyjnej, indolilo-3-acetonitrylem (IAN) lub kwasem indolilo-3-octowym (IAA) oraz witaminami Nitscha, wydłużono również czas kokultury eksplantatów z *Agrobacterium tumefaciens*. Porównano wpływ zastosowanych wariantów pożywek na zdolność do regeneracji pędów z eksplantatów nietransformowanych i transformowanych oraz cechy morfologiczne regenerantów. Efektywność transformacji oceniano poprzez detekcję białka zielonej fluorescencji oraz aktywność β-glukuronidazy. Eksplantaty kontrolne (nietransformowane) inkubowane na pożywce MS zawierającej IAN oraz witaminy Nitscha wykazały największy potencjał regeneracyjny (93%). Proces transformacji nieznacznie ograniczył zdolność do regeneracji pędów (70%), przy czym również i w tym przypadku najlepszą pożywką regeneracyjną okazała się pożywka MS zawierająca IAN i witaminy Nitscha. Modyfikacja pożywki wpłynęła również na poprawę wigoru regenerantów i zwiększenie powierzchni liści. Ekspresję genu *gfp* oraz *gus* stwierdzono u 40-70% transformantów.

Promotor: dr hab. Lucyna Drozdowska, prof. nadzw. ATR

Formowanie elementów trachealnych *in vitro* w kalusie papryki odmiany 'Bryza'

TOMASZ KOWALSKI

Katedra Fizjologii Roślin
Wydział Rolniczy, Akademia Techniczno-Rolnicza
ul. Bernardyńska 6, 85-029 Bydgoszcz

Celem pracy było przebadanie wpływu auksyny i cytokininy, sacharozy oraz warunków świetlnych na proces formowania elementów trachealnych w kalusie papryki odmiany 'Bryza'. Kalus otrzymano z dojrzałych zarodków wyłożonych na pożywkę MS z dodatkiem 2,4-D. W badaniach zastosowano kombinacje stężeń IAA i BAP (0,005; 0,01; 0,1; 1; 10 mg·dm^{-3}), 5 wariantów stężeń sacharozy (1, 2, 3, 4, 5%), a także zmienne warunki świetlne (16-h fotoperiod i ciemność). W badanym kalusie elementy trachealne występowały jako pojedyncze komórki, w formie skupień, ciągów i wirów. Najczęściej spotykaną formą były skupienia. Wpływ sacharozy na formowanie elementów trachealnych odnotowano przy zastosowaniu auksyny; wzrost stężenia sacharozy wpłynął na zwiększenie częstotliwości ksylogenezy. Natomiast obecność cytokininy w pożywce stymulowała powstawanie elementów trachealnych w 100% eksplantatów, przy każdym z wariantów stężeń sacharozy. Sacharoza miała także wpływ na liczebność komórek w skupieniach; zwiększenie ich liczby stwierdzono po zastosowaniu pożywek z auksyną, przy wzroście stężenia sacharozy, w ciemności. Takiej zależności nie obserwowano w przypadku pożywek z cytokininą. Oprócz sacharozy również regulatory wzrostu wpływały na ilość komórek w skupieniu, przy czym BAP indukowała powstawanie skupień o większej liczbie komórek w porównaniu z IAA. Ponadto w przypadku zastosowania BAP wraz ze wzrostem stężenia zwiększała się ilość kalusów z ksylogenezą, jak również liczba komórek w skupieniu zarówno w świetle, jak i w ciemności. Odnośnie auksyn powyższej zależności nie odnotowano.

Promotor: dr Andrzej Gatz

Wpływ auksyny i cytokininy oraz warunków świetlnych na morfogenezę komórek kalusa papryki w kulturach zawiesinowych

ESTERA LEWICKA

Katedra Fizjologii Roślin
Wydział Rolniczy, Akademia Techniczno-Rolnicza
ul. Bernardyńska 6, 85-029 Bydgoszcz

W doświadczeniu scharakteryzowano komórki kalusa papryki odmiany 'Bryza' oraz określono stopień jego zmienności w kulturze zawiesinowej. Kalus uzyskany z dojrzałych zarodków papryki (pożywka MS + 1 mg·dm^{-3} 2,4-D) inkubowano na płynnej pożywce MS z dodatkiem różnych kombinacji IAA oraz BAP (0,01; 0,1; 1; 10 mg·dm^{-3}), przy czym kultury prowadzono w świetle i w ciemności. Po 4 tygodniach określono wielkość komórek, ich kształt, stopień agregacji i różnicowania oraz zmienności genetycznej. Zawiesina zawierała komórki pojedyncze, agregaty oraz grudki kalusa. Najdłuższe komórki uzyskano przy kombinacji 0,01 i 0,1 mg·dm^{-3} BAP z 10 mg·dm^{-3} IAA zarówno na świetle, jak i w ciemności. Z kolei na kształt komórek wpływ miały warunki świetlne oraz regulatory wzrostu. I tak na pożywkach zawierających zmienne stężenia auksyny, na świetle przeważały komórki owalne, a w ciemności cylindryczne. Natomiast w przypadku zmiennych stężeń cytokininy odnotowano podobną zależność, przy czym na świetle więcej było komórek cylindrycznych. Spośród agregatów najbardziej liczne były 10-komórkowe, a najmniej zawierające poniżej 5 komórek. Ze wzrostem stężenia BAP, w ciemności, odnotowano zwiększenie procentowego udziału agregatów powyżej 10 komórek. Tę samą zależność obserwowano na świetle w przypadku pożywek ze zmiennym stężeniem IAA. Największe grudki kalusa (do 12 mm) formowały się na świetle przy zastosowaniu cytokininy. Większość komórek w zawiesinie była di- i tetraploidalna, natomiast komórki z większą ilością DNA (8C i 16C), występowały jedynie na pożywkach z niższymi stężeniami cytokininy (0,01 i 0,1 mg·dm^{-3} BAP) oraz na świetle przy stężeniu 0,1 i 1 mg·dm^{-3} IAA.

Promotor: dr Andrzej Gatz

Wydajność biotechnologiczna owoców soft - flesh międzygatunkowych mieszańców *Capsicum frutescens* L. i *Capsicum annuum* L.

DOROTA PRZYBOROWSKA

Katedra Genetyki i Hodowli Roślin
Wydział Rolniczy, Akademia Techniczno-Rolnicza
ul. Bernardyńska 6, 85-029 Bydgoszcz

Jedną z oryginalnych cech użytkowych owoców spotykanych u *Capsicum frutescens* L. jest miękki miąższ dojrzałych fizjologicznie owoców. Cecha ta opisana na liście genów *Capsicum* spp. jako soft -flesh stanowi istotny element zmienności genetycznej mogącej mieć znaczenie praktyczne. Kojarzenie dzikich form *C. frutescens* L. z wysokowydajną formą uprawną *C. annuum* L. pozwoliło na uzyskanie materiałów mieszańcowych. Wybrane genotypy pokolenia F_5 tych mieszańców były oceniane pod względem przydatności do wytwarzania z nich przecierów i past paprykowych. Badano wydajność biotechnologiczną rozumianą jako udział miąższu w masie technologicznej owoców. Ta ostatnia dotyczy owoców przygotowanych do mechanicznego oddzielenia miąższu od części niejadalnych, to jest pozbawionych szypułki i działek kielicha. Analizowano także zawartość cukrów ogólnych, redukujących, sacharozy oraz suchej masy. Oceniane genotypy cechowały się niższą zawartością cukrów ogólnych w porównaniu z formami uprawnymi *C. annuum* L. Udział suchej masy był wysoki i zawierał się w przedziale 10-14%. Dwa spośród pięciu wybranych genotypów mieszańcowych odznaczały się wysoką wydajnością biotechnologiczną, a udział miąższu w masie technologicznej wahał się w granicach 73-77,4%.

