

REGENERACJA KALUSA *MISCANTHUS X GIGANTEUS*
PRZY WYKORZYSTANIU STYMULUJĄCEGO WPŁYWU ŚWIATŁA
LASERA HELOWO-NEONOWEGO

Katarzyna Głowacka, Wojciech Rybiński, Stanisław Jeżowski

Instytut Genetyki Roślin PAN, ul. Strzeszyńska 34, 60-479 Poznań

e-mail: kglo@igr.poznan.pl

Streszczenie. Rodzaj *Miscanthus* został sprowadzony w 1935 roku do Europy z Japonii przez duńskiego podróżnika Olsena. Początkowo trawy z tego rodzaju, ze względu na atrakcyjne kwiatostany, były traktowane przede wszystkim jako rośliny ozdobne. Od roku 1982 *Miscanthus x giganteus*, a także *Miscanthus sinensis* są spostrzegane jako alternatywne źródło energii. Bardzo wydajna fotosynteza i wynikający z tego duży przyrost biomasy w jednostce czasu na powierzchnię asymilacyjną powodują, że wieloletnie plantacje *Miscanthus* mogą stanowić odnawialne, ekologiczne źródło energii. Podjęte badania stanowiły część prac nad udoskonaleniem metody mikrorozmnażania, a także poliploidyzacją gatunków z rodzaju *Miscanthus* w warunkach *in vitro*. Celem podjętych badań było określenie wpływu światła lasera na proces regeneracji kalusa *Miscanthus x giganteus*. Do badań użyto laser helowo-neonowy przygotowany przez Centrum Techniki Laserowej w Warszawie, który emituje fale o długości 632 nm w przedziale światła czerwonego o mocy 24 mW i jednostką mocy światła na padający obiekt wynoszącą 1 mW·cm⁻². Światłem lasera naświetlano embriogeny, trzymiesięczny kalus wyprowadzony z fragmentów niedojrzałych kwiatostanów. Światło lasera helowo-neonowego stymulowało regenerację pędów z naświetlonych kalusów, nie zauważono natomiast jednoznacznego wpływu lasera na liczbę regenerujących kalusów przy nieznacznej redukcji długości regenerujących pędów. Zastosowanie lasera pozwoliło zwiększyć liczbę zregenerowanych pędów o 26,1-30,1% w stosunku do obiektu kontrolnego. Efekt stymulacji obserwowano, także podczas dalszego wzrostu i rozwoju roślin *Miscanthus x giganteus* w warunkach szklarniowych.

Słowa kluczowe: kalus, kultury *in vitro*, laser helowo-neonowy, *Miscanthus x giganteus*, stymulacja

WSTĘP

Rośliny z rodzaju *Miscanthus* należą do rodziny Poaceae. Rodzaj ten został sprowadzony do Europy w 1935 roku z Japonii przez duńskiego podróżnika Olsena. *Miscanthus x giganteus* Greef i Deu. (Greef i Deuter 1993) jest triploidal-

nym mieszańcem ($2n = 3x = 57$), powstałym na skutek spontanicznej krzyżówki między tetraploidalnym *Miscanthus sacchariflorus* ($2n = 4x = 76$) a diploidalnym *Miscanthus sinensis* ($2n = 2x = 38$) (Linde-Laursen 1993). Sterylność tego gatunku wymusza jego rozmnażanie poprzez podział kłaczy lub za pomocą kultur *in vitro* (Deuter i Jeżowski 2002). W dotychczasowych badaniach nad rozmnażaniem *Miscanthus x giganteus* w kulturach *in vitro* jako eksplantatów użyto fragmentów zawiązków kwiatostanów (Holme i Petersen 1996, Lewandowski 1997, Walsh 1997, Głowacka i in. 2004), węzłów (Lewandowski 1997), apikalnych merystemów (Holme i Petersen 1996, Lewandowski 1997, Walsh 1997), liści (Holme i Petersen 1996, Lewandowski 1997, Walsh 1997) oraz korzeni (Holme i Petersen 1996). Fragmenty nie w pełni rozwiniętych kwiatostanów stanowią jednak jeden z najlepszych eksplantatów inicjalnych dla mikropropagacji poprzez kalus (Holme i Petersen 1996, Lewandowski 1997).

