

Jolanta Zandecka-Dziubak, Tadeusz Łuczkiwicz

Akademia Rolnicza w Poznaniu, Katedra Genetyki i Hodowli Roślin

## Efektywność embriogenezy somatycznej w kulturach *in vitro* lnianki siewnej (*Camelina sativa* L.)

### Somatic embryogenesis effectiveness in *in vitro* culture of *Camelina sativa* L.

Słowa kluczowe: *Camelina sativa*, zarodki somatyczne, regeneracja *in vitro*

Key words: *Camelina sativa*, somatic embryos, *in vitro* regeneration

Eksplantaty liścieniowe pobierano z niedojrzałych zarodków zygocycznych *Camelina sativa* L. odmiany jarej Borowska. Eksplantaty umieszczano na inicjującej pożywce MS (Murashige i Skooga 1962). Po 2 tygodniach hodowli utworzoną tkankę kalusową przenoszono na pożywkę MS modyfikowaną różnymi kombinacjami BAP i NAA. Efektywność tworzenia tkanki kalusowej na pożywce inicjującej była bardzo wysoka. Najefektywniej embriogeneza somatyczna przebiegała na pożywce MS z dodatkiem 1,2 mg/l NAA i 1,0 mg/l BAP.

Cotyledon explants were taken from immature zygotic embryos of *Camelina sativa* L. summer cultivar Borowska. Explants were incubated on MS (Murashige i Skooga 1962) initial medium. After 2 weeks of culture regenerated callus was transferred on MS medium modified by various combinations of BAP and NAA. Callus regeneration was very high on initial medium. The best somatic embryos formation was observed on MS medium supplemented with 1.2 mg/l NAA and 1.0 mg/l BAP.

## Wstęp

Z dużej liczby roślin alternatywnych ciekawym gatunkiem ze względu na właściwości biologiczne i użytkowe jest lnianka siewna (*Camelina sativa* L.). Jest to jedna z najstarszych uprawnych roślin oleistych z rodziny *Cruciferae*. Już w neolicie była ważnym źródłem oleju w rejonie Morza Śródziemnego i Środkowej Azji. Wraz z rozpowszechnieniem się rzepaku straciła na znaczeniu jako roślina oleista w Europie.

Lnianka jest rośliną o niewielkich wymaganiach glebowych i nawozowych, może chronić ugorowane grunty przed erozją (Putnam i in. 1993). Wyróżnia się dużą odpornością na choroby grzybowe często występujące w zasiewach rzepaku, tj. suchą zgniliznę rzepaku (*Leptosphaeria maculans*) oraz grzyby z rodzaju

*Alternaria* (Tewari i in. 1988). Olej lnianki należy do grupy olejów szybko-schnących, dlatego może znaleźć zastosowanie głównie w przemyśle (Buchenschutznothdurf i in. 1998).

Ze względu na swoje właściwości *Camelina sativa* L. wydaje się być najlepsza z grupy alternatywnych roślin oleistych. Poziomem plonowania przewyższa inne gatunki alternatywne z tej grupy, dodatkowo charakteryzuje się wyższą odpornością na patogeny niż rzepak. Ma zdecydowanie mniejsze wymagania glebowe i nawozowe w porównaniu z rzepakiem.

Współczesne metody hodowli w połączeniu z metodami biotechnologicznymi umożliwiają wprowadzenie korzystnych genów lnianki do gatunków uprawnych roślin oleistych z rodziny *Cruciferae*. Prowadzone są badania nad krzyżowaniem międzygatunkowym z wykorzystaniem fuzji protoplastów (Narasimhulu i in. 1994, Hansen 1998) lub mutagenезy w celu modyfikacji składu kwasów tłuszczowych w nasionach (Buchenschutznothdurf i in. 1998). Badania te wymagają dodatkowo wykorzystania technik kultur in vitro (Tattersall, Millam 1999) oraz opracowania metod regeneracji roślin z różnych eksplantatów.

## Material roślinny i metodyka

---

Łuszczyнки lnianki jarej odmiany Borowska sterylizowano 5% podchlorynem sodu przez 10 minut i płukano trzykrotnie w wodzie sterylnej. Eksplantaty liściennie pobierano z niedojrzałych zarodków zygocycznych (wielkość załazków około 1,6 mm) w jałowych warunkach komory laminarnej i umieszczano na pożywce Murashige i Skoog'a (1962) uzupełnionej 1,0 mg/l 2,4-D (pożywka inicjująca). Płytki inkubowano w pokoju hodowlanym (temperatura 24°C, fotoperiod 16 godzin).

Po 14 dniach określono efektywność tworzenia tkanki kalusowej, wyrażoną jako iloraz eksplantatów tworzących kalus do całkowitej liczby wyłożonych eksplantatów. Tkanek kalusową pasażowano na pożywkę MS wzbogaconą różnymi kombinacjami regulatorów wzrostu (tab. 1). Na płytce umieszczano 6 eksplantatów, każda kombinacja obejmowała 10 płytek w trzech powtórzeniach.

