

Anna Mielcarek, Jolanta Zandecka-Dziubak, Tadeusz Luczkiewicz
Akademia Rolnicza w Poznaniu, Katedra Genetyki i Hodowli Roślin

Wpływ kwasu abscysynowego (ABA) na regenerację roślin *Camelina Sativa* L. w warunkach kultury *in vitro*

Influence of abscisic acid (ABA) on plant regeneration of *Camelina sativa* L. *in vitro* conditions

Słowa kluczowe: *Camelina sativa* L., regeneracja roślin, liścienie, kwas abscysynowy

Key words: *Camelina sativa* L., plant regeneration, cotyledons, abscisic acid

Badano wpływ kwasu abscysynowego (ABA) na efektywność regeneracji roślin z liścieni trzydniowych siewek lnianki siewnej (*Camelina sativa* L.). Pożywkę podstawową MS (Murashige, Skoog 1962) uzupełniano cytokininą (BAP) i/lub auksyną (NAA). Dodatek kwasu abscysynowego (0,3 mg/l, 3,0 mg/l) do pożywki MS powodował wzrost efektywności regeneracji pędów i zarodków somatycznych.

The influence of abscisic acid (ABA) on frequency of plant regeneration from cotyledons of *Camelina sativa*'s three days old seedlings was investigated. The MS medium (Murashige & Skoog 1962) was supplemented with a cytokinin (BAP) and/or an auxin (NAA). ABA (0.3 mg/l, 3.0 mg/l) added to MS medium increased number of shoots and somatic embryos formation.

Wstęp

Lnianka siewna (*Camelina sativa* L.) jest gatunkiem należącym do rodziny *Brassicaceae*, rodzaju *Sysymbriae*. Prace archeologiczne dowodzą, że była uprawiana w Europie w Epoce Brązu i stanowiła wówczas ważne źródło oleju (Shuster, Friedt 1995). Zachowała się jako chwast w uprawach lnu, zaś na początku XX wieku została odtworzona w Europie (głównie na Bałkanach) jako roślina uprawiana na małą skalę.

W Polsce zajmowała po II wojnie światowej drugie miejsce pod względem powierzchni uprawy wśród roślin oleistych (po rzepaku ozimym). Jej liczne nazwy: lnianka, lnicznik, lennica, jurda świadczą o dużym znaczeniu w czasach dawniejszych (Podlaska 1996). Do dziś uprawiana jest na Morawach i Bałkanach, a także w byłym ZSRR, gdzie po II wojnie światowej była drugą po słoneczniku rośliną oleistą (Haber, Hojnacka 1993). Obecnie w Polsce nie ma już znaczenia

jako źródło oleju, jednakże jest gatunkiem, który w opinii wielu hodowców zasługuje na przywrócenie do uprawy, ze względu na jej wyjątkowe właściwości rolnicze. Olej lnianki należy do grupy pólśchnących i może służyć do wyrobu mydła, pokostów, farb, lakierów, środków technicznych (Podlaska 1996). Zawiera w swym składzie 90% kwasów nienasyconych oraz znaczącą ilość kwasu eikozenowego (Tattersall, Millam 1999). *Camelina sativa* L. posiada cechy sprzyjające jej uprawie w rolnictwie alternatywnym, a mianowicie: dużą zimotrwałość, odporność na suszę, małe wymagania glebowe (Dembiński 1975). Doświadczenia prowadzone w USA wykazały, że plon lnianki był porównywalny z plonem rzepaku (Putman i in. 1993), zaś koszty uprawy o połowę niższe (Moore 1994).

Nowoczesne metody hodowli roślin, opierające się na technikach *in vitro*, dają ogromne możliwości badawcze, częściowo eliminując ograniczenia czasowe prowadzonego doświadczenia. Przy pomocy kultur *in vitro* można uzyskać ważne źródło materiału badawczego do transformacji *Camelina sativa* i zmiany składu kwasów tłuszczowych w oleju, a także przenoszenia jej korzystnych cech do innych gatunków roślin.