Ze względu na aktywność fotosyntetyczną miskanty klasyfikowane są jako rośliny grupy C-4, które lepiej wykorzystują CO_2 niż rośliny cyklu C-3 (Deuter i Jeżowski 2002). Niezwykle wydajna fotosynteza sprawia, iż zyski ze zbiorów przewyższają nakłady finansowe potrzebne do utrzymywania założonej plantacji (Lewandowski i Kicherer 1997). Powyższe cechy sprawiły, iż *Miscanthus x giganteus* uważa się za potencjalne źródło energii odnawialnej w Europie. Dla celów energetycznych biomasa tego gatunku może być bezpośrednio spalana w postaci siewki lub w formie sprasowanej w celu otrzymania ciepła i energii elektrycznej (El Bassam i Dambroth 1991). Może być również przetwarzana w gazy palne, CO i CH_4 , poprzez termo-gazyfikację lub fermentację (Walsh 1997). Jest bardzo prawdopodobne, że taki rodzaj surowca może się stać w przyszłości alternatywą dla paliw kopalnianych w Europie.

Badania nad wpływem światła na przebieg procesów życiowych w roślinach mają ścisły związek ze zwiększeniem produkcji żywności. Okazuje się, że rośliny wykorzystują w procesie fotosyntezy tylko około 0,3% energii słonecznej docierającej na naszą planetę a średni współczynnik wykorzystania tego światła wynosi około 1%, w szczególnych wypadkach do 5% (Koper i Kornas-Czuczwar 1994). Powodem tego stanu rzeczy może być specyfika chlorofilu wyrażająca się jego wybiórczością w odniesieniu do pochłaniania światła, którego maksimum absorpcji przypada między innymi dla czerwonej części widma. Ponadto światło słoneczne charakteryzuje się brakiem polaryzacji w jednej płaszczyźnie i dużej spójności energii. Wzmocnienie efektów światła na układy biologiczne może być modyfikowane przy pomocy odpowiednio dobranych parametrów jak długość fali, gęstość energii, czas naświetlania oraz frakcjonowanie dawki. Źródłem tego typu światła może być laser emitujący światło w zakresie od ultrafioletu (poniżej długości fali 400 nm), zieleni (około 500 nm), czerwieni (600 nm) i podczerwieni (powyżej 850 nm). W badaniach nad efektami działania światła lasera po naświet-

tleniu obiektów biologicznych najczęściej stosuje się laser działający w zakresie światła czerwonego do których należy laser helowo-neonowy wybrany do realizacji celu prezentowanej pracy.

