

Lucyna Drozdowska, Janina Rogozińska
Akademia Techniczno-Rolnicza w Bydgoszczy
Katedra Fizjologii Roślin

Rozwój pąków kwiatowych i formowanie łuszczyn rzepaku w kulturach in vitro

Rozwój nasion zależy między innymi od czynników wpływających na rozwój kwiatów i dlatego ich poznanie ma istotne znaczenie. Jedną z metod badawczych jest izolacja pąków kwiatowych od części wegetatywnych i kultura in vitro. Umożliwia ona określenie wymagań odżywczych i hormonalnych oraz wpływu innych czynników na inicjację i morfogenezę organów generatywnych (Bouttier i Morgan 1992, Drozdowska i in. 1992, Polowick i Sawhney 1991).

Celem niniejszej pracy było przebadanie wpływu pH pożywki, stopnia jej zestalenia i źródła węgla na rozwój izolowanych pąków kwiatowych rzepaku i formowanie łuszczyn w kulturach in vitro.

Materiał i metody

Pojedyncze pąki kwiatowe rzepaku *Brassica napus* L. cv. Bolko izolowano z nierozwiniętych kwiatostanów osadzonych w kątach bocznych pędu. Eksplantaty o średnicy ok. 0,5 mm pobierano z roślin będących w początkowym okresie fazy generatywnej (stadium tworzenia pąków kwiatowych). Hodowano je na pożywce mineralnej Murashige i Skoog'a (1962) MS z BAP (10^{-7} M), wzbogaconej witaminami wg White'a (Polowick i Sawhney 1991).

Przebadano wpływ następujących czynników: endogennych — terminy izolacji pąków (I — 7.04.92, II — 14.05.92, III — 21.05.92) i egzogennych — źródło węgla w pożywce (glukoza, sacharoza — 3%), pH pożywki (3,0; 4,0; 5,0), stężenie agaru (0 — pożywka płynna, 0,4% — półpłynna).

Wzrost i rozwój izolowanych pąków kwiatowych zachodził przez okres 8 tygodni w warunkach 16 godz. fotoperiodu, w temp. $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, przy natężeniu światła ok. 3000 lx.

Wyniki i dyskusja

Izolowane pąki kwiatowe rzepaku hodowane w kulturach *in vitro* charakteryzowały się normalnym rozwojem (rys. 2), który zależał od współdziałania badanych czynników.