Badania dotyczące rozmnażania lnianki siewnej w warunkach *in vitro* nie były dotychczas prowadzone na większą skalę. *Camelina sativa* L. była używana do badań hybrydyzacji somatycznej z innymi gatunkami rodzaju *Brassica* (Narasimhullu 1994, Hansen 1997). Badano także przebieg regeneracji roślin z niedojrzałych zarodków zygocycznych lnianki (Zandacka-Dziubak 1998).

Celem prezentowanej pracy było określenie wpływu kwasu abscysynowego na regenerację *Camelina sativa* L. w warunkach *in vitro*.

Material roślinny i metodyka

Nasiona lnianki siewnej, jarej odmiany Borowska, sterylizowano powierzchniowo przez 10 minut przy pomocy środka odkażającego Clorox[®], zawierającego 5% podchlorynu sodu, a następnie dwukrotnie płukano przez 5 minut w wodzie sterylnej. Wyjałowione nasiona wykładano na płytki Petriego z pożywką agarową. Po upływie trzech dni siewki w stadium liścieniowym posłużyły jako źródło eksplantatów do dalszych badań. W tym celu liścienie cięto podłużnie, a uzyskane połówki wykładano na płytki Petriego, zawierające 10 ml pożywki zestalonej agarem. Na płytce umieszczano 6 eksplantatów, każda kombinacja obejmowała 5 płytek.

W przeprowadzonym doświadczeniu zastosowano pożywkę MS (Murashige & Skoog 1962), uzupełnianą regulatorami wzrostu: NAA / BAP / ABA. Każdy z fitohormonów był zastosowany w dwu stężeniach. Stosowano także różne kombinacje NAA, BAP i ABA (tab. 1).

Tabela 1

Kombinacje regulatorów wzrostu w pożywce MS (Murashige, Skoog 1962) zastosowane w doświadczeniu — *Combinations of growth regulators in MS medium (Murashige, Skoog 1962) used in experiment*

Rodzaj pożywki	BAP [mg/l]	NAA [mg/l]	ABA [mg/l]
MI	0,1		
MII	1,0		
MIII		0,1	
MIV		1,0	
MV	0,1	0,1	
MVI	0,1	1,0	
MVII	1,0	0,1	
MVIII	1,0	1,0	
M0/1			0,3
M0/2			3,0

Eksplantaty umieszczano na płytkach z pożywką i inkubowano przez 21 dni w warunkach pokoju hodowlanego (16 h faza jasna, 8 h faza ciemna, 26°C).

Po upływie tego czasu określano wpływ samego kwasu abscysynowego oraz w kombinacjach z NAA i/lub BAP w pożywce na regenerację roślin *Camelina sativa* L. W tym celu liczono eksplantaty tworzące kalus oraz regenerujące korzenie, pędy i zarodki somatyczne.

Dodatkowo korzystano z dwóch wariantów każdej z pożywek MI–MVIII, otrzymanych przez dodanie do nich kwasu abscysynowego w dwóch stężeniach: 0,3 mg/l, 3,0 mg/l.

Wyniki

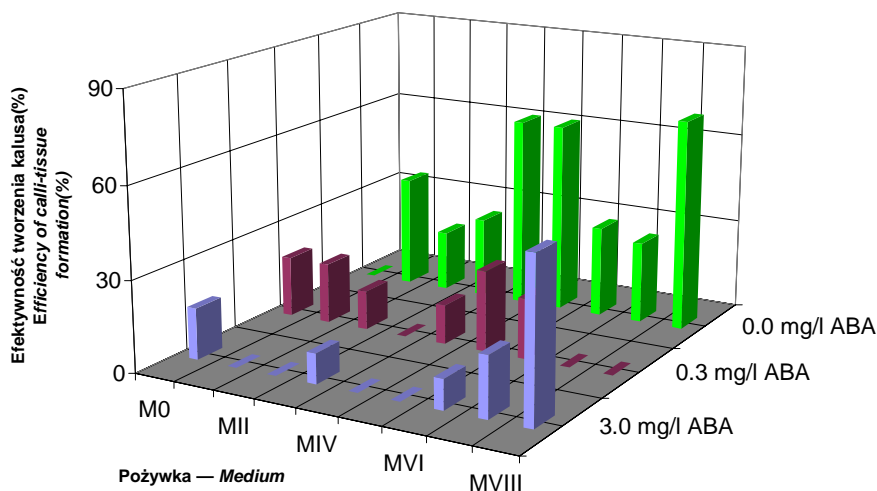
Wpływ ABA na efektywność tworzenia kalusa

Tworzenie tkanki kalusowej na eksplantatach liścieniowych przebiegało najefektywniej na pożywkach z koncentracją NAA 1,0 mg/l tj.: MVIII, MIV; a także na pożywce MV (tab. 1).