Intensywne napromieniowanie laserem może mieć charakter uszkodzeniowy wywołując zmiany na poziomie DNA (Rafalski i in. 2001). W przedziale krótszych czasów ekspozycji światło lasera wywołuje efekt biostymulacji, co wykazano w licznych opracowaniach dotyczących między innymi łubinu (Podleśny 1997a), traw (Sawicki 1995), bobiku (Podleśny 1997b), fasoli (Szyrmer i Klimomt 1999), kukurydzy (Gieroba i in. 1995), pszenżyta (Szajsner i Drozd 2001), jęczmienia (Drozd i Szajsner 2003) a także buraka cukrowego (Koper i Wójcik 1995). Wyniki badań wskazują, że efekt biostymulacji obserwuje się już od rozpoczęcia procesów życiowych w nasionach wyrażonych zwiększeniem podziałów komórek mitotycznych (merystematycznych) i indeksu mitotycznego (Kobrzyński i Różanowski 2000) poprzez wzrost energii i zdolności kiełkowania (Laszkiewicz 2001), przyspieszenie wzrostu koleoptyli i korzonków zarodkowych (Drozd i in. 2001), równomierność wschodów (Dziamba i Dziamba 2001), przyspieszenie wzrostu siewek (Szajsner i Drozd 2001), dojrzewania roślin (Lipski 2001) oraz zwiększenia plonowania (Koper 1997). Obecnie stymulujące właściwości światła lasera wykorzystuje się już w rolnictwie na skalę komercyjną dzięki skonstruowanemu i opatentowanemu urządzeniu do stymulacji laserowej nasion roślin uprawnych (Koper 1997). Mimo prowadzenia badań na licznych, popularnych gatunkach roślin uprawnych wspomnianych powyżej, brak jest danych literaturowych w odniesieniu do traw z rodzaju *Miscanthus*. Ponadto z reguły naświetlaniu laserowemu poddawano nasiona. Z uwagi na triploidalny charakter trawy *Miscanthus x giganteus* nie wytwarzających nasion, naświetlaniu poddawano embriogeny kalus, co jest unikalnym podejściem metodycznym w pracach nad naświetlaniem laserowym obiektów biologicznych. Za wyborem obiektu badawczego przemawia fakt, że obecnie z uwagi na wzrastającą rolę wykorzystania energii odnawialnej w skali światowej trawy z rodzaju *Miscanthus* mogą być istotnym elementem krajowej polityki energetycznej. Stąd badania nad tym gatunkiem, zwłaszcza dotyczące jego efektywnego namnażania (o czym traktuje między innymi prezentowana praca) należy uważać za wartościowy wkład w rozwój rodzimych źródeł energii odnawialnej.

MATERIAŁ I METODY

Materiał badawczy stanowił embriogeny, trzymiesięczny kalus *Miscanthus x giganteus* wyprowadzony z eksplantatów wyjściowych, które stanowiły fragmenty niedojrzałych kwiatostanów. Indukcja kalusa zachodziła na pożywce według

Murashige i Skooga (MS 1962) z dodatkiem 2,4-D (kwas dwuchlorofenoksy-octowy) i BAP (6-benzyloaminopuryna) w ciemności.

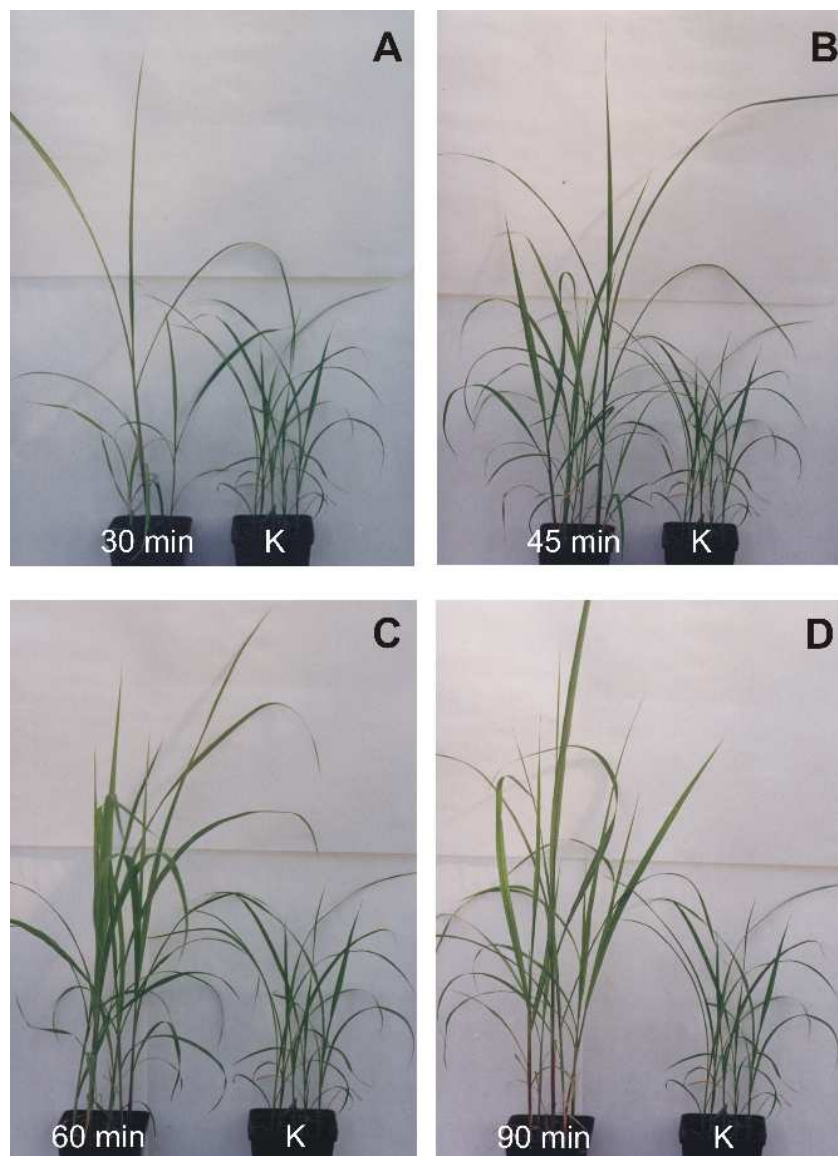
Do naświetleń obiektów użyto laser helowo-neonowy przygotowany przez Centrum Techniki Laserowej w Warszawie. Laser ten emituje fale o długości 632 nm w przedziale światła czerwonego o mocy 24 mW i jednostką mocy światła na padający obiekt wynoszącą 1 mW·cm⁻².

