

Jolanta Zandecka-Dziubak

Akademia Rolnicza w Poznaniu, Katedra Genetyki i Hodowli Roślin

## Regeneracja roślin z niedojrzałych zarodków *Camelina sativa* L. (lnianka siewna) w kulturach in vitro

### Plant regeneration from immature embryos of *Camelina sativa* L. in in vitro culture

Materiał badawczy stanowiły niedojrzałe zarodki *Camelina sativa* L. odmiany Przybrodzka II. Badano wpływ pożywki na przebieg procesu regeneracji i ukorzenia się zregenerowanych pędów w warunkach hodowli in vitro. Określono również wpływ fazy rozwojowej zarodków na regenerację. Najlepsze rezultaty osiągnięto wyszczepiając zarodki w późniejszych fazach rozwojowych (torpedowate, wczesnoliścieniowe), na pożywkę Nitscha.

*Camelina sativa* L. immature embryos (Przybrodzka II) were experimental plant material. Influence of medium on in vitro plant regeneration and rooting of regenerated plant was investigated. Embryos development stage in plant regeneration was established. The best results were obtained using Nitsch medium and embryos in torpedo and premature stage.

### Wprowadzenie

*Camelina sativa* L. należy do grupy najstarszych gatunków roślin uprawnych. Jako gatunek endemiczny posiada unikalne właściwości, które czynią z niej obecnie roślinę atrakcyjną dla rolnictwa zrównoważonego. Lnianka charakteryzuje się dużą zimotrwałością, wykazuje lepsze zdolności uzupełniania deficytów wody we wczesnych stadiach rozwoju (Bramm i in. 1990, Putnam i in. 1993), co czyni ją lepiej przystosowaną do uprawy w rejonach suchych. Gatunek ten posiada odporność na *Leptosphaeria maculans* (Salisbury 1987), *Alternaria brassicae* (Grontoft 1986, Conn i in. 1988, Tewari i in. 1991).

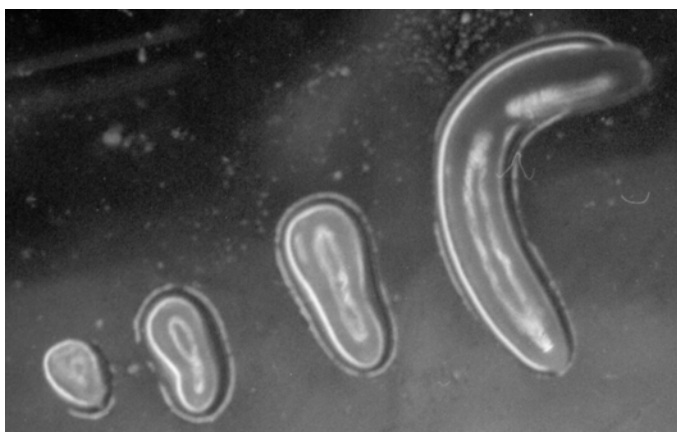
Nowoczesne metody hodowli roślin stwarzają nowe możliwości przenoszenia korzystnych cech *Camelina sativa* do innych gatunków z rodziny *Cruciferae*. Introdukcja tych cennych właściwości może odbywać się na drodze krzyżowania oddalonego i dalszej hodowli niedojrzałych zarodków metodami in vitro, czy w przypadku zaistnienia większych barier krzyżowalności poprzez fuzję protoplastów (Narasimhulu i in. 1994). Metody te można zastosować także do klonowania cennych genotypów uzyskanych na przykład na drodze mutagenezy.

Celem pracy był dobór odpowiedniej pożywki dla wzrostu i rozwoju niedojrzałych zarodków *Camelina sativa* L., jak również opracowanie metod dalszego ich prowadzenia w kulturach in vitro.