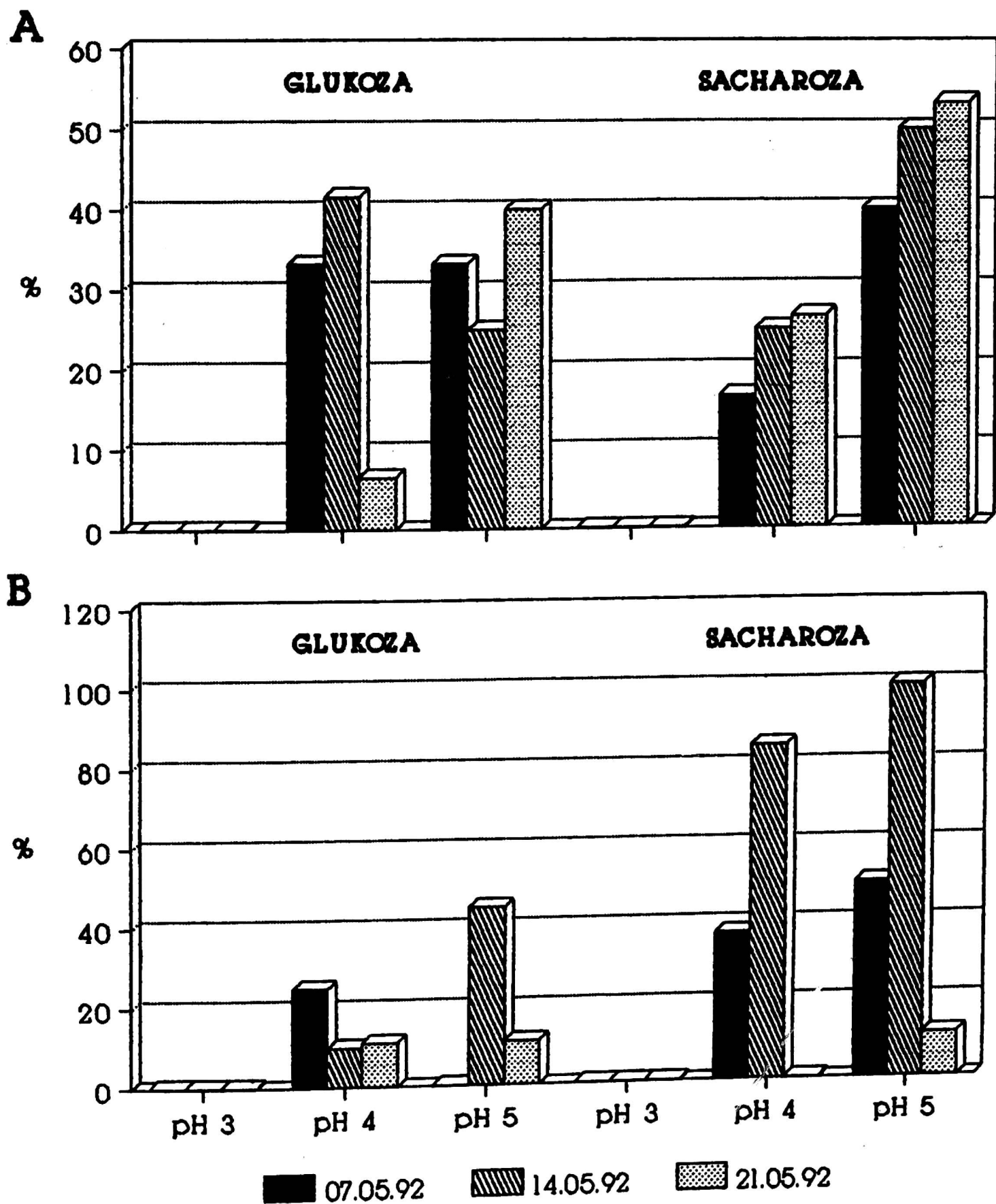
Dane na temat wpływu pH pożywki na wzrost roślin *in vitro* są nieliczne chociaż optymalne pH dla poszczególnych gatunków roślin jest różne (Leifert i in. 1992). Wykazano, że pH wpływa na szybkość wzrostu i morfogenezę kultur tkankowych oraz pobieranie związków odżywczych (Polowick i Sawhney 1991).

Jak wykazały przeprowadzone badania, optymalne pH pożywki dla rozwoju pąków rzepaku cv. Bolko wynosi 5,0 (rys. 1). Wpływ tego czynnika na morfogenezę izolowanych pąków kwiatowych rzepaku cv. Westar badany był przez Polowick i Sawhney (1991). Izolowane przez nich pąki były młodsze niż stosowane w niniejszej pracy, a stwierdzone optymalne pH pożywki — niższe (3,9). Autorzy wykazali jednak, iż pH pożywki w trakcie hodowli zmienia się, przy czym w zakresie pH 3,3–4,6 ulega podwyższeniu, natomiast powyżej pH 5,3 obniżeniu; pożywka MS ma bowiem słabe właściwości buforowe (Vyskot i Bezdek 1984). Końcowe pH pożywki, na której rozwinęły się kwiaty wynosiło 5,3 bez względu na pH początkowe. Optymalne pH pożywki dla morfogenezy organów kwiatowych innych gatunków roślin jest często niższe niż w standardowej pożywce MS (5,6–5,8). Sugeruje się (Polowick i Sawhney 1991), że obniżone pH zwiększa rozpuszczalność i pobieranie składników mineralnych i regulatorów wzrostu z pożywki. Na zmiany wartości pH wpływa ponadto autoklawowanie, okres hodowli i obecność tkanki w pożywce (Skirvin i in. 1986). Mechanizm wpływu pH pożywki nie jest dostatecznie poznany, ale jak podają Polowick i Sawhney (1991) oraz Leifert i in. (1992) jest czynnikiem istotnym.

Jak wykazano poprzednio (Drozdowska i in. 1992) innym ważnym czynnikiem wpływającym na morfogenezę izolowanych organów rzepaku jest konsystencja pożywki. Również rozwój izolowanych pąków kwiatowych rzepaku i formowanie łuszczyn w kulturach *in vitro* zależało od stopnia zestalenia pożywki (rys. 1). Znacznie więcej łuszczyn rozwijało się z eksplantatów inkubowanych na pożywce półpłynnej (do 100%), niż na pożywce płynnej (do 52%).