Zastosowano cztery czasy naświetleń: 30, 45, 60 i 90 minut. Naświetlano 1 mm grudki kalusa w sterylnych, zamkniętych, szklanych szalkach. W każdym wariancie doświadczenia użyto 10 kalusów. W celu zregenerowania roślin z naświetlonego kalusa wykładano go na pożywkę MS z dodatkiem BAP i oświetlano 16 godzin na dobę. Obiektem kontrolnym w doświadczeniu były nie traktowane laserem kalusy przełożone bezpośrednio z pożywki indukującej kalus na pożywkę regeneracyjną.

Po 8 tygodniach regeneracji liczone liczbę zregenerowanych kalusów oraz liczbę i długość zregenerowanych pędów. Z każdej wersji doświadczenia wybrano losowo 30 pędów, które następnie wykładano na pożywkę MS z dodatkiem NAA (kwas naftylo-1-octowy). Po 2 tygodniach ukorzenione, w pełni wykształcone rośliny przenoszono do ziemi w celu dalszej ich obserwacji. Wzrost i rozwój roślin w kombinacji kontrolnej (bez naświetlania laserem) oraz pochodzących z różnych czasów naświetlania embriogenego kalusa obserwowano w szklarni.

WYNIKI I DYSKUSJA

Mimo nielicznych danych literaturowych światło lasera wykorzystuje się w pracach, w których korzysta się z technik kultur *in vitro*. Z powodzeniem stosowano je do podniesienia efektywności uzyskiwanych haploidów jęczmienia w metodzie bulbosowej, w której niedojrzałe zarodki uzyskane z krzyżowania *Hordeum vulgare* z *Hordeum bulbosum* hodowano w kulturze *in vitro*. Naświetlaniu poddawano ziarniaki *Hordeum vulgare* (Adamski i in. 1997), wykładane na pożywkę niedojrzałe zarodki (Rybiński i Adamska 1997) oraz pyłek *Hordeum bulbosum*, którym zapyłano kwiaty *Hordeum vulgare* (Rybiński i in. 2002). W prezentowanej pracy naświetlaniu laserowemu poddawano nie cytowane dotąd w literaturze w tym kontekście embriogenne kalusy. Uzyskane wyniki wskazują (tab. 1) na niejednoznaczny wpływ światła lasera na liczbę regenerujących kalusów. Ich liczba przy czasach ekspozycji lasera 30, 45 i 60 minut była podobna jak w obiekcie kontrolnym (bez naświetlania), a jedynie przy najdłuższym naświetlaniu laserem (90 minut) liczba naświetlanych kalusów równała się liczbie kalusów regenerujących. W badaniach nad pszenżytem (Katańska i in. 2003), w których



