

Jolanta Zandecka-Dziubak, Tadeusz Łuczkiewicz
Akademia Rolnicza w Poznaniu, Katedra Genetyki i Hodowli Roślin

Regeneracja pędów z segmentów hypokotylowych lnianki siewnej *Camelina sativa* L. w kulturach in vitro

Shoots regeneration from hypocotyl explants of *Camelina sativa* L. in the in vitro culture

Słowa kluczowe: *Camelina sativa*, eksplantaty hypokotylowe, regeneracja pędów

Key words: *Camelina sativa*, hypocotyl explants, shoots regeneration

Eksplantaty hypokotylowe pobierano z siewek *Camelina sativa* L. odmiany jarej – Borowska, które rosły w kulturach in vitro. Fragmenty hypokotylowe umieszczano na pożywce Murashige i Skoog (1962), modyfikowanej różnymi kombinacjami BAP, NAA, 2,4-D i kinetyny. Najwyższą efektywność tworzenia tkanki kalusowej uzyskano na pożywce MS z dodatkiem 1 mg/l 2,4-D. Regeneracja pędów przebiegała najlepiej na pożywce MS, zawierającej 2 mg/l NAA, 3 mg/l BAP oraz 2 mg/l kinetyny.

Hypocotyl explants were taken from seedlings of *Camelina sativa* L. summer cultivar – Borowska, germinated in vitro. Hypocotyl fragments were incubated on Murashige and Skoog (1962) medium modified by different combination of BAP, NAA, 2,4-D and kinetin. The best callus formation was observed on MS medium supplemented with 1 mg/l 2,4-D. The most efficient shoots regeneration took place on MS medium with 2 mg/l NAA, 3 mg/l BAP and 2 mg/l kinetin.

Wstęp

Lnianka siewna (*Camelina sativa* L.) jest jedną z najstarszych roślin uprawnych, należąca do rodziny *Cruciferae*. Obecnie straciła ona na znaczeniu jako roślina oleista w Europie. Jednakże, ze względu na wysoką wartość jej składników i cech rolniczych, może być postrzegana jako gatunek alternatywny.

Lnianka jest rośliną mało wymagającą. Dobrze znosi przymrozki wiosenne. Spośród roślin oleistych z rodziny krzyżowych jest najmniej wrażliwa na okresowe niedobory wody w glebie. Posiada odporność na grzyby z rodzaju *Alternaria* (Tewari i in. 1988). Olej lnianki ze względu na specyficzny skład kwasów tłuszczowych należy do grupy olejów szybkooschnących, co eliminuje jego przeznaczenie na cele konsumpcyjne. Może być on wykorzystywany m.in. w przemyśle lakierniczym. Zasiwy lnianki mogą stanowić zabezpieczenie ugorowanych gruntów przed czynnikami erozyjnymi (Putnam i in. 1993).

Ze względu na swoje właściwości biologiczne i użytkowe *Camelina sativa* L. wydaje się być najlepsza z dużej grupy alternatywnych roślin oleistych. Obecne metody hodowli roślin umożliwiają introdukcję korzystnych cech lnianki do gatunków uprawnych roślin oleistych z rodziny *Cruciferae*. Prowadzone są m.in. badania nad krzyżowaniem międzygatunkowym z wykorzystaniem izolacji i fuzji protoplastów (Narasimulu i in. 1994), czy też wykorzystaniem mutagenyzy w celu zmodyfikowania składu kwasów tłuszczowych (Buchsenschutznothdurft i in. 1998). W obu przypadkach pojawia się konieczność zastosowania kultur in vitro w dalszych etapach hodowli.

Celem prowadzonych badań było opracowanie optymalnych warunków hodowli eksplantatów hypokotylowych w kulturze in vitro oraz określenie czynników mających wpływ na proces regeneracji pędów z kalusujących fragmentów hypokotyli lnianki siewnej.

Material i metody

Eksplantaty hypokotylowe otrzymywano z siewek lnianki, które rosły w kulturze in vitro. Nasiona sterylizowano 6-procentowym podchlorynem sodu przez 15 min., następnie płukano 3-krotnie wodą sterylną. Sterylne nasiona wykładano na płytki Petriego, zawierające pożywkę MS podstawową i inkubowano w pokoju hodowlanym w temperaturze 24°C, w ciemności.