Po upływie 28 dni hodowli liczone struktury embrioidalne, zarodki somatyczne i pędy w danej kombinacji oraz ich średnią liczbę przypadającą na jeden eksplantat. W celu poprawienia kondycji zregenerowane z zarodków somatycznych rośliny umieszczano na pożywce MS podstawowej (bez fitohormonów). Po około siedmiu dniach rośliny przesadzano do sterylnej ziemi i przenoszono do szklarni.

Tabela 1

Skład pożywek zastosowanych do embriogenezy somatycznej z eksplantatów liściennych *Camelina sativa* L. — *Media composition used for testing somatic embriogenesis of cotyledonery explants of Camelina sativa* L.

Symbol pożywki — <i>Medium symbol</i>	Skład — <i>Composition</i>
MS1 (pożywka inicjująca)	MS-1 mg/l 2,4 D
1	MS-0,0 NAA, 0,0 BAP
2	MS-0,12 mg/l NAA
3	MS-1,2 mg/l NAA
4	MS-0,1 mg/l BAP
5	MS-1,0 mg/l BAP
6	MS-0,12 mg/l NAA + 0,1 mg/l BAP
7	MS-1,2 mg/l NAA + 0,1 mg/l BAP
8	MS-0,12 mg/l NAA + 1,0 mg/l BAP
9	MS-1,2 mg/l NAA + 1,0 mg/l BAP

## Wyniki

### Tworzenie tkanki kalusowej z liścieni zarodkowych

Na pożywce MS1 (1,0 mg/l 2,4-D) liścienie tworzyły kalus już w 3–5 dniu hodowli. Efektywność powstawania tkanki kalusowej była bardzo wysoka i wynosiła 98%.

### Regeneracja struktur embrioidalnych, zarodków somatycznych i pędów

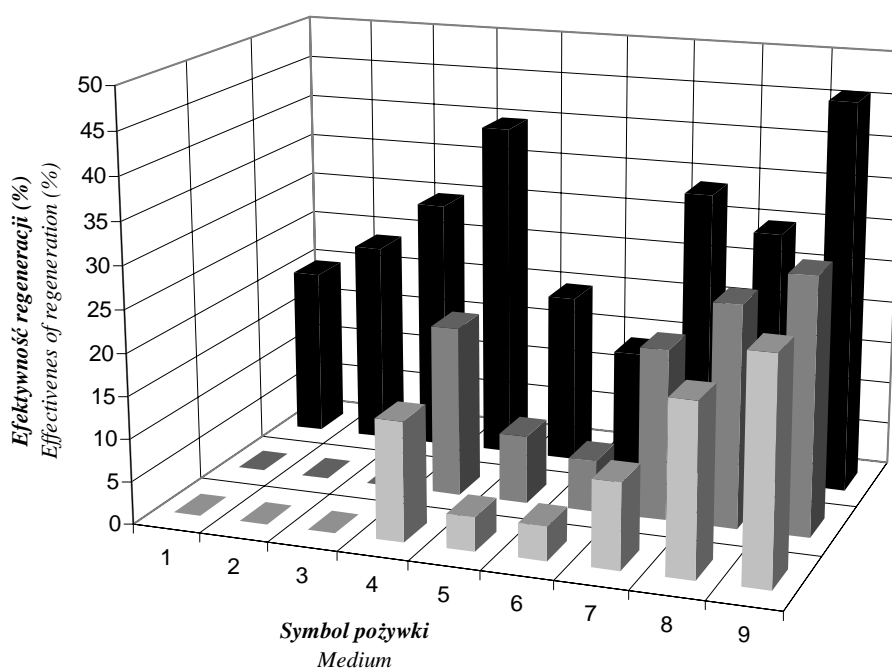
Na testowanych pożywkach oprócz embriogenezy somatycznej zachodziła także organogeneza. Tworzyły się również struktury embrioidalne, które jednak nie przekształcały się w zarodki.

Zarodków somatycznych nie otrzymano na pożywce kontrolnej (pożywka 1, tab. 1). Sama auksyna także hamowała proces embriogenezy somatycznej (rys. 1), (tab. 1, pożywki 2 i 3). Na pożywkach tych tworzyły się tylko struktury embrioidalne. Dodatek BAP do pożywki stymulował proces tworzenia struktur embrioidalnych, zarodków somatycznych, a także pędów. Zastosowanie niższego stężenia tego hormonu było korzystniejsze (tab. 1, żywka 4).

Decydującym czynnikiem, warunkującym embriogenezę somatyczną okazała się obecność auksyny (NAA) i cytokininy (BAP) w pożywce. Sama auksyna hamowała proces embriogenezy somatycznej i organogenezy (rys. 1, tab. 1, pożywki 1 i 2). Na pożywkach tych tworzyły się tylko struktury embrioidalne.