Istotnym czynnikiem kontrolującym proces kwitnienia w warunkach *in vivo* są asymilaty, które równocześnie dostarczają energii do reakcji biosyntetycznych związanych z tym procesem (Bodson i Bernier 1985). W kulturach *in vitro* natomiast, zawarta w pożywce sacharoza zastępuje translokowane w roślinie asymilaty. Warunki *in vitro* umożliwiają więc badanie wpływu różnych węglowodanów na morfogenezę izolowanych eksplantatów (Drozdowska i Rogozińska 1984).

Spośród przebadanych w niniejszej pracy węglowodanów (sacharoza, glukoza) odpowiedniejsza wydaje się sacharoza. Jej wpływ na rozwój pąków był jednak różnicowany i zależał od zestalenia pożywki. Rozwój pąków hodowanych na po-



Rysunek 1. Rozwój pąków kwiatowych hodowanych na pożywce płynnej (A) lub półpłynnej (B) w zależności od terminu izolacji, pH i obecności sacharozy lub glukozy

The flower bud development in liquid (A) and semi liquid (B) medium depending on time of isolation, pH and the presence of sucrose or glucose

żywece półpłynnej był lepszy w obecności sacharozy, natomiast nie stwierdzono większych różnic między wpływem glukozy i sacharozy na pożywece płynnej (rys. 1).

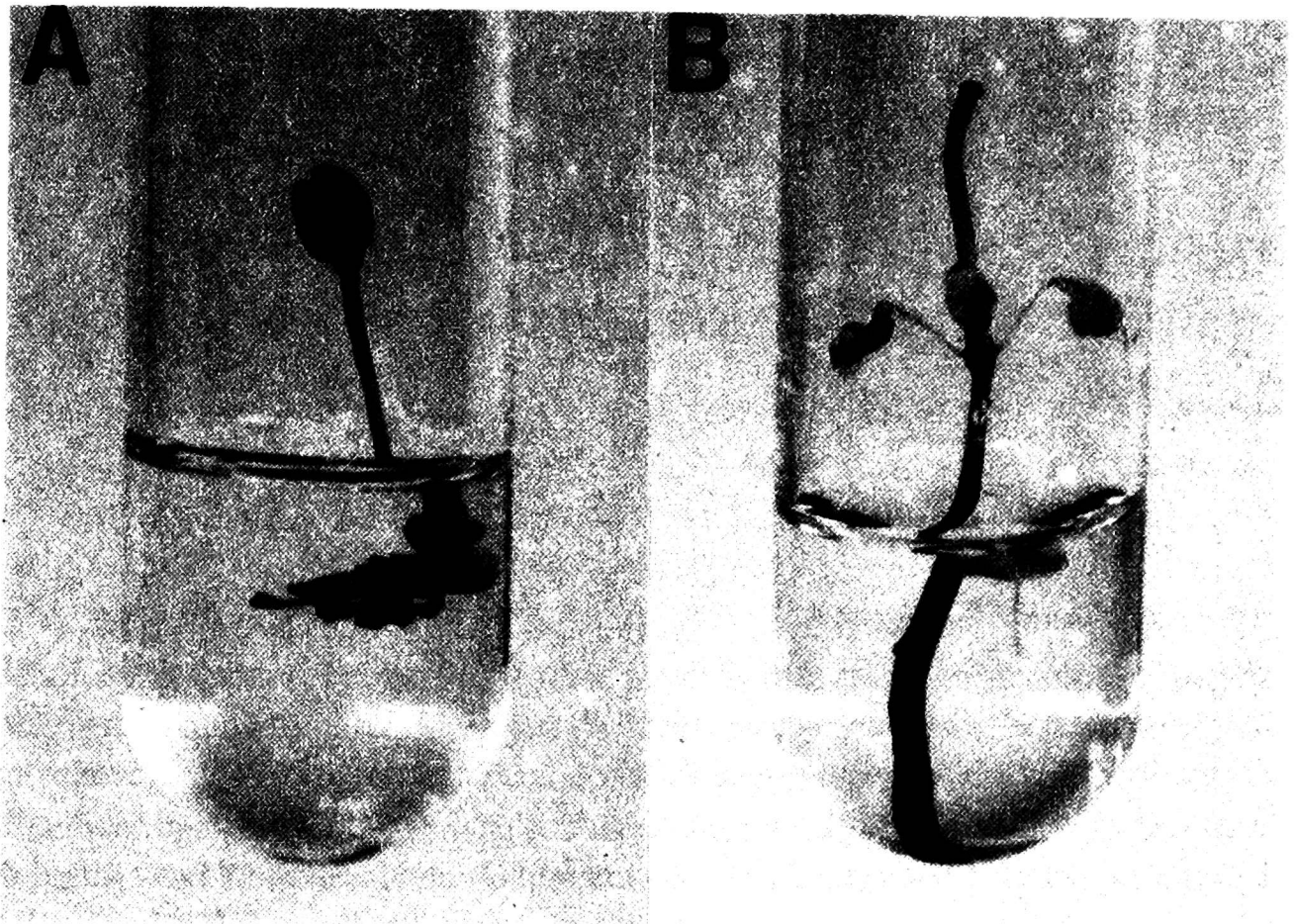
Wiek izolowanego eksplantatu był również ważnym czynnikiem wpływającym na rozwój pąków kwiatowych w kulturach *in vitro*. Wyraźny wpływ terminu pobierania eksplantatów na liczbę rozwiniętych kwiatów, a następnie łuszczyn stwierdzono stosując pożywkę płynną z sacharozą. Procent pąków, z których rozwinęły się łuszczyny był najwyższy gdy pąki izolowano w terminie najpóźniejszym (III) i hodowano na pożywece płynnej. Dla pąków izolowanych w II terminie odpowiedniejszą okazała się pożywka półpłynna i mimo, iż rozwój zachodził wolniej, prawie wszystkie pąki wytworzyły łuszczyny. Zależność rozwoju pąków kwiatowych rzepaku od ich wieku wykazali również Bouttier i Morgan (1992) mimo stosowania innych warunków kultury.