Fragmenty hypokotylowe długości 5 mm pobierano z 10-dniowych etiolowanych siewek i umieszczano na pożywce MS uzupełnionej 1 mg/l 2,4-D. Na płytce umieszczano 5 eksplantatów. Kombinacja obejmowała 10 płytek w trzech powtórzeniach. Kulturę hypokotyli inkubowano w pokoju hodowlanym w temperaturze 24°C i 16-godzinnym oświetleniu. Hodowlę prowadzono przez 3 tygodnie.

Po upływie tego okresu określono zdolności segmentów hypokotylowych do tworzenia kalusa. Efektywność tworzenia tkanki kalusowej stanowiła liczba eksplantatów tworzących kalus do całkowitej liczby wyłożonych eksplantatów. Segmenty tworzące kalus przekładano następnie na pożywki regenerujące pędy.

W doświadczeniach zastosowano pożywkę MS uzupełnioną różnymi kombinacjami BAP, NAA, 2,4-D i kinetyny. Skład pożywek przedstawiono w tabeli 1.

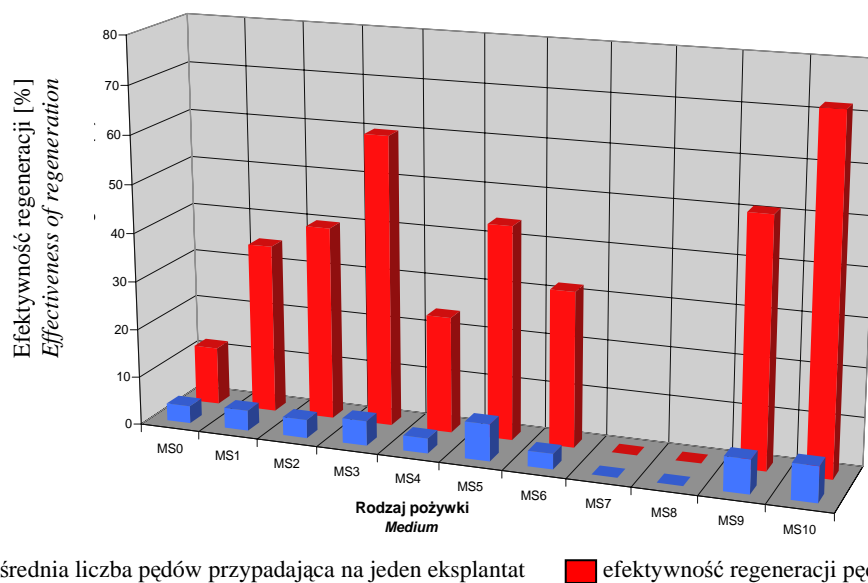
Na płytce Petriego umieszczono po 5 eksplantatów, każda kombinacja obejmowała 5 płytek. Po 8 tygodniach hodowli określono zdolności eksplantatów do tworzenia pędów, liczono eksplantaty regenerujące pędy z tkanki kalusowej i liczbę pędów przypadającą na jeden eksplantat.

Efektywność regeneracji na badanych pożywkach stanowiła liczba zregenerowanych pędów w stosunku do liczby wyłożonych eksplantatów (wyrażona w %) oraz średnia liczba pędów przypadająca na eksplantat (rys. 1).

Tabela 1

Skład pożywek zastosowanych do badania zdolności regeneracyjnych eksplantatów hypokotylowych *Camelina sativa* L. w kulturach in vitro — *Composition of media used for testing the regeneration ability of hypocotyl explants of Camelina sativa* L. in the in vitro culture

Oznaczenie pożywki <i>Symbol of medium</i>	Skład pożywki <i>Composition of medium</i>
MS0	MS bez hormonów wzrostu
MS1	MS + 0,1 mg/l BAP
MS2	MS + 0,3 mg/l BAP
MS3	MS + 3,0 mg/l BAP
MS4	MS + 0,1 mg/l NAA
MS5	MS + 0,3 mg/l NAA
MS6	MS + 0,1 mg/l 2,4-D
MS7	MS + 0,3 mg/l 2,4-D
MS8	MS + 3,0 mg/l 2,4-D
MS9	MS + 1,0 mg/l NAA + 2,0 mg/l BAP + 1,0 mg/l kinetyny
MS10	MS + 2,0 mg/l NAA + 3,0 mg/l BAP + 2,0 mg/l kinetyny



■ średnia liczba pędów przypadająca na jeden eksplantat ■ efektywność regeneracji pędów

Rys. 1. Regeneracja pędów z segmentów hypokotylowych *Camelina sativa* L. na pożywce MS z różną zawartością hormonów — *Shoots regeneration on hypocotyl explants of Camelina sativa* L. on MS media supplemented with different doses of hormones

Zregenerowane pędy w dalszym etapie badań ukorzeniano na pożywkach ukorzeniających. Zastosowano pożywkę MS + 4 mg/l 2,4-D oraz $\frac{1}{2}$ MS (połowa makroelementów) + 10 g sacharozy/l.