Dodatek kwasu abscysynowego powodował spadek efektywności tworzenia tkanki kalusowej, np.: MVI 30%; MVI + 0,3 mg/l ABA 20%, MVI + 3,0 mg/l ABA 10%.

Negatywny wpływ na regenerację kalusa miała wyższa zawartość ABA (3,0 mg/l). Po upływie tygodnia od nastawienia kultur eksplantaty na tych pożywkach nie rozwijały się lub zamierały.

Pożywki M0/1 i M0/2, tj. nie zawierające dodatku auksyny i/lub cytokininy wytwarzały kalus (17–20%), regenerowały pędy (17–20%) oraz zarodki somatyczne (0–10%) ze stosunkowo niską efektywnością (rys. 1).



Rys. 1. Wpływ rodzaju pożywki na tworzenie kalusa z eksplantatów liściennych *Camelina sativa* L. *The influence of different medium on callus formation from Camelina sativa* L. cotyledons

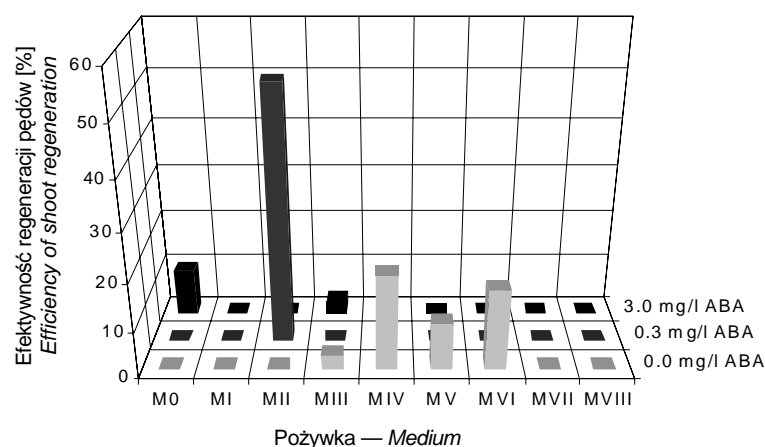
Wpływ ABA na efektywność regeneracji korzeni

W prezentowanym doświadczeniu stwierdzono słabą regenerację korzeni. Najlepsze wyniki otrzymano na pożywkach: MVIII, MVI i MIV (20–50%). Eksplantaty na pożywkach zawierających wyższe stężenie ABA (3,0 mg/l), na których otrzymano tkankę kalusową, nie regenerowały korzeni (lub efektywność regeneracji była bardzo niska) np.: MIII + 3,0 mg/l ABA — efektywność regeneracji kalusa 10%, korzeni 3%.

W kilku przypadkach wszystkie tkanki kalusowe wytwarzały korzenie (MVI, MVIII). Najczęściej jednak w obecności ABA regeneracja korzeni przebiegała słabiej.