Fot. 1. Stymulujący wpływ lasera na wysokość oraz liczbę pędów roślin regenerujących z kalusów poddanych naświetleniu przez: (A) 30 min, (B) 45 min, (C) 60 min oraz 90 min (D) w porównaniu z roślinami kontrolnymi – K

Photo. 1. Stimulating influence of laser on the height and number of plant shoots regenerated from callus irradiated for (A) 30 min, (B) 45 min, (C) 60 min and 90 min (D) in comparison with control plants – K

działaniu światła lasera poddawano wykładane na pożywkę pylniki liczba uzyskiwanych kalusów na 100 wyłożonych pylników była istotnie wyższa (4,4) aniżeli w kombinacji kontrolnej (23,0), przy 15 minutowej ekspozycji lasera u odmiany Kazo. Z kolei u ziemniaka naświetlanie laserem przez 15 i 20 minut pąków kwiatowych służących do kultur pylnikowych (prowadzonych przy 14-godzinnym oświetleniu i temperaturze 24°C) stymulowało w porównaniu z obiektem kontrolnym procent dzielących się mikrospor, liczbę pylników tworzących struktury makroskopowe oraz liczbę zregenerowanych roślin (Przewoźny i Rybiński 1994). Dzięki stymulującemu działaniu światła lasera uzyskano zregenerowane rośliny ziemniaka u tak zwanych rodów „upartych” nie dających we wcześniejszych badaniach żadnej pozytywnej reakcji androgenetycznej.

Oprócz oceny liczby regenerujących kalusów analizowano również średnią liczbę zregenerowanych pędów z jednego kalusa oraz ich średnią długość (tab. 1). Średnia długość regenerujących pędów dla wszystkich czasów naświetlania wynosiła 4,1 cm a w kombinacji kontrolnej 4,7 cm. Identyčną długość pędów (4,7 cm) jak w kombinacji kontrolnej obserwowano przy 60 minutowej ekspozycji światła lasera. W pozostałych kombinacjach z laserem średnia długość pędów była niższa aniżeli w obiekcie kontrolnym. Odwrotną tendencję obserwowano w odniesieniu do liczby zregenerowanych pędów. W tym wypadku liczba pędów była bez wyjątku wyższa w kombinacjach z laserem niż w kombinacji kontrolnej. Średnia liczba pędów dla zastosowanych czasów naświetlania łącznie wynosiła 14,1 przy 10,2 pędach w kombinacji kontrolnej. Najwyższą stymulację tej cechy (30,2%) w porównaniu z kontrolą uzyskano przy 30 minutowym naświetlaniu embriogenego kalusa. Zastosowanie lasera pozwalało zwiększyć liczbę zregenerowanych pędów o 26,1-30,2% w stosunku do kontroli, co stanowiło od 21 do 57 pędów z 10 naświetlanych grudek kalusa po 8 tygodniach regeneracji. Efekt redukcji długości pędów po działaniu światła lasera w porównaniu z efektem stymulacji ich liczby może wynikać z faktu, że określony potencjał embriogenezy ogniskował się na wzroście liczby pędów wpływając tym samym na obniżenie ich długości. W badaniach nad naświetlaniem laserowym ziaren pszenicy wybrane dawki światła lasera helowo-neonowego stymulowały nie tylko energię kiełkowania, ale także liczbę korzonków zarodkowych (Drozd i in. 2001).

Wzrost i rozwój zregenerowanych roślin obserwowano w warunkach szklarniowych. Przeprowadzone obserwacje udokumentowane materiałem fotograficznym (fot. 1) wskazują, że stymulujący efekt wyrażony wysokością roślin w porównaniu do kontroli utrzymuje się w stadium siewki oraz stadium rozwoju roślin prezentowanym na fotografiach, a wielkość stymulacji ma związek z czasami naświetlania laserem. Przyspieszenie wzrostu siewek pszenicy po działaniu światła laserowego na ziarniaki obserwowali również Drozd i in. (2001), a zwiększenie długości korzenia i wysokości siewek jęczmienia Rybiński i in. (1993).