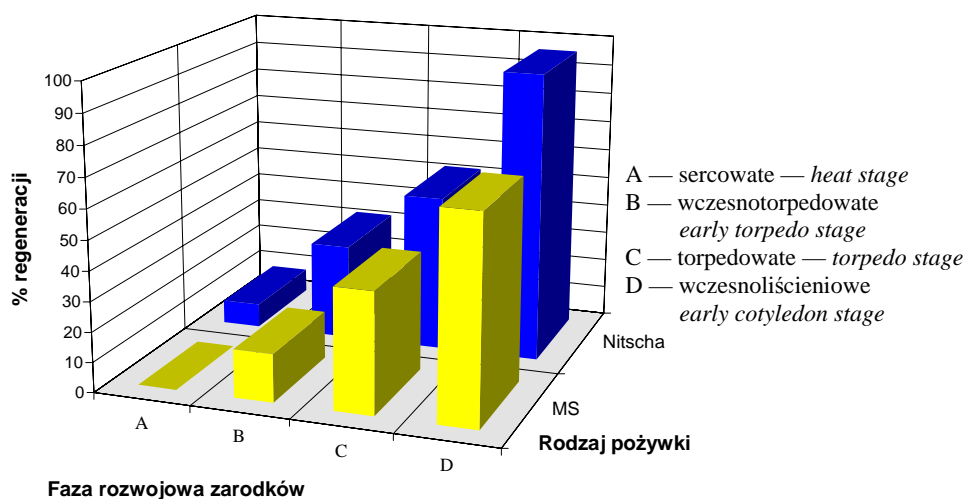
### Material roślinny i metodyka pracy

---

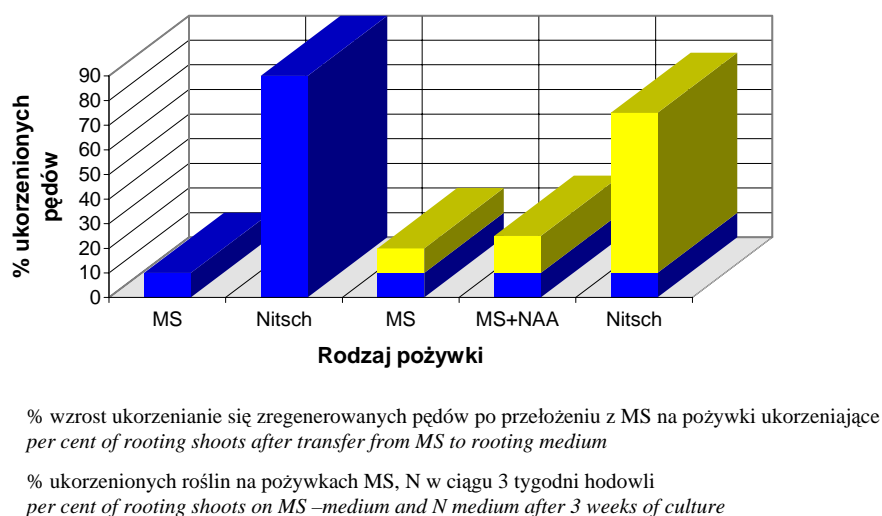
Materiał badawczy stanowiły niedojrzałe łuszczyнки *Camelina sativa* L. odmiany Przybrodzka II. Rośliny rosły w szklarni, fotoperiod: 16 h faza jasna i 8 h faza ciemna. Zebrane łuszczyнки (ze środkowej części pędu) sterylizowano powierzchniowo przez 15 minut w 5% Clorox<sup>®</sup> następnie płukano 3-krotnie w wodzie sterylnej. Niedojrzałe zarodki izolowano pod binokulem w sterylnych warunkach. Wykładano je w fazach: sercowatej, wczesnotorpedowatej, torpedowatej, wczesnoliścieniowej (fot. 1), w ilości 5 sztuk na płytkę Petriego o średnicy 5 cm zawierającą 10 ml pożywki zestalanej agarą (8 mg/l). Każdą kombinację (faza rozwoju zarodka x pożywka) powtórzono pięciokrotnie. W przeprowadzonych doświadczeniach zastosowano pożywki regeneracyjne: MS (Murashige, Skoog 1962) i N (Nitsch 1967). Pędy prowadzone na pożywce N nie wymagały zastosowania pożywek ukorzeniających w dalszym etapie hodowli. Pędy hodowane na pożywce MS przeniesiono po 3 tygodniach na pożywki ukorzeniające: MS (kontrola), MS + 3 mg/l NAA, Nitsch (rys. 2).



Fot. 1. Regeneracja roślin z niedojrzałych zarodków *Camelina sativa* L. w warunkach in vitro — *Camelina sativa* L. plant regeneration from immature embryos from left side: heart stage, early torpedo, torpedo, nearly mature



Rys. 1. Fazy rozwoju wyszczepianych zarodków *Camelina sativa* L., od lewej: sercowata, wczesnotorpedowata, torpedowata, wczesnoliścieniowa — *Camelina sativa* L. transplanted embryos stage, from left side: heart stage, early torpedo stage, torpedo stage, early cotyledon stage



Rys. 2. Wpływ pożywki na ukorzenianie się zregenerowanych pędów *Camelina sativa* L. Influence of medium on rooting of regenerated *Camelina sativa* L. shoot

**Podczas badań określono:**

- wpływ pożywki na regenerację pędów z niedojrzałych zarodków *Camelina sativa* i ukorzenianie się *in vitro* zregenerowanych pędów,
- wpływ stadium rozwojowego zarodków na przebieg procesu regeneracji,
- udział zarodków regenerujących w ukorzenione pędy,
- wydajność kultury zarodków wyrażoną liczbą otrzymanych roślin w stosunku do liczby wyszczepionych zarodków.