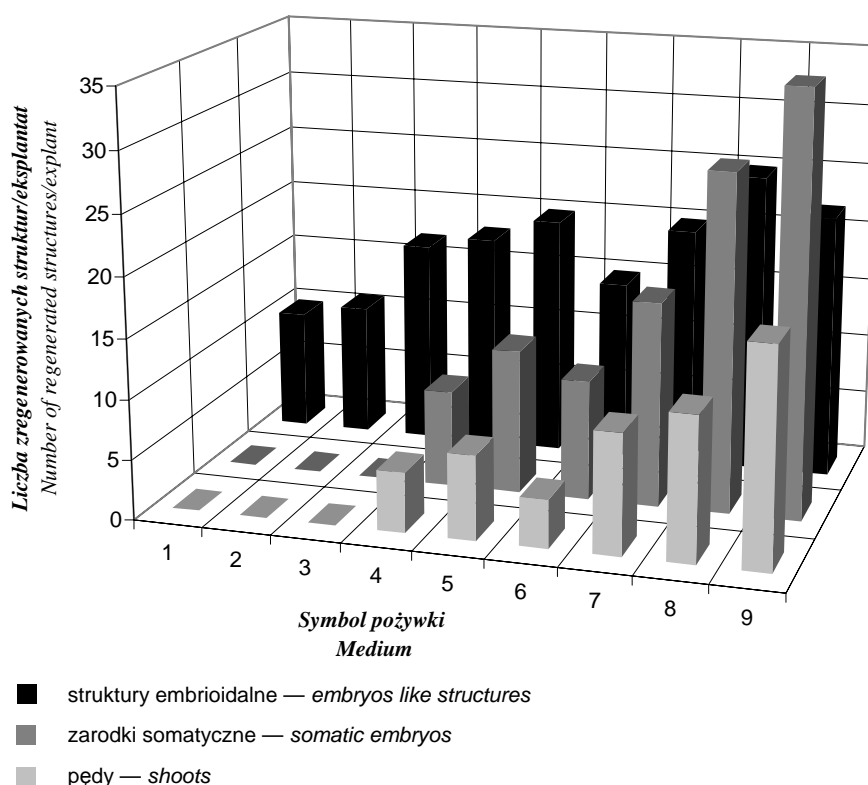
Zarodki somatyczne regenerowały na wszystkich pożywkach zawierających oba hormony wzrostu. Jednak decydującym czynnikiem wydaje się być BAP. Wyższa koncentracja tego fitochormonu (tab. 1, pożywki 8 i 9), stymulowała przebieg embriogenezy somatycznej u *Camelina sativa* L.

Efektywność embriogenezy somatycznej oraz liczbę struktur embrioidalnych zarodków somatycznych i pędów przypadającą na eksplantat przedstawiono na rysunkach 1 i 2.



- struktury embrioidalne — embryos like structures
- zarodki somatyczne — somatic embryos
- pędy — shoots

Rys.1. Efektywność embriogenezy somatycznej z eksplantatów liściennych *Camelina sativa* L. Somatic embryogenesis effectiveness from cotyledonery eksplants of *Camelina sativa* L.



Rys. 2. Liczba struktur embrioidalnych, zarodków somatycznych oraz pędów przypadająca na jeden eksplantat, na poszczególnych pożywkach w kulturach in vitro *Camelina sativa* L. — Mean number of somatic embryos, shoots and embryos-like structures per one explant on different kinds of medium in in vitro culture of *Camelina sativa* L.

## Wnioski

1. Efektywność tworzenia tkanki kalusowej z eksplantatów liściennych Inianki siewnej na pożywce MS inicjującej była bardzo wysoka (98%).
2. Embriogeneza somatyczna zachodziła w obecności BAP w pożywce MS w stężeniu 1,0 mg/l. Najefektywniej (26%) embriogeneza somatyczna przebiegała na pożywce MS z dodatkiem 1,2 mg/l NAA i 1,0 mg/l BAP.
3. Najwięcej zarodków somatycznych w przeliczeniu na jeden eksplantat otrzymano na pożywce MS z dodatkiem 1,2 mg/l NAA i 1,0 mg/l BAP (35 zarodków na eksplantat).

## Literatura

---

- Buchsenschutznothdurft A., Schuster A., Friedt W. 1998. Breeding for modified fatty acid composition via experimental mutagenesis in *Camelina sativa* (L.) Crtz. *Industrial Crop & Products* 7 (2-3): 291-295.
- Hansen L. N. 1998. Intertribal somatic hybridization between rapid cycling *Brassica oleracea* L. and *Camelina sativa* (L.) Crantz. *Euphytica*. 104 (3): 173-179.
- 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., Bhatt S.R., Shyam Prakash, Chopra V. L. 1994. Intergeneric protoplast fusion between *Brassica carinata* and *Camelina sativa*. *Plant Cell Reports* 13: 657-660.
- Putnam D.H., Budin J.T., Field L.A., Breene W.M. 1993. Camelina: A promising low-input oilseed. P.; 314-322. In: J. Janick and J.E. Simon (eds.), *New crops*. Wiley, New York.
- 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.
- 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.