Promotor: prof. dr hab. Paweł Nowaczyk

Przydatność biotechnologiczna owoców typu soft - flesh mieszańców międzygatunkowych *Capsicum frutescens* L. z *Capsicum annuum* L.

JOANNA SIWICKA

Katedra Genetyki i Hodowli Roślin
Wydział Rolniczy, Akademia Techniczno-Rolnicza
ul. Bernardyńska 6, 85-029 Bydgoszcz

Skutecznym sposobem zwiększenia zmienności genetycznej w obrębie rodzaju *Capsicum* jest tworzenie mieszańców międzygatunkowych. W przeprowadzonych badaniach wykorzystano pokolenie F_5 mieszańców *Capsicum frutescens* L. z *Capsicum annuum* L. Zasadniczym celem tworzenia tych form mieszańcowych była próba włączenia do genomu dobrze plonującej formy *C. annuum* L. cechy soft - flesh (miękki miąższ owocu), warunkowanej przez dominujący gen *S*, właściwy dla *C. frutescens* L. Mieszańce oceniono pod względem wydajności biotechnologicznej owoców, zawartości suchej masy, cukrów, kapsaicynoidów i innych cech istotnych w przetwórstwie. Wydajność biotechnologiczna owoców kształtowała się na poziomie od 55% u form słodkich do 60% u ostrych. Zawartość cukrów u obydwu genotypów była niska i nie przekroczyła 1% świeżej masy. Sucha masa u form słodkich wynosiła 13,6%, a u papryki ostrej ponad 15%. Uzyskany w wyniku krzyżowania materiał może być przydatny w wielu dziedzinach – od przemysłu przetwórczego aż po farmaceutyczny. Dzięki miękkiemu miąższowi można otrzymać przecier paprykowy bez konieczności wstępnej obróbki cieplnej owoców, co wpływa na skrócenie czasu i zmniejszenie kosztów produkcji, a także sprzyja zachowaniu wielu cennych, czynnych biologicznie składników. W zależności od "ostrości" przecier paprykowy może być wykorzystany w przemyśle spożywczym jako baza do sosów lub przyprawa. W przemyśle farmaceutycznym wykorzystywana jest zawarta w owocach papryki kapsaicyna, będąca składnikiem wielu maści rozgrzewających i przeciwreumatycznych. Substancja ta posiada również właściwości upłynniające i stymulujące krążenie krwi.

Promotor: prof. dr hab. Paweł Nowaczyk

Ocena biotechnologiczna owoców typu soft - flesh mieszańców międzygatunkowych *Capsicum frutescens* L. i *Capsicum annuum* L.

ANNA WOŹNA

Katedra Genetyki i Hodowli Roślin
Wydział Rolniczy, Akademia Techniczno-Rolnicza
ul. Bernardyńska 6, 85-029 Bydgoszcz

Dojrzałe owoce typu soft - flesh u gatunków z rodzaju *Capsicum* mają charakterystyczny miękki miąższ. Cecha ta, warunkowana dominującym genem *S*, występuje między innymi u *C. frutescens* L. W wyniku krzyżowania międzygatunkowego z formą uprawną 'ATM1' *C. annuum* L. uzyskano mieszańce charakteryzujące się obecnością wymienionego genu i miękkim miąższem. Materiałem badawczym było pokolenie F_5 mieszańców. Analizowano masę pojedynczych owoców oraz wielkość plonu. Masa owocu w przypadku większości mieszańców była stosunkowo niska w porównaniu z formą uprawną 'ATM1' *C. annuum* L. Genotypy różniły się między sobą pod względem wielkości plonu. Stwierdzono także zróżnicowanie tej cechy w obrębie poszczególnych mieszańców. Owoce poddano procesowi mechanicznego oddzielenia tkanek miękkiego miąższu od części niejadalnych. Wydajność technologiczna tego procesu była stosunkowo wysoka i kształtowała się na podobnym poziomie u wszystkich badanych mieszańców. Oznaczona w surowcu zawartość cukrów okazała się bardzo niska w porównaniu z uprawnymi formami *C. annuum* L. Biorąc pod uwagę potencjalne możliwości przetwórczego zastosowania owoców typu soft - flesh taka zawartość cukrów wydaje się być niezadowalająca. Przeprowadzone analizy wykazały, że badane mieszańce nie są w pełni homozygotyczne, a poziom niektórych ich cech zbyt niski. Wymagają one dalszych prac hodowlanych, aby mogły stać się atrakcyjnym surowcem dla przemysłu przetwórczego lub farmaceutycznego.

Promotor: prof. dr hab. Paweł Nowaczyk

Aktywność polirybosomów oraz cyklu komórkowego w moczonych nasionach buraka cukrowego *Beta vulgaris* L.

AGNIESZKA STEFAŃSKA

Zakład Biologii Molekularnej i Cytometrii
Katedra Genetyki i Hodowli Roślin
Wydział Rolniczy, Akademia Techniczno-Rolnicza
al. Prof. S. Kaliskiego 7, 85-796 Bydgoszcz

Nasiona buraka cukrowego odmiany 'Janina' moczono w wodzie destylowanej trzykrotnie po 4 godziny. Po każdym moczeniu następowały 2 dni suszenia (dehydratacji) w temperaturze pokojowej. Parametry jakości nasion takie jak: zdolność kiełkowania, wigor oraz aktywność cyklu komórkowego (współczynnik G_2/G_1) w korzeniu zarodkowym oraz aktywność polirybosomów określano każdorazowo po zakończeniu moczenia i wysuszeniu nasion. Po imbibicji i zapoczątkowaniu kiełkowania nasiona przechodzą ze stanu, w którym są niewrażliwe na wysychanie do stanu wrażliwości na niedobór wody. Moczenie nasion podczas kiełkowania podnosi aktywność cyklu komórkowego, jak również wigor, zdolność kiełkowania i aktywność polirybosomów. Suszenie kiełkujących nasion wpływało na skrócenie czasu kiełkowania po następującej rehydratacji. Jednakże obserwowano spadek wartości parametrów jakości nasion podczas ich suszenia w okresie wrażliwości na niedobór wody. Stwierdzono, że cykle kontrolowanej imbibicji metodą moczenia w wodzie i suszenia pobudzają nasiona do lepszego kiełkowania oraz przyspieszają syntezę białek poprzez formowanie polirybosomów. Celem pracy badawczej było znalezienie markera inicjacji kiełkowania nasion buraka cukrowego, który mógłby służyć do określenia optymalnego czasu przedsiewnego moczenia nasion. Analiza cytometryczna uzupełniona określeniem aktywności polirybosomów kiełkujących nasion jest przydatna w kontrolowaniu jakości materiału siewnego.

Promotor: dr hab. Elwira Śliwińska, prof. nadzw. ATR

Polisomatyczność w różniących się stopniem ploidalności siewkach buraka cukrowego (*Beta vulgaris* L.)

ILONA SZABŁOWSKA-GADOMSKA

Zakład Biologii Molekularnej i Cytometrii
Katedra Genetyki i Hodowli Roślin
Wydział Rolniczy, Akademia Techniczno-Rolnicza
al. Prof. S. Kaliskiego 7, 85-796 Bydgoszcz

W czasie wzrostu i różnicowania roślin wyższych często występuje endoreplikacja jądrowego DNA, co powoduje polisomatyczność tkanek. Poznanie wzoru endoreplikacji w poszczególnych tkankach i organach może ułatwić zrozumienie biologicznego znaczenia tego procesu. Metodą cytometrii przepływowej badano polisomatyczność w różnych tkankach (korzeniu zarodkowym, hypokotylu, liścieniach i liściach) diploidalnych, triploidalnych i tetraploidalnych siewek buraka cukrowego podczas ich wczesnego wzrostu w kulturach *in vitro*. Wzór endoreplikacji był specyficzny dla określonej tkanki i zależał od stopnia rozwoju siewki, natomiast nie był uzależniony od ploidalności roślin.