Wpływ ABA na efektywność regeneracji pędów

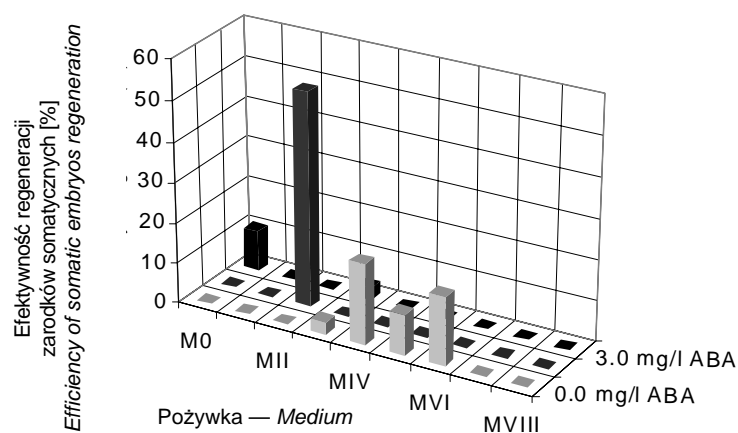
Najwyższa efektywność regeneracji pędów miała miejsce na pożywkach: MII + 0,3 mg/l ABA, MI + 0,3 mg/l ABA, MS + 0,3 mg/l ABA oraz MV. Pożywki nie zawierające ABA wykazywały słabszą regenerację pędów w porównaniu z pożywkami zawierającymi ABA w stężeniu 0,3 mg/l (z wyjątkiem pożywki MV, na której regeneracja pędów wynosiła 20% i przewyższała pod tym względem pożywkę z 0,3 mg/l ABA). Na pożywkach z wyższą zawartością ABA (3,0 mg/l) pojawiły się tylko pojedyncze pędy.



Rys. 2. Wpływ ABA na efektywność regeneracji pędów z eksplantatów liściennych *Camelina sativa* L.
The influence of ABA on efficiency of shoot regeneration from *Camelina sativa* L. cotyledons

Wpływ ABA na efektywność embriogenezy somatycznej

Eksplantaty liściennowe wykazywały najwyższą efektywność w tworzeniu zarodków somatycznych na pożywkach: MIII + 0,3 mg/l ABA — 53%; MIV — 20%; MVI — 17%. Na pożywkach z ABA (0,3 mg/l) embriogeneza somatyczna była niekiedy wyższa w porównaniu z pożywkami bez ABA (np.: MII — 0%; MII + 0,3 mg/l ABA — 53%) (rys. 3).



Rys. 3. Wpływ ABA na efektywność regeneracji zarodków somatycznych na eksplantantach liściennych *Camelina sativa* L. — The influence of ABA on efficiency of somatic embryos regeneration from *Camelina sativa* L. cotyledons

Wnioski

- Dodatek kwasu abscysynowego wpływał negatywnie na efektywność tworzenia tkanki kalusowej (procent eksplantatów tworzących kalus) i korzeni (procent eksplantatów, na których stwierdzono ryzogenezę).
- Na pożywkach zawierających wyższą koncentrację NAA (1,0 mg/l), a nie zawierających ABA następowało efektywniejsze tworzenie tkanki kalusowej.
- Liczba uzyskanych pędów i zarodków somatycznych była niekiedy wyższa na pożywkach z 0,3 mg/l ABA niż na pożywkach bez kwasu abscysynowego.

Literatura

- Dembiński F. 1975. Rośliny oleiste. PWRiL Warszawa: 276-284.
- Haber H., Hojnacka M. 1993. Rośliny uprawiane w dawnej Wielkopolsce. Kroniki Wielkopolski 1993 (3).
- Hansen L.N. 1997. Intertribal somatic hybridization between *Brassica oleracea* and *Camelina sativa*. Crucifer. News 19: 55-56.
- Moore M. 1994. *Camelina* comes in from the cold. Furrow 99: 20-21.
- Murashige T., Skoog F. 1962. A revised medium for growth and rapid bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 14: 493-497.
- Narasimhulu S.B. 1994. Intergeneric protoplast fusion between *Brassica carinata* and *Camelina sativa*. Plant Cell Reports 13: 657-660.
- Podlaska J. 1996. Nowe rośliny uprawne na cele spożywcze, przemysłowe i jako odnawialne źródło energii. Wydawnictwo SGGW.
- Putman D.H., Budin J.T., Field L.A., Breene W.M. 1993. *Camelina* a promising low-input oilseed. In: Janick J. (eds) New Crops, Wiley (Chichester): 314-322.
- Schuster A., Friedt W. 1995. *Camelina sativa* – old face new prospects. Crucifer. News. 17: 6-8.
- Tattersall A., Millam S. 1999. Establishment and in vitro regeneration studies of the potential oil crop species *Camelina sativa*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 55: 147-149.