**Wyniki****Wpływ pożywki na regenerację roślin z niedojrzałych zarodków *Camelina sativa* L. i ukorzenianie się *in vitro* zregenerowanych pędów**

Wpływ pożywki na regenerację wyszczepionych zarodków przedstawiono na rys. 1. Z testowanych pożywek MS i N lepszą pożywką regeneracyjną dla gatunku *Camelina sativa* okazała się pożywka Nitscha. Rośliny regenerujące na pożywce Nitscha różniły się wyglądem od roślin hodowanych na pożywce MS (fot. 2), dodatkowo na pożywce N uzyskano wyższą wydajność regeneracji dla wszystkich badanych faz rozwojowych wyszczepianych zarodków, (rys. 1). Proces ukorzeniania się *in vitro* zregenerowanych pędów przebiegał różnie na obu pożywkach, (rys. 2).



Fot. 2. Wpływ pożywki na regenerację pędów z niedojrzałych zarodków *Camelina sativa* L. (3 tyg. hodowli), od lewej: pożywka N, pożywka MS — *Influence of medium on plant regeneration from immature in vitro Camelina sativa* L. embryos (3 weeks culture), from left side: Nitsch-medium, MS-medium

Na pożywce N ryzogeneza zachodziła prawidłowo (90% ukorzenionych pędów), natomiast na pożywce MS u większości pędów w miejscu korzeni zaobserwowano tworzenie się tkanki kalusowej (fot. 3). Po przeniesieniu pędów zregenerowanych na pożywce MS na pożywki ukorzeniające (MS – kontrola, MS + 3 mg/l NAA, Nitsch) najlepszą okazała się pożywka Nitscha, na której ukorzeniło się 70% pędów (rys. 2).



Fot. 3. Wpływ pożywki na ukorzenianie się in vitro zregenerowanych pędów *Camelina sativa* L. (3 tyg. hodowli), od lewej: pożywka N, pożywka MS — *Influence of medium on rooting of regenerated Camelina sativa* L. shoots (3 weeks culture), from left side: Nitsch-medium, MS-medium

### **Wpływ fazy rozwojowej zarodków na przebieg procesu regeneracji in vitro**

Przeprowadzone badania wykazały istotny wpływ fazy rozwojowej, w której wyszczepiano zarodki na przebieg procesu regeneracji in vitro. Wyszczepianie zarodków w późniejszych stadiach rozwoju (torpedowate i wczesnoliścieniowe) stwarza większe możliwości uzyskania zregenerowanych roślin. Większość zarodków wyłożonych na pożywkę w stadium sercowatym zamierało po krótkim okresie hodowli, wydajność regeneracji na pożywce N wynosiła 5%; na MS — 0%. Najlepiej zarodki rozwijały się w stadium prawie dojrzałym, wydajność wynosiła odpowiednio na pożywce N — 92%, na MS — 52%. Dane dotyczące wydajności regeneracji przedstawiono na rys. 1.

## Wnioski

---

1. W analizowanych warunkach kultur in vitro z badanych pożywek MS i N lepszą pożywką regeneracyjną okazała się pożywka Nitscha.
2. Najwyższy odsetek zarodków regenerujących w ukorzenione pędy (90%) uzyskano na pożywce Nitscha.
3. Regeneracja roślin przebiega najwydajniej, kiedy wyszczepia się zarodki w późniejszych fazach rozwoju (torpedowate i wczesnoliścieniowe).
4. Najwyższą wydajność kultury zarodków wyrażoną liczbą otrzymanych roślin w stosunku do liczby wyszczepionych zarodków w określonej fazie uzyskano na pożywce Nitscha dla zarodków w fazie wczesnoliścieniowej (wydajność 92%).

## Literatura

---

- Bramm A. et al. 1990. Analysis of yield components of linseed, false flax, and poppy. *Landbauforschung Volkenrode* 40: 107-114.
- Conn K. L. et al. 1988: Resistance to *Alternaria brassicae* and phytoalexin-elicitation in rapeseed and other crucifers. *Plant Sci.* 55: 21-25.
- Grontoft M. 1986. Resistance to *Alternaria* ssp. in oil crops. *Sveriges-Utsadesforenings Tidskrift* (Sweden) 96: 293.
- Murashige T., Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473-479.
- Narasimhulu S. B., Kirti P. B., Bhatt S. R., Prakash S., Chopra V. L. 1994. Intergeneric protoplast fusion between *Brassicca carinata* and *Camelina sativa*, *Plant-Cell-Reports*, 13 (11): 657-660.
- Nitsch C., Nitsch J. P. 1967. *Planta* 72: 355-370.
- Tewari J. P., Jejelowo O. A., Conn K. L. 1991. Relationship between conditional concentration, germling growth, and phytoalexin production by *Camelina sativa* leaves inoculated with *Alternaria brassicae*, *Mycological-Research*, 95 (8): 928-934.
- Putnam D. H., Budin J. T., Field L. A., Breene W. M. 1993. Camelina: A promising low-input oilseed. 314-322. In: J. Janick and J. E Simon (eds.), *New crops*. Wiley, New York.
- Salisbury P. A. 1987. Blackleg resistance in weedy crucifers. *Cruciferae Newsl.* 12: 90.