Promotor: dr hab. Elwira Śliwińska, prof. nadzw. ATR

Zjawisko endoreduplikacji w rosnących *in vitro* siewkach odmian buraka pastewnego różniących się cechami korzenia

ADAM SZPECHCIŃSKI

Zakład Biologii Molekularnej i Cytometrii
Katedra Genetyki i Hodowli Roślin
Wydział Rolniczy, Akademia Techniczno-Rolnicza
al. Prof. S. Kaliskiego 7, 85-796 Bydgoszcz

Endoreduplikacja jest procesem prowadzącym do zwielokrotnienia zawartości DNA jądrowego w komórce, przy zachowaniu stałej liczby chromosomów. Podczas cyklu endoreduplikacyjnego, po fazie syntezy DNA, nie następuje rozdział chromatyd siostrzanych i cytokineza. Zjawisko to obserwuje się powszechnie wśród okrytonasiennych w czasie ich wzrostu i różnicowania, a badanie jego mechanizmu jest ważne w hodowli wielu gatunków roślin użytkowych, zwłaszcza metodami kultur *in vitro* i transformacji genetycznej. Celem badań było stwierdzenie endoreduplikacji i określenie jej poziomu w tkankach trzech jednokiełkowych, diploidalnych odmian buraka pastewnego: 'Magdalena', 'Juta', 'Bafran'. Materiał badawczy stanowiły suche nasiona oraz młode siewki rosnące *in vitro* na pożywce Murashige i Skooga. W zależności od fazy wzrostu siewki badano następujące tkanki: korzeń zarodkowy, hipokotyl, liścień, ogonek liściowy i pierwszy liść. Stopień endoploidalności analizowano za pomocą cytometrii przepływowej, szybkiej i dokładnej metody oznaczania ilościowego i jakościowego DNA jądrowego w dużych populacjach komórek. Wyniki badań wskazują, że proces endoreduplikacji regulowany jest na drodze rozwojowej. Otrzymane wzorce endoploidalności były charakterystyczne dla danej tkanki i fazy rozwojowej siewki. W późniejszych fazach rozwojowych hipokotylu i korzenia poziom ploidalności wzrastał z 2C do 32C, w innych tkankach utrzymywał się na niższym poziomie – 4C, 8C lub 16C. Cytometryczna analiza suchych nasion wykazała brak endoreduplikacji.

Promotor: dr hab. Elwira Śliwińska, prof. nadzw. ATR

Identyfikacja i charakterystyka biochemiczna bakterii kwasu mlekowego zdolnych do inhibicji patogenów w osadach pościekowych poddanych procesom biotechnologicznym

KRYSTYNA GOSZCZYŃSKA, MAGDALENA FAŁKOWSKA

Katedra Mikrobiologii
Wydział Rolniczy, Akademia Techniczno-Rolnicza
ul. Bernardyńska 6, 85-029 Bydgoszcz

Bakterie mlekowe ze względu na swoje właściwości enzymatyczne i antagonistyczne przyczyniają się do degradacji substancji organicznej i hamują rozwój innych mikroorganizmów. Głównymi czynnikami odpowiedzialnymi za te właściwości są bakteriocyny i kwas mlekowy. Znana jest ich skuteczność w ograniczaniu rozwoju takich patogenów, jak: *Salmonella*, *Listeria*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* i innych występujących w żywności. W badaniach podjęto próbę odpowiedzi na pytanie, czy bakterie mlekowe mogą się przyczynić do eliminacji patogenów w kompostowanych osadach pościekowych. Badaniami objęto 30 izolatów bakterii mlekowych pochodzących z różnych środowisk (kompostowane materiały zielone, preparat EM "Greenland" oraz *Lactobacillus brevis* i *L. plantarum* ŁOCK), a także szczepy patogenów, m.in.: *Salmonella typhi*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Streptococcus faecium*. Bakterie mlekowe zaszczepiano punktowo i inkubowano w warunkach beztlenowych, a następnie pokrywano warstwą upłynnionej pożywki z testowanym patogenem, po czym odczytywano strefy zahamowania wzrostu patogenów (test na bakteriocyny). W warunkach tlenowych testowano wpływ kwasu mlekowego na przeżywalność patogenów. Zbadano również wpływ temperatury, pH i metali ciężkich na przebieg tego procesu. W przypadku pałeczek *Lactobacillus brevis* i *L. plantarum* wyizolowano i zmiareczkowano bakteriocyny. Spośród testowanych bakterii mlekowych najsilniejszymi antagonistami są *Lactobacillus brevis* i *L. plantarum*, a także po kilka izolatów z pozostałej puli. Na ograniczenie ich aktywności w największym stopniu wpływają metale ciężkie. Miano bakteriocyn obu badanych szczepów wynosi 1/8.

Promotor: dr Anna Ligocka

Ocena mikrobiologiczna powietrza atmosferycznego w obiektach uzdatniających odpady komunalne do celów rolniczych

KAROLINA GRONTKOWSKA, MAŁGORZATA KACZOROWSKA

Katedra Mikrobiologii
Wydział Rolniczy, Akademia Techniczno-Rolnicza
ul. Bernardyńska 6, 85-029 Bydgoszcz

Składowiska odpadów komunalnych stanowią jedno z największych potencjalnych zagrożeń dla zdrowia człowieka. Odpady komunalne są siedliskiem różnych mikroorganizmów emitowanych do powietrza atmosferycznego, gdzie występują w postaci tzw. bioaerozoli. Obecnie składowiska odpadów znajdują się w coraz bliższym sąsiedztwie terenów przeznaczonych pod budownictwo mieszkaniowe, co niejednokrotnie wpływa na pogorszenie warunków higieniczno-sanitarnych życia mieszkańców. Dlatego konieczny jest stały monitoring i ocena skażenia mikrobiologicznego powietrza w otoczeniu wszystkich składowisk odpadów. Celem pracy było określenie stopnia zanieczyszczenia mikrobiologicznego powietrza atmosferycznego na terenie i wokół składowiska odpadów komunalnych w Inowrocławiu. Próbki powietrza atmosferycznego pobierano metodą zderzeniową, zgodnie z normami PN-89 Z-04111/02 i PN-89 Z-04111/03 za pomocą mikrobiologicznego próbnika powietrza typu MAS-100 Eco™ produkcji firmy MERCK od marca do listopada 2003 roku w odstępach miesięcznych. Dalsze analizy obejmowały izolację i identyfikację mikroorganizmów, określenie populacji grzybów, promieniowców i bakterii z rodzaju *Staphylococcus*, *Salmonella*, *Streptococcus*, *Escherichia*. Uzyskane wyniki pozwoliły ustalić poziom przekroczenia norm przez badane drobnoustroje oraz ocenić stopień zagrożenia dla zdrowia i życia ludzi, zamieszkujących teren w otoczeniu wysypiska odpadów komunalnych.