Poza wykazanim wpływem badanych czynników na rozwój pąków kwiatowych i formowanie łuszczyn w kulturach *in vitro*, sporadycznie obserwowano u nasady szypułki pąka kwiatowego tworzenie kalusa i pączków pędowych (rys. 2A). Pędogeneza zachodziła na eksplantatach izolowanych we wszystkich trzech terminach, jednak zdolność do regeneracji była największa na szypułkach pączków izolowanych w terminie najwcześniejszym (I).

Wstępne wyniki badań wskazują na możliwości rozwojowe bardzo młodych pąków kwiatowych rzepaku w kulturach *in vitro* i zależność tego procesu od badanych czynników.

Literatura

- Bodson M., Bernier G. 1985. Is flowering controlled by the assimilate level? *Physiol. Veg.* **23**: 1-11.
- Bouttier C., Morgan D. G. 1992. Development of oilseed rape buds, flowers and pods *in vitro*. *J. Exp. Bot.* **43**: 1089-1096.
- Drozdowska L., Rogozińska J. 1984. Wpływ źródeł węgla na wzrost i rozwój izolowanych korzeni rzepaku ozimego. *Zesz. Nauk. ATR 113, Rolnictwo* **18**: 47-54.
- Drozdowska L., Ulanowska M., Rogozińska J. 1992. The effect of endo- and exogenous factors on growth and maturation of oilseed rape (*Brassica napus* cv. Jet Neuf) siliques cultured *in vitro*. *Acta Soc. Bot. Pol.* **61**: 187-196.
- Leifert C., Pryce S., Lumsden P. J., Waites W. M. 1992. Effect of medium acidity on growth and rooting of different plant species growing *in vitro*. *Plant Cell. Tiss. Org. Cult.* **30**: 171-179.
- Murashige T., Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* **15**: 473-497.
- Polowick P. L., Sawhney V. K. 1991. *In vitro* floral development of oilseed rape (*Brassica napus* L.): The effects of pH and plant growth regulators. *J. Exp. Bot.* **42**: 1583-1588.
- Skirvin R. M., Chu M. C., Mann M. L., Young H., Sullivan J., Fermanin T. 1986. Stability of tissue culture medium pH as a function of autoclaving, time and cultured plant material. *Plant Cell Rep.* **5**: 292-294.
- Vyskot B., Bezdek M. 1984. Stabilization of the synthetic media for plant tissue and cell cultures. *Biol. Plant.* **26**: 132-143.



Rysunek 2. Rozwój pąków kwiatowych: – The flower buds development:

A – regeneracja pąków wegetatywnych z szypułki kwiatowej – vegetative buds regeneration from flower petiole

B – rozwój pąka kwiatowego i przekształcenie słupka w łuszczycę – the flower after anthesis and transformation pistil to silique

In vitro flower buds development and siliques formation in oilseed rape.

Summary

The relationship between the time of flower buds isolation and the culture conditions was determined. It was shown that the factors tested (pH, the carbon source, the grade of solidification of the medium) influenced both flower development and silique formation.