Tabela 1. Wpływ czasu naświetlania laserem na liczbę regenerujących kalusów oraz liczbę i długość zregenerowanych pędów z naświetlanego kalusa po 8 tygodniach od założenia doświadczenia
Table 1. Influence of laser irradiation time on number of regenerated calli and on length and number of regenerated shoots from irradiated calli after eight weeks from experiment beginning

| Czas naświetlania laserem (minuty) Laser exposure time (minutes) | Liczba naświetlanych kalusów Number of irradiated calli | Liczba regenerujących kalusów Number of regenerated calli | Średnia liczba* zregenerowanych pędów z jednego kalusa (zakres zmienności) Average number of regenerated shoots from one calli (range of variation) | Średnia długość* regenerujących pędów (cm) Average length of regenerated shoots (cm) |
|---|--|--|--|---|
| 30 | 10 | 7 | 14,6 (1-25) | 4,1 |
| 45 | 10 | 8 | 13,8 (1-36) | 3,6 |
| 60 | 10 | 8 | 14,3 (6-21) | 4,7 |
| 90 | 10 | 10 | 13,9 (1-20) | 4,0 |
| Kontrola Control | 10 | 8 | 10,2 (1-20) | 4,7 |

*Wynik po uwzględnieniu tylko zregenerowanych kalusów – The results refer to regenerated calli only.

WNIOSKI

1. Nie wykazano jednoznacznego wpływu zastosowanych czasów naświetlania laserowego na liczbę regenerujących kalusów. Ich liczba była na poziomie kombinacji kontrolnej z niewielką tendencją do stymulacji wartości tej cechy obserwowanej przy 90 minutowym naświetlaniu.

2. Światło lasera w porównaniu z kombinacją kontrolną redukowało długość zregenerowanych pędów przy jednoczesnej stymulacji ich liczby w przeliczeniu na jeden kalus. Najwyższą, 30% stymulację liczby zregenerowanych pędów obserwowano przy najkrótszym z czasów ekspozycji lasera wynoszącym 30 minut.

3. Efekt stymulacji utrzymywał się na dalszych etapach rozwoju roślin w warunkach szklarniowych, co przejawiało się ich wysokością i bujnością w porównaniu z roślinami uzyskanymi z kombinacji kontrolnej.

PIŚMIENNICTWO

- Adamski T., Jeżowski S., Krajewski P., Rybiński W., Surma M., 1997. Wpływ światła lasera i MNUA na efektywność otrzymywania haploidów jęczmienia metodą *H. bulbosum*. *Zesz. Nauk. AR w Krakowie*, 50, 293-296.
- Deuter M., Jeżowski S., 2002. Stan wiedzy o hodowli traw olbrzymich z rodzaju *Miscanthus*. *Post. Nauk Roln.*, 2, 59-67.