Wyniki

Tworzenie tkanki kalusowej z fragmentów hypokotyli

Na pożywce MS uzupełnionej 1 mg/l 2,4-D wyłożone eksplantaty tworzyły kalus już w 5–8 dniu od założenia kultury. W miarę upływu czasu hodowli tkanka kalusowa powiększała się. Na niektórych segmentach hypokotylowych zaobserwowano tworzące się centra merystematyczne.

Efektywność tworzenia tkanki kalusowej przez eksplantaty hypokotylowe *Camelina sativa* L. była bardzo wysoka i wynosiła 94,6%.

Regeneracja pędów

- Pożywka MS0 (kontrola). Kalusujące fragmenty hypokotyli umieszczone na pożywce MS nie zawierającej hormonów wzrostu tworzyły nieliczne pędy. Efektywność regeneracji wynosiła 12%. Średnia liczba pędów przypadająca na jeden eksplantat — 3,6.
- Pożywka MS + BAP. Eksplantaty tworzyły pędy na wszystkich pożywkach zawierających BAP. Najwyższy procent eksplantatów regenerujących pędy (60%) zaobserwowano na pożywce MS3 (MS + 3,0 mg/l BAP). Średnia liczba pędów (na tej pożywce) na jeden eksplantat — 5,1.
- Pożywka MS + NAA. Regeneracja pędów z segmentów hypokotylowych przebiegała najefektywniej na pożywce MS5 (MS + 0,3 mg/l NAA), 44% eksplantatów tworzyło pędy. Średnia liczba pędów przypadająca na eksplantat na tej pożywce była najwyższa z wszystkich testowanych pożywek i wynosiła 7,6.
- Pożywka MS + 2,4-D. Eksplantaty hypokotylowe regenerowały pędy tylko na pożywce MS6 (MS + 0,1 mg/l 2,4-D), efektywność regeneracji wynosiła 32%. Średnia liczba pędów przypadająca na eksplantat — 3,2.
- Pożywka MS + NAA + BAP + kinetyna. Z testowanych dwóch pożywek lepsza okazała się MS10 (MS + 2,0 mg/l NAA + 3,0 mg/l BAP + 2,0 mg/l kinetyny, 72% eksplantatów wytwarzało pędy. Średnia liczba pędów (na tej pożywce) na jeden eksplantat — 7,3.

Wnioski

1. Efektywność tworzenia tkanki kalusowej z fragmentów hypokotyli na pożywce MS z dodatkiem 1 mg/l 2,4-D była wysoka i wynosiła 94,6%.
2. Regeneracja pędów z kalusujących części hypokotyli *Camelina sativa* L. przebiegała najwydajniej na pożywce MS10 (MS + 2,0 mg/l NAA + 3,0 mg/l BAP + 2,0 mg/l kinetyny). Efektywność regeneracji wynosiła 72%.
3. Średnia liczba pędów przypadająca na jeden eksplantat była najwyższa na pożywce MS5 (MS + 0,3 mg/l NAA) i wynosiła 7,6; podobnie wysoką (7,3) średnią liczbę pędów otrzymano na pożywce MS10.

Literatura

- Buchsenschutznothdurft A., Schuster A., Friedt W. 1998. Breeding for modified fatty acid composition via experimental mutagenesis in *Camelina sativa* (L.) Crtz. *Industrial Crops & Products*, 7 (2-3): 291-295.
- Murashige T., Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant*, 15: 473-497.
- Narasimhulu S. B., Kirti P. B., Prakash S., Chopra V. L. 1994. Intergeneric protoplast fusion between *Brassicca carinata* and *Camelina sativa*. *Plant-Cell Reports*, 13 (11): 657-660.
- Putnam D. H., Budin J. T., Field L. A., Breene W. M. 1993. Camelina: A promising low-input oilseed. In: J. Janick and J.E. Simon (eds.), *New crops*. Wiley, New York. 314-322.
- Tewari J.P., Conn K.L., Dahiya J.S. 1988. Resistance to *Alternaria brassicae* and phytoalexin-elicitation in rapeseed and other crucifers. *Plant Sci. (Irish Rep.)*, 55: 21-25.