Promotor: dr hab. Zbigniew Paluszak, prof. nadzw. ATR

Wpływ nawożenia mineralnego, organicznego oraz środków ochrony roślin na aktywność polifenylooksydazy w bulwach ziemniaków

Agnieszka Bilska

Katedra Przechowalnictwa i Przetwórstwa Produktów Roślinnych
Wydział Rolniczy, Akademia Techniczno-Rolnicza
ul. Ks. A. Kordeckiego 20, 85-225 Bydgoszcz

Tendencje oraz stopień ciemnienia miąższu bulw ziemniaków są jedną z najważniejszych cech wpływających na jakość konsumpcyjną i przetwórczą tego surowca. Ciemnienie miąższu surowych bulw ziemniaków jest rezultatem utleniania związków fenolowych. Za przemiany te odpowiada enzym polifenylooksydaza (zwana także tyrozynazą). Celem pracy było określenie, czy i w jakim stopniu na aktywność polifenylooksydazy wpływają zróżnicowane formy i dawki nawozów oraz czas przechowywania. Badania przeprowadzono na materiale pobranym z czterech doświadczeń polowych: azotowo-magnezowego, potasowego, doświadczenia z zastosowaniem nawożenia organicznego w postaci agroplasmy oraz doświadczenia z użyciem środków ochrony roślin. Ciemnienie enzymatyczne oceniano metodą wizualną (według odwróconej 9° skali duńskiej) i metodą homogenizacyjną po zbiorach, po 3 i 6 miesiącach przechowywania.

Promotor: prof. dr hab. Ilona Rogozińska

Wartość biologiczna i konsumpcyjna wybranych produktów roślinnych przetworzonych w procesie fermentacji

JOANNA LITWIC-STANISZEWSKA

Katedra Przechowalnictwa i Przetwórstwa Produktów Roślinnych
Wydział Rolniczy, Akademia Techniczno-Rolnicza
ul. Ks. A. Kordeckiego 20, 85-225 Bydgoszcz

Surowce roślinne mają ogromne znaczenie w żywieniu ludzi i zwierząt i stanowią podstawowe źródło ich pożywienia. Zawierają wszystkie składniki niezbędne dla prawidłowego rozwoju organizmu, a także charakteryzują się znaczną świeżą masą. Podczas przechowywania płodów rolnych zachodzą wszystkie przemiany charakterystyczne dla metabolizmu żywej rośliny, których konsekwencją są zmiany jakościowe surowca, na ogół niekorzystne zarówno dla konsumenta, jak i producenta. Procesy te obniżają jakość produktów roślinnych, dlatego konieczna staje się ich konserwacja. Jedną z biotechnologicznych metod utrwalania surowców roślinnych jest fermentacja mlekowa. Technologie fermentacyjne mają szczególne znaczenie w przemyśle spożywczym, ponieważ pozwalają na nadanie produktowi korzystnych cech sensorycznych i podnoszą jego wartość prozdrowotną. Podczas procesu zakiszania, który zachodzi w warunkach beztlenowych z udziałem enzymu dehydrogenazy mleczanowej, następuje przekształcenie cukrów w kwas mlekowy. W Polsce najczęściej utrwalanymi w ten sposób surowcami roślinnymi są kapusta głowiasta biała i ogórki. Produkt kiszony powinien spełniać szereg wymogów jakościowych zawartych w Polskich Normach. Celem badań było porównanie walorów odżywczych i konsumpcyjnych kapusty i ogórków kiszonych, pochodzących z różnych miejsc sprzedaży detalicznej. W supermarkecie, sklepie i na targu pobrano po dziesięć prób tych produktów w odstępach dwutygodniowych. Analizowano ich cechy sensoryczne, a także zawartość witaminy C, cukrów redukujących i kwasowość ogólną.

Promotor: prof. dr hab. Ilona Rogozińska

Wpływ barwy światła na wzrost i ukorzenianie mikrosadzonek pomidora (*Lycopersicon esculentum* Mill.) w kulturach *in vitro*

Magdalena Czaja

Katedra Roślin Ozdobnych i Warzywnych
Wydział Rolniczy, Akademia Techniczno-Rolnicza
ul. Bernardyńska 6, 85-029 Bydgoszcz

W doświadczeniu badano wpływ światła dziennego, żółtego, zielonego, niebieskiego i czerwonego na wzrost i ukorzenianie pomidora odmiany 'Zorza' w warunkach *in vitro* po 3 i 4 tygodniach regeneracji. Jednowęzłowe fragmenty pędu wyłożono na pożywkę MS nie zawierającą regulatorów wzrostu. Doświadczenie wykonano w pięciu powtórzeniach. Oceniano długość pędu i korzeni, długość i liczbę liści, współczynnik namnożenia, średnią długość międzywęźli, a także świeżą masę całych sadzonek, łodyg, liści i korzeni. Rośliny regenerowane w świetle czerwonym i zielonym charakteryzowały się najszybszym wzrostem, najlepszym współczynnikiem namnożenia, największą masą całkowitą sadzonki oraz masą łodygi. Światło czerwone w przeciwieństwie do światła zielonego spowodowało silne wydłużenie korzeni oraz międzywęźli, ale wpłynęło niekorzystnie na cechy liści. Miały one najmniejszą masę oraz niewielki był ich udział w masie całej sadzonki. Rośliny regenerowane w świetle dziennym i niebieskim były najniższe, o najmniejszej masie łodygi i najmniejszym współczynniku namnożenia, najkrótszych korzeniach i skróconych międzywęźlach. Światło niebieskie wpłynęło najkorzystniej na wszystkie cechy liści. Światło dzienne natomiast niekorzystnie oddziaływało na masę całych sadzonek i liści. Światło żółte pozwoliło uzyskać mikrosadzonki o średniej intensywności wzrostu, największym współczynniku namnożenia i masie łodygi. Niestety rośliny te charakteryzowały się najkrótszymi liśćmi, najmniejszą masą i liczbą liści oraz najmniejszym ich udziałem w masie całej rośliny. Ogólnie na wzrost i rozwój mikrosadzonek pomidora odmiany 'Zorza' najkorzystniej wpłynęło światło czerwone i zielone, natomiast rośliny najgorszej jakości uzyskano przy zastosowaniu światła żółtego.

Promotor: dr inż. Beata Głowacka

Separacja chimer chryzantemy wielkokwiatowej (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev) w kulturach *in vitro*

WOJCIECH MODRZEJEWSKI

Katedra Roślin Ozdobnych i Warzywnych
Wydział Rolniczy, Akademia Techniczno-Rolnicza
ul. Bernardyńska 6, 85-029 Bydgoszcz

Mutageneza indukowana jest atrakcyjną i cenną metodą hodowli roślin ozdobnych ze względu na stosunkowo niskie nakłady finansowe w porównaniu z technikami molekularnymi oraz szybko obserwowane efekty. Mutacjom spontanicznym, jak i indukowanym często towarzyszy powstawanie chimer. Celem badań było dokonanie separacji chimer u mutantów chryzantemy wielkokwiatowej. Do badań wybrano dwie odmiany z grupy Lady – 'Lady Salmon' i 'Lady White', uzyskane w wyniku działania promieniowaniem odpowiednio X i γ (15 Gy) na eksplantaty liściowe odmiany 'Richmond'. Regenerację *in vitro* przeprowadzono dwoma metodami: z eksplantatów liściowych poprzez pędy przybyszowe (pożywka MS uzupełniona o 0,6 mg·dm^{-3} BAP oraz 2,0 mg·dm^{-3} IAA) oraz z eksplantatów wierzchołkowych (MS uzupełniona o 0,3 mg·dm^{-3} BAP i 1,0 mg·dm^{-3} IAA). Uzyskane mikrosadzonki wysadzono w warunkach *in vivo* i doprowadzono do kwitnienia. Wszystkie kwiatostany 'Lady Salmon' zregenerowane z pędów przybyszowych miały barwę nietypową dla odmiany. Wskazuje to na jej niestabilność genetyczną i pozwala przypuszczać, iż jest chimerą bądź uległa zmienności somaklonalnej. Kwiatostany odmiany 'Lady White' nie uległy zmianie w wyniku mikrorozmnażania, co sugeruje, że jest ona stabilna genetycznie. Wyniki doświadczeń wskazują na konieczność jednoznacznego ich potwierdzenia szczegółowymi badaniami genetycznymi. Rozmnażanie metodą pędów przybyszowych może być użyteczne w hodowli chryzantem jako bogate źródło zmienności.