- Drozd D., Szajsner H., 2003. Możliwości zastosowania przedśiewnej biostymulacji laserowej do poprawy parametrów wartości materiałów nasiennych jęczmienia. II Międzynarodowa Konferencja Naukowa „Oddziaływanie pól elektromagnetycznych na środowisko rolnicze”. Lublin, 8-10.09, 2003. Referaty i Doniesienia, 101-103.
- Drozd D., Szajsner H., Turzyniecka-Małysz H., 2001. Zastosowanie światła laserowego do poprawy wartości siewnej pszenicy z lat zbioru 1993-1997. I Międzynarodowa Konferencja Naukowa „Oddziaływanie pól elektromagnetycznych na środowisko rolnicze”. Lublin, 26-28.09, 2001. Referaty i Doniesienia, 13-17.
- Dziamba S., Dziamba M., 2001. Wpływ przedśiewnego naświetlania nasion światłem na plonowanie i elementy struktury plonu jęczmienia jarego. I Międzynarodowa Konferencja Naukowa „Oddziaływanie pól elektromagnetycznych na środowisko rolnicze”. Lublin, 26-28.09, 2001. Referaty i Doniesienia, 19-24.
- El Bassam N., Dambroth M., 1991. A concept of energy plant's farm. In: Proceedings of the 6th European Conference on Biomass for Energy, Industry and Environment, Greece, 34-40.
- Gieroba J., Koper R., Matyka S., 1995. The influence of pre-sowing laser biostimulation of maize seeds on the crop and nutritive value of the corn. 45th Australian Cereal Chemistry Conference, 30-35.
- Głowacka K., Zenkteler M., Jeżowski S., 2004. Mikrorozmnażanie *Miscanthus x giganteus* (Greif i Deu.) z eksplantatów kwiatowych. Biotechnologia 2 (65), 251-259.
- Greif J.M., Deuter M., 1993. Syntaxonomy of *Miscanthus x giganteus* Greif et Deu. Angew Bot., 67, 87-90.
- Holme I. B., Petersen K. K., 1996. Callus induction and plant regeneration from different types of *Miscanthus x ogiformis* Honda 'Giganteus'. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 45, 43-45.
- Katańska A., Rybiński W., Broda Z., 2003. Wpływ światła lasera na androgenezę wybranych odmian pszenicy ozimego. Acta Agrophysica, 2(3), 559-566.
- Kobrzyński M., Różanowski B., 2000. Influence of heavy metal (cadmium and lead) on mitotic activity of meristem cells of rye roots (*Secale cereale* L.). Proc. 14th Cong. Polish Genetic Soc., Poznań, 11-13 June 2000, 279-280.
- Koper R., 1997. Urządzenie do przedśiewnej biostymulacji nasion wybranych roślin uprawnych oraz efekty jego stosowania. Inżynieria Rolnicza 21, 163-169.
- Koper R., Kornas-Czuczwar B., 1994. Mechanizm i efekty przedśiewnej laserowej biostymulacji roślin. VII Sympozjum Bioelektroniki „Wpływ czynników środowiska na organizm jako system elektroniczny”, Lublin, Wydawnictwo KUL 1994, 11-15.
- Koper R., Wójcik S., 1995. Effect of laser exposure of seeds on the yield and chemical composition of sugar beet. Proc. Int. Conf. New Horizons. Newcastle 1995, 181.
- Laszkiewicz E., 2001. Zastosowanie biostymulacji laserowej do podwyższenia wartości siewnej pszenicy twardej (*Triticum durum*). I Międzynarodowa Konferencja Naukowa „Oddziaływanie pól elektromagnetycznych na środowisko rolnicze”. Lublin, 26-28.09, 2001. Referaty i Doniesienia, 45-50.
- Lewandowski I., 1997. Micropropagation of *Miscanthus x giganteus*. High-Tech and Micropropagation, 39, II, edit. Bajaj, 239-255.
- Lewandowski I., Kicherer A., 1997. Combustion quality of biomass: practical relevance and experiments to modify the biomass quality of *Miscanthus x giganteus*. Eur. J. Agron., 6, 163-177.
- Linde-Laursen I.B., 1993. Cytogenetic analysis of *Miscanthus* 'Giganteus', an interspecific hybrid. Hereditas 119, 297-300.
- Lipski S. 2001., Polowa ocena skuteczności napromieniowania laserowego nasion kukurydzy. I Międzynarodowa Konferencja Naukowa „Oddziaływanie pól elektromagnetycznych na środowisko rolnicze”. Lublin, 26-28.09, 2001. Referaty i Doniesienia, 57-62.