Promotor: prof. dr hab. Małgorzata Zalewska

Wpływ jakości światła na aklimatyzację *in vivo* namnażanych *in vitro* mikrosadzonek pomidora (*Lycopersicon esculentum* Mill.)

Iwona Sobkiewicz

Katedra Roślin Ozdobnych i Warzywnych
Wydział Rolniczy, Akademia Techniczno-Rolnicza
ul. Bernardyńska 6, 85-029 Bydgoszcz

Jednowęzłowe fragmenty pędów pomidora szklarniowej odmiany 'Cunero F_1' poddano wpływowi sztucznego światła przez okres czterech tygodni. Źródłem zastosowanego w doświadczeniu oświetlenia były lampy jarzeniowe typu TLD Philips, emitujące światło dzienne oraz czerwone, żółte, zielone i niebieskie. Eksplantaty namnażano na pożywce MS bez regulatorów wzrostu. Obserwacjom poddano najważniejsze cechy morfologiczne mikrosadzonek oraz zbadano następczy wpływ różnych barw światła na dalszy wzrost i rozwój roślin przeniesionych do warunków *in vivo*. W doświadczeniu określano wysokość roślin od poziomu górnego brzegu doniczki do pąka wierzchołkowego oraz obliczano tygodniowy przyrost wysokości. Obserwowano pojawianie się nowych liści i pąków kwiatowych. Odnotowano również liczbę roślin, które obumarły w trakcie doświadczenia. Sadzonki namnażane w świetle dziennym charakteryzowały się silnym wzrostem i najlepszą kondycją spośród pozostałych badanych roślin, natomiast uzyskane w świetle o barwie niebieskiej były niskie i krępe, o krótkich międzywęźlach. Miały one grubą i silną łodygę z dużą liczbą liści o ciemnozielonym zabarwieniu. Stwierdzono korzystny wpływ światła zielonego na przyspieszenie rozwoju generatywnego roślin, niemniej sadzonki te były zbyt wybujałe, co czyniło całą roślinę bardziej podatną na uszkodzenia mechaniczne. Światło czerwone i żółte było zdecydowanie niekorzystne ze względu na gorszą kondycję aklimatyzowanych roślin i ich zamieranie. Uzyskane wyniki badań pozwalają traktować światło o określonej barwie jako jeden z głównych czynników zewnętrznych, który może być wykorzystywany do skutecznego zwiększenia zdolności adaptacyjnych mikrosadzonek do nieoptymalnych warunków *in vivo*.

Promotor: dr inż. Beata Głowacka

Segregacja chimer chryzantemy wielkokwiatowej (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev) odmiany 'Lady Amber' i 'Lady Rosy' w kulturach *in vitro*

FILIP RYŚ

Pracownia Biotechnologii
Katedra Roślin Ozdobnych i Warzywnych
Wydział Rolniczy, Akademia Techniczno-Rolnicza
ul. Bernardyńska 6, 85-029 Bydgoszcz

Chimery w hodowli roślin mogą być potencjalnym źródłem zmienności ustalonych odmian, natomiast w laboratoryjnej produkcji mikrosadzonek, przy zastosowaniu nieodpowiedniej metody mikrorozmnażania, mogą doprowadzić do ujawnienia się tej zmienności i powstania strat finansowych firmy. Materiałem badawczym były dwie odmiany chryzantemy wielkokwiatowej (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev): 'Lady Amber' oraz 'Lady Rosy', uzyskane na drodze mutagenezy indukowanej promieniowaniem X i γ z odmiany wyjsciowej 'Richmond'. Celem pracy było sprawdzenie, czy badane odmiany są jednorodne genetycznie. Eksplantaty liściowe wyłożono na pożywkę MS wzbogaconą 2,0 mg·dm^{-3} IAA oraz 0,6 mg·dm^{-3} BAP w celu regeneracji pędów przybyszowych. Kontrolę stanowiły wierzchołki wzrostu pędów pochodzących z tych samych roślin. Uzyskane pędy przybyszowe i mikrosadzonki ukorzeniono na pożywce zawierającej 2,0 mg·dm^{-3} IAA, następnie aklimatyzowano w szklarni i doprowadzono do kwitnienia. W pełni kwitnienia oceniano barwę kwiatów w stosunku do rośliny kontrolnej; różnica zabarwienia świadczyła o niestabilności genetycznej odmian. U odmiany 'Lady Rosy' stwierdzono rozszczepienie barw na kremoworóżową (typową dla odmiany) i białą, co wskazuje na jej heterohistonową strukturę, natomiast u odmiany 'Lady Amber' niestabilności nie stwierdzono.

Promotor: dr Justyna Lema-Rumińska

Wykorzystanie metody PCR do amplifikacji specyficznych sekwencji DNA i oznaczania płci ptaków

Joanna Adach

Katedra Biotechnologii Zwierząt
Wydział Zootechniczny, Akademia Techniczno-Rolnicza
ul. Mazowiecka 28, 85-084 Bydgoszcz

U ptaków, przeciwnie niż u ssaków, płeć męska jest homogametyczna, warunkowana przez dwa takie same chromosomy ZZ, natomiast płeć żeńska jest heterogametyczna, warunkowana przez dwa różne chromosomy ZW. Determinacja płci zależy więc od tego, która z komórek jajowych, zawierająca chromosom W czy chromosom Z, zostanie zapłodniona plemnikiem, zawsze będącym nosicielem chromosomu Z. Dlatego też regulacja płci w wyniku manipulacji plemnikami jest u ptaków niemożliwa. Istnieje kilka metod oznaczania płci ptaków: na podstawie różnic w budowie narządów rozrodczych, znajomości mechanizmu dziedziczenia cech morfologicznych, uwarunkowanych obecnością genów sprzężonych z płcią, metodami cytogenetycznymi oraz molekularnymi, opartymi na analizie unikalnych sekwencji DNA. Celem pracy była izolacja DNA z komórek blastodermalnych i płynu owodniowego 24-godzinnych i 5,5-dniowych zarodków oraz określenie warunków reakcji PCR do oznaczenia ich płci. W doświadczeniu opracowano postępowanie umożliwiające oznaczanie płci 24-godzinnych zarodków, dawców BC na podstawie amplifikacji metodą PCR z wykorzystaniem charakterystycznej dla chromosomu W powtarzalnej sekwencji XhoI. Zastosowana metoda multiplex PCR pozwoliła na jednoznaczną identyfikację samic (amplifikacja dwóch fragmentów DNA, o długości 415 i 256 pz) i samców (amplifikacja jednego fragmentu o długości 256 pz).

Promotor: prof. dr hab. Marek Bednarczyk

Porównanie rozwoju zarodka kury *in vitro* i *in vivo*

ALEKSANDRA BOCK

Katedra Biotechnologii Zwierząt
Wydział Zootechniczny, Akademia Techniczno-Rolnicza
ul. Mazowiecka 28, 85-084 Bydgoszcz

Od niedawna znane są długotrwałe metody hodowli zarodków ptaków *in vitro*. Jedną z nich jest metoda hodowli zarodków kurzych *in vitro* w plastikowych, przezroczystych kontenerach firmy Veterinary Concepts INC, zaadaptowana później także do hodowli zarodków innych gatunków drobiu: kaczek i gęsi. System umożliwia obserwację rozwijających się zarodków w sposób ciągły. Jest to ważne, ponieważ ocena skuteczności systemów hodowli zarodków *in vitro* opiera się nie tylko na rejestracji przeżywalności, ale także na porównaniu ich rozwoju. Celem pracy było porównanie rozwoju zarodka kury *in vitro* i *in vivo*, na podstawie obserwacji cech morfologicznych, pomiarów masy ciała i systemu naczyń krwionośnych. W badaniach wykorzystano komputerowy system analizy obrazu MultiScan, umożliwiający obiektywną ocenę rozwoju. Niezależnie od sposobu inkubacji zarodków – *in vitro* i *in vivo* – ich masa była zbliżona i w 5 dobie lęgu wyniosła odpowiednio: od 0,15 do 0,37 g oraz od 0,23 do 0,26 g. Zarodki inkubowane w plastikowych kontenerach charakteryzowała większa zmienność badanej cechy. W doświadczeniu określono również krzywą zamieralności zarodków w zależności od zastosowanego systemu hodowli *in vitro*.

Promotor: prof. dr hab. Marek Bednarczyk

Wpływ wybranych czynników na przeżywalność komórek blastodermalnych *in vitro*

ANNA GABRYCH

Katedra Biotechnologii Zwierząt
Wydział Zootechniczny, Akademia Techniczno-Rolnicza
ul. Mazowiecka 28, 85-084 Bydgoszcz

Komórki blastodermalne (BC), izolowane z tarczki zarodkowej po zniesieniu jaja, zachowują swój potencjał i po iniekcji do 24-godzinnego zarodka biorcy podlegają dalszemu rozwojowi. Udowodniono, że iniekowane BC dawców ulegają wbudowaniu i zróżnicowaniu w tkankach somatycznych zarodków biorców: melanocytach, erytrocytach, gruczole skorupowym itd., natomiast część z nich podlega migracji do gonad biorcy, gdzie zachowują możliwość różnicowania i produkcji funkcjonalnych gamet. Z tego względu BC wykorzystywane są do tworzenia ptaków transgenicznych lub rekonstrukcji bioróżnorodności ptaków. Celem badań była ocena wpływu wybranych czynników: czasu hodowli, mrożenia i rozmrażania oraz pochodzenia i lipofekcji na przeżywalność BC *in vitro*. Ocenę przeżywalności komórek dokonywano pod mikroskopem świetlnym, przy użyciu jako barwnika błękitu trypanu, obliczano także procent komórek żywych. Uzyskano wysoką przeżywalność BC, która wyniosła od 99 do 74%, w zależności od doby inkubacji (1-11). Nie stwierdzono wpływu pochodzenia komórek (kurze, kacze, gęsie i przepiórcze) na ich jakość po mrożeniu/rozmrożeniu. Użyty krioprotektant (DMF lub DMSO) nie miał wpływu na przeżywalność BC. Wyjątek stanowiły BC gęsie, w tym przypadku statystycznie lepsze wyniki ($P < 0,01$) uzyskano stosując DMSO niż DMF, odpowiednio 58,5 i 39%. Przeżywalność poddanych lipofekcji (Lipofecta CE™ ClonTech) kurzych BC wyniosła 70% i była niższa niż komórek nietrasfekowanych.

Promotor: prof. dr hab. Marek Bednarczyk

Wykorzystanie metody RAPD-PCR do charakterystyki wybranych populacji gęsi

ANNA MACIUSZONEK

Katedra Biotechnologii Zwierząt
Wydział Zootechniczny, Akademia Techniczno-Rolnicza
ul. Mazowiecka 28, 85-084 Bydgoszcz

Dotychczasowa wiedza dotycząca budowy i organizacji genomu gęsi jest znikoma. Toteż celem pracy była charakterystyka molekularna wybranych populacji gęsi, utrzymywanych w ramach krajowej rezerwy genetycznej drobiu, na podstawie polimorfizmu RAPD-PCR. Metoda RAPD-PCR (*Randomly Amplified Polymorphic DNA*) losowej amplifikacji polimorficznego DNA oparta jest na technice PCR (*Polymerase Chain Reaction*). DNA izolowano z erytrocytów krwi losowo wybranych gąsiorów rasy lubelskiej, kieleckiej, kartuskiej i podkarpackiej (po 10 szt.). W reakcji użyto siedem 10-nukleotydowych starterów (Advanced Biotechnologies LTD). Produkty amplifikacji rozdzielano na 2% żelu agarozowym. Wykonano dokumentację fotograficzną, którą analizowano za pomocą programu GelScan, uzyskując graficzny obraz prążków DNA. Różnice lub podobieństwa między poszczególnymi rasami gęsi oceniano na podstawie rozkładu charakterystycznych prążków DNA, posługując się formułą opracowaną przez Jeffreya i innych. Łącznie z siedmioma starterami uzyskano 102 prążki, ich liczba wahała się w zależności od użytego startera i badanej rasy gęsi. Średnio uzyskano 3,6 prążka w trakcie jednej reakcji oraz od 5 do 19 dla każdego ze starterów. Średnie podobieństwo genetyczne między poszczególnymi rasami gęsi, szacowane na podstawie wyników uzyskanych ze wszystkimi starterami, mieściło się w przedziale od 0,37 (gęsi kartuskie *vs.* gęsi lubelskie) do 0,89 (gęsi kieleckie *vs.* gęsi lubelskie). Grupy genetyczne gęsi lubelskich i kartuskich charakteryzowało średnio najmniejsze podobieństwo w stosunku do pozostałych grup (odpowiednio 0,59 i 0,60).

Promotor: prof. dr hab. Marek Bednarczyk

Wykorzystanie metody RAPD-PCR do charakterystyki wybranych populacji kaczek

EWA WIŚNIEWSKA

Katedra Biotechnologii Zwierząt
Wydział Zootechniczny, Akademia Techniczno-Rolnicza
ul. Mazowiecka 28, 85-084 Bydgoszcz

Różnorodne rasy drobiu, mimo często gorszej użytkowości, charakteryzują się korzystnymi dla hodowli cechami, np.: odpornością na choroby, zdolnością do adaptacji w miejscowych, często ekstremalnych warunkach środowiska. Stanowią ponadto świadectwo kultury hodowlanej wielu pokoleń. Jednym z warunków zachowania unikalnych populacji zwierząt jest ich dokładna charakterystyka, w tym molekularna, pozwalająca na ich zróżnicowanie. Toteż celem pracy było określenie genetycznego zróżnicowania lub podobieństwa wybranych grup kaczek, należących do rezerwy genetycznej. Badaniami objęto następujące grupy ptaków ze stad zachowawczych: pekin pochodzenia duńskiego (P8) i pochodzenia francuskiego (P9) oraz kaczki pochodzenia angielskiego (A1) i (A3), utrzymywane w Zakładzie Hodowli Drobiu Wodnego w Dworzyskach koło Poznania. Do badań wybrano losowo po 10 dorosłych kaczorów z każdego stada. Matrycę w reakcji PCR stanowiło DNA izolowane z krwi obwodowej ptaków. Różnice lub podobieństwa między poszczególnymi grupami genetycznymi kaczek oceniano na podstawie rozkładu charakterystycznych prążków DNA, posługując się formułą opracowaną przez Jeffreya i innych. Badane populacje kaczek nie były dotąd przedmiotem doświadczeń umożliwiających określenie ich różnorodności na poziomie molekularnym. Uzyskane wyniki wskazują na brak większego zróżnicowania między badanymi grupami, chociaż pozwoliły na wyodrębnienie dla każdej z nich charakterystycznych fragmentów DNA. Średnie podobieństwo genetyczne między grupami kaczek, wyliczone na podstawie polimorfizmu RAPD-PCR, zawierało się w zakresie od 0,62 do 0,75.