- Podleśny J., 1997a. Wpływ przedsewnego traktowania nasion światłem laserowym na kształtowanie się cech morfologicznych i plonowanie łubinu białego. Łubin we Współczesnym Rolnictwie. Olsztyn-Kortowo, Materiały Konferencyjne, 87-92.
- Podleśny J., 1997b. Wpływ przesiewnego traktowania nasion światłem laserowym na kształtowanie cech morfologicznych i plonowanie bobiku. Zesz. Probl. Post. Nauk Roln., 446, 435-439.
- Przewoźny T., Rybiński W., 1994 Wykorzystanie światła lasera do stymulacji androgenezy i indukowania mutacji u ziemniaka. Prace Ogródu Botanicznego PAN, Zeszyt 5/6, 547-553.
- Rafałski A., Wiśniewska I., Klimont K., 2001. Zmiany profilu fragmentów DNA po traktowaniu nasion jęczmienia promieniowaniem laserowym. Biul. IHAR 218/219, 431-437.
- Rybiński W., Adamska E., 1997. Wykorzystanie światła lasera dla uzyskania stymulacji rozwoju zarodków w metodzie bulbosowej. Zesz. Nauk. Akademii Rolniczej w Krakowie, 318, 289-292.
- Rybiński W., Adamski T., Surma M., 2002. Wpływ naświetlania laserem pyłku *Hordeum bulbosum* na efektywność uzyskiwania haploidów u jęczmienia jarego (*Hordeum vulgare* L.). Zesz. Probl. Post. Nauk Roln., 488, 767-772.
- Rybiński W., Patyna H., Przewoźny T., 1993. Mutagenic effect of laser and chemical mutagens in barley (*Hordeum vulgare* L.). Genetica Polonica 34(4), 337-343.
- Sawicki B., 1995. The yielding of some grasses after irradiation of seeds with helium-neon laser. Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska 9, 59-63.
- Szajnsner H., Drozd D., 2001. Ocena efektu przedsewniej biostymulacji laserowej u odmian pszenżyta (*Triticale*). I Międzynarodowa Konferencja Naukowa „Oddziaływanie pól elektromagnetycznych na środowisko rolnicze”. Lublin, 26-28.09, 2001. Referaty i Doniesienia, 95-98.
- Szyrmer J., Klimont K., 1999. Wpływ światła lasera na jakość fasoli (*Phaseolus vulgaris* L.). Biul. IHAR 210, 165-168.
- Walsh M., 1997. *Miscanthus* handbook, Heperion Energy Systems Ltd., Main St. Watergrasshill, Co. Cork., Ireland, 177.

REGENERATION OF *MISCANTHUS X GIGANTEUS* CALLI WITH USE OF STIMULATION EFFECT OF HELIUM-NEON LASER LIGHT

Katarzyna Głowacka, Wojciech Rybiński, Stanisław Jeżowski

Institute of Plant Genetics, Polish Academy of Sciences, ul. Strzeszyńska 34, 60-479 Poznań
e-mail: kglo@igr.poznan.pl

Abstract. In 1935 the genus *Miscanthus* was introduced, by the Danish traveller Olsen, from Japan to Europe. In the beginning grasses from that genus were treated as ornamental plants because of their attractive inflorescence. Since the year 1982 *Miscanthus x giganteus*, and also *Miscanthus sinensis*, have been seen as an alternative source of energy. Very effective photosynthesis with high biomass growth in time unit per assimilation area is what causes those perennial *Miscanthus* plantations to be a potential renewable ecological source of energy. The experiments were a part of the research work on micropropagation methods improvement and polyploidization in cultures *in vitro* of *Miscanthus* species. The present experiments were performed to evaluate the effect of laser light on the *Miscanthus x giganteus* calli regeneration. In the research a helium-neon laser was used, prepared by The Laser Technology Centre in Warszawa, which emits red light of the wave-length of 632 nm with 24 mW power and power density of 1 mW cm⁻². The embryogenic, three-month old calli from inflorescence fragments were irradiated with laser light. The He-Ne laser light had a stimu-

lated effect on shoots regeneration from irritated calli, while there was not observed any clear laser effect on the number of regenerated calli. A slight reduction of shoots length was also observed. The use of laser increased the number of regenerated shoots by 26.1-30.1% in comparison to the control. The biostimulation effect was also observed during further growth of *Miscanthus x giganteus* plants in greenhouse conditions.

Key words: calli, helium-neon laser, *in vitro* culture, *Miscanthus x giganteus*, stimulation effect