Promotor: prof. dr hab. Marek Bednarczyk

Występowanie polimorfizmu rejonów jąderkotwórczych u świń w 8. parze chromosomów

KARINA BARTCZAK

Katedra Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt
Wydział Zootechniczny, Akademia Techniczno-Rolnicza
ul. Mazowiecka 28, 85-084 Bydgoszcz

Świnia domowa (*Sus scrofa domestica*) jest gatunkiem, który wzbudza zainteresowanie cytogenetyków. Charakteryzuje się stosunkowo małą liczbą chromosomów, jej kariotyp zawiera 2n = 38. Celem doświadczenia było opracowanie kariotypów i obserwacja polimorfizmu obszarów jąderkotwórczych w 8 parze chromosomów u 3 ras świń: Pietrain, Złotnicka pstra i Polska biała zwisłoucha. Badaniami objęto grupę świń pochodzących z doświadczenia żywieniowego. Od każdego osobnika pobrano krew obwodową, z której założono hodowlę tkankową według ogólnie przyjętych zasad. Następnie przerwano podziały limfocytów w stadium metafazy mitotycznej i wykonano preparaty mikroskopowe. Do analizy kariotypów preparaty wybarwiono roztworem Giemsy. Regiony jąderkotwórcze NOR uzyskano stosując azotan srebra. Obserwację płytek metafazowych prowadzono pod mikroskopem świetlnym przy powiększeniu 1250×. Obraz przenoszono do komputera i poddawano analizie w programie MultiScan-Karyotype. Wyniki przedstawiono w postaci kariogramów, tabel zawierających pomiary obszarów jąderkotwórczych i zdjęć płytek metafazowych. Badane osobniki, samce i samice, różniły się między sobą liczbą i wielkością regionów NOR. Obszary jąderkotwórcze zaklasyfikowano do pięciu kategorii wielkości. Wśród przebadanych zwierząt 27% posiadało Ag-NOR należący do III kategorii wielkości (0,101-0,150 μm^2), 23% do IV kategorii (0,151-0,200 μm^2), a 12% osobników posiadało rejon NOR należący do V kategorii wielkości (0,201-0,250 μm^2). Obszarów jąderkotwórczych w obrębie 8. pary chromosomów nie posiadało 43% zwierząt.

Promotor: dr inż. Maria Bogdzińska

Występowanie polimorfizmu rejonów jąderkotwórczych u świń w 10. parze chromosomów

JUSTYNA DOBRZAŃSKA

Katedra Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt
Wydział Zootechniczny, Akademia Techniczno-Rolnicza
ul. Mazowiecka 28, 85-084 Bydgoszcz

Rejony jąderkotwórcze (NOR) 10. pary chromosomów u świń traktowane są jako markery genetyczne ze względu na występowanie polimorfizmu wielkości i liczby tych obszarów. Markery tego typu mogą być wykorzystywane do analizy sprzężeń i mapowania genów warunkujących cechy użyteczne gospodarczo. Rejony jąderkotwórcze są również stosowane w mapowaniu genów świń oraz przy określaniu ras tych zwierząt. Celem doświadczenia była obserwacja polimorfizmu NOR w obrębie 10. pary chromosomów u świń. W badaniach wykorzystano osobniki trzech ras świń: Złotnicka pstra, Pietrain i Polska biała zwisłoucha. Od zwierząt pobrano krew obwodową, z której założono hodowlę tkankową na trzech podłożach: Parkera, Eagle'a i RPMI. W wyniku hodowli otrzymano kulturę limfocytów; podziały tych komórek przerwano w stadium metafazy mitotycznej przez użycie kolchicyny. Stosując metodę wysrebrzania przygotowano preparaty mikroskopowe. Obserwację płytek metafazowych prowadzono pod mikroskopem świetlnym. Obraz przenoszono do komputera i z zastosowaniem programu MultiScan-Kariotype określano liczbę oraz wielkość Ag-NOR. Wyniki przedstawiono w postaci kariogramów, tabel i zdjęć płytek metafazowych. W badanej grupie zwierząt zaobserwowano wyraźny polimorfizm wielkości i liczby rejonów jąderkotwórczych w 10. parze chromosomów. Wielkość obszarów Ag-NOR u samców mieściła się w granicach od 0,037 do 0,366 μm^2, a u samic od 0,064 do 0,341 μm^2. Najczęściej występowała druga kategoria wielkości Ag-NOR.

Promotor: dr inż. Maria Bogdzińska

Poszukiwanie różnic rasowych na podstawie analizy chromosomów płciowych świń

MAŁGORZATA DROŻNIEWSKA

Katedra Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt
Wydział Zootechniczny, Akademia Techniczno-Rolnicza
ul. Mazowiecka 28, 85-084 Bydgoszcz

Intensywny rozwój badań cytogenetycznych w ciągu ostatnich 35 lat zaowocował diagnozą licznych przypadków anomalii chromosomowych u ważnych ekonomicznie gatunków zwierząt gospodarskich. Wyniki badań wykazały istotny i niekorzystny wpływ nosicielstwa nieprawidłowości kariotypu przede wszystkim na płodność oraz rozwój zwierząt. Badaniami objęto po pięć samców i samic trzech ras trzody chlewnej: Pietrain, Złotnicka pstra oraz Polska biała zwisłoucha. Materiałem doświadczalnym była krew obwodowa. Dzięki hodowli tkankowej uzyskano kultury limfocytów, których podziały zatrzymano w metafazie mitotycznej. Wykonano preparaty mikroskopowe, które barwiono roztworem Giemsy i analizowano pod powiększeniem 1250×. Poszukiwanie różnic rasowych prowadzono na podstawie analizy długości względnej chromosomów płciowych, przy użyciu systemu MultiScan-Karyotype. Dokonywano pomiarów chromosomów autosomalnych oraz płciowych, a obliczeń dokonano zgodnie z wzorcem. Największą wartość długości względnej chromosomu X stwierdzono u samic rasy Złotnicka pstra. Dla samców obliczano także stosunek długości chromosomu X do Y. Uzyskano zbliżone wartości dla rasy Polska biała zwisłoucha (2,32) i Pietrain (2,34) oraz nieznacznie odbiegającą wartość dla rasy Złotnicka pstra (2,2). Badane osobniki oceniane były również pod kątem prawidłowej dla gatunku liczby chromosomów. Wyniki zestawiono w tabelach oraz przedstawiono na zdjęciach i kariogramach.

Promotor: dr inż. Maria Bogdzińska

Określenie różnic rasowych w występowaniu Ag-NOR u świń

KAROLINA KATLEWSKA

Katedra Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt
Wydział Zootechniczny, Akademia Techniczno-Rolnicza
ul. Mazowiecka 28, 85-084 Bydgoszcz

Celem badań była weryfikacja istnienia różnic rasowych w występowaniu wysrebrzonych regionów jąderkotwórczych, zbadanie polimorfizmu obszarów NOR w zakresie ich wielkości i liczby oraz przedstawienie analizy kariotypów i kariogramów badanych ras pod względem ich prawidłowości. Analizie poddane zostały knury i lochy ras: Pietrain, Złotnicka pstra oraz Polska biała zwisłoucha (pbz). Obszary jąderkotwórcze u świń występują w 8. i 10. parze chromosomów, w pobliżu centromeru. W celu ich identyfikacji założono hodowlę tkankową z krwi obwodowej. Podziały limfocytów zatrzymano w stadium metafazy mitotycznej za pomocą kolchicyny, po czym wykonano preparaty mikroskopowe. Barwiono je roztworem Giemsy oraz azotanem srebra, który ujawnia w chromosomie czarne depozyty srebrowe odpowiadające obszarom NOR. Obserwację płytek metafazowych prowadzono przy użyciu mikroskopu świetlnego, przy powiększeniu 1250×. Obraz analizowano komputerowo, stosując program MultiScan. Wszystkie osobniki posiadały prawidłową liczbę (2n = 38) i morfologię chromosomów. Największy polimorfizm wielkości regionów jąderkotwórczych zaobserwowano u rasy pbz. Rasę tę cechuje także najrzadsze występowanie depozytów srebrowych i najniższa średnia liczba NOR – 2,2. Spośród badanych ras najmniejszym zróżnicowaniem wielkości, najczęstszym występowaniem i najwyższą średnią liczbą NOR (2,7) odznaczała się rasa Pietrain.

Promotor: dr inż. Jadwiga Araszkiewicz

Ocena podatności wybranych odmian ziemniaka (*Solanum tuberosum* L.) na infekcję *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* (Spieckermman et Kotthoff) Davis et al.

Sebastian Brzozowski

Pracownia Chorób i Szkodników Kwarantannowych Ziemniaka
Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin
ul. Powstańców Wielkopolskich 10, 85-090 Bydgoszcz

Bakterioza pierścieniowa ziemniaka wywoływana przez *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* jest jedną z groźniejszych chorób kwarantannowych ziemniaka (*Solanum tuberosum* L.). Jej zwalczanie przysparza wiele trudności ze względu na systemiczny charakter infekcji oraz możliwość wystąpienia bezobjawowej (latentnej) postaci choroby. Występowanie bakteriozy pierścieniowej zależy od czynników klimatycznych, odmiany i wirulencji patogena. Celem doświadczenia było zbadanie, czy wybrane odmiany ziemniaka wykazują różnice w podatności na porażenie przez *Clavibacter michiganensis* ssp. *Sepedonicus* w przypadku sztucznej inokulacji. Przedmiotem badań były bulwy potomne pięciu odmian: 'Balbina', 'Vital', 'Glada', 'Harpun' oraz 'Merrimack'. Obserwację objawów chorobowych prowadzono na podstawie przekroju bulw oraz infekcji latentnej. W celu wykrycia bakterii zastosowano metodę immuno-fluorescencji (IFAS), izolację na pożywkach stałych oraz test biologiczny na oberżynie. Analizowano również możliwość zastosowania metody PCR do wykrywania bakterii przy wykorzystaniu specyficznych starterów.

Promotor: dr inż. Teresa Pastuszewska

Ocena podatności wybranych odmian ziemniaka (*Solanum tuberosum* L.) na infekcję *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* (Spieckermman et Kotthoff) Davis et al.

Weronika Grzech

Pracownia Chorób i Szkodników Kwarantannowych Ziemniaka
Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin
ul. Powstańców Wielkopolskich 10, 85-090 Bydgoszcz

Clavibacter michiganensis ssp. *sepedonicus* (Cms) jest sprawcą groźnej choroby kwarantannowej ziemniaka – bakteriozy pierścieniowej. Jest ona trudna do wykrycia, gdyż często przebiega bez widocznych objawów (latentna forma infekcji). Bakterie rozwijają się w wiązkach naczyniowych i tą drogą atakują bulwy potomne. Zwalczanie bakteriozy opiera się na przestrzeganiu procedur kwarantannowych i badaniu bulw na obecność Cms. Istotne jest badanie reakcji poszczególnych odmian ziemniaka na sztuczne zakażenie Cms, co pozwala określić ich podatność. Materiał doświadczalny stanowiło pięć odmian: 'Aster', 'Drop', 'Maryna', 'Merrimack' oraz 'Wiking'. Sadzeniaki inokulowano sztucznie bakteriami Cms i wysadzono na polu doświadczalnym (IHAR Bydgoszcz). Po zbiorze bulwy potomne badano na obecność Cms. Przy identyfikacji patogena wykorzystano następujące metody: test pośredniej immunofluorescencji (IFAS), izolację na płytkach, test patogeniczności na roślinach oberżyny oraz PCR. Charakterystyczne objawy bakteriozy na bulwach, tj. zmacerowane tkanki w obrębie wiązki przewodzącej, wystąpiły w 4 odmianach: 'Drop' (21,3% bulw), 'Maryna' (6,0%), 'Aster' (1,9%), 'Wiking' (1,7%). Infekcję latentną stwierdzono u wszystkich odmian w różnym nasileniu: 'Maryna' (100% bulw), 'Drop' (70,6%), 'Aster' (57,6%), 'Wiking' (36,2%), 'Merrimack' (16,0%). Powyższe wyniki wskazują na zróżnicowane porażenie poszczególnych odmian, co stanowi cenną informację dla hodowcy. Jak dotąd nie opracowano metod chemicznego zwalczania Cms.

Promotor: dr inż. Teresa Pastuszewska

Wpływ proteoglikanów AGP na rozwój komórek zawiesinowych buraka cukrowego (*B. vulgaris*) w kulturze *in vitro*

ANDRZEJ DOMACHOWSKI

Zakład Genetyki i Hodowli Roślin
Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin
ul. Powstańców Wielkopolskich 10, 85-090 Bydgoszcz

Badania proteoglikanów AGP izolowanych z *Daucus carota* wykazały, że związki te mogą pełnić ważne funkcje regulacyjne w procesach morfogenezy i somatycznej embriogenezy. Celem podjętych badań była ilościowa i jakościowa charakterystyka AGP izolowanych z komórek zawiesiny embriogennej i nieembriogennej *Beta vulgaris* oraz AGP wydzielanych do pożywek. Profile elektroforetyczne proteoglikanów uzyskane w elektroforezie dwukierunkowej wykazały różnice wielkości cząsteczek występujących w komórkach zawiesiny i w pożywkach. Zaobserwowano wyższe stężenia AGP w pożywkach niż w komórkach. Badano również skutki inaktywacji endogennych AGP, a także wpływ egzogennych AGP na wzrost i żywotność zawiesiny komórkowej buraka cukrowego. Zawiesinę genotypu 170 pasażowano co 7 dni na pożywkę płynną Saundersa i Doleya (SD) z 4,4 µM BAP (kontrola), SD z dodatkiem 10 $\mu g \cdot cm^{-3}$ AGP wyizolowanych z pożywki zawiesiny embriogennej buraka oraz SD z odczynnikiem (β-D-Glc) Yariv w stężeniach 5, 15 i 30 µM. Obserwacje prowadzono przez kilka tygodni. Określano liczbę komórek pojedynczych i agregatów o liczbie komórek $2 = n = 10$ i $n > 10$ oraz ich żywotność. W porównaniu z próbą kontrolną dodatek AGP nie wpływał znacząco na morfologię i żywotność komórek w zawiesinie. Z kolei badania inaktywacji AGP za pomocą (β-D-Glc) wykazały, że odczynnik w stężeniu 5 µM nie wpływał znacząco na żywotność komórek; w stężeniu 15 µM obniżał żywotność komórek, natomiast w stężeniu 30 µM działał letalnie. Uzyskane wyniki wskazują, że zmniejszenie endogennej puli AGP prowadzi do poważnych zaburzeń fizjologicznych komórek w kulturach *in vitro*.

Promotor: prof. dr hab. Anna Majewska-Sawka

AKADEMIA TECHNICZNO-ROLNICZA Biblioteka GŁÓWNA w Bydgoszczy

Członkowie **KOŁA NAUKOWEGO BIOTECHNOLOGII**
rok akademicki 2003/2004

Anna Litwiniec
Karina Kołakowska
Ewa Kroll
Anna Krupska
Joanna Siwicka
Agnieszka Stefańska
Ilona Szabłowska-Gadomska
Adam Szpechciński
Katarzyna Zarobkiewicz

Biblioteka Główna ATR w Bydgoszczy
86598