



## Wykorzystanie światła lasera do uzyskiwania haploidów jęczmienia metodą *H. bulbosum*

Wojciech Rybiński, Maria Surma, Tadeusz Adamski  
Instytut Genetyki Roślin, Polska Akademia Nauk, Poznań

### The use of laser light for obtaining barley haploids by *Hordeum bulbosum* method

#### Summary

The effect of helium-neon laser with wavelength of 632 nm on seed setting in a cross of *Hordeum vulgare* x *H. bulbosum* was studied. The seeds before sowing as well as immature embryos were irradiated with laser light. Material not irradiated with laser beams constituted the control. It was shown that stimulative dose of laser beams increased the number of seeds/100 pollinated florets in comparison with the control combination. After laser treatment, the seed setting of the line HG156, and cultivars Vada and Apex was higher by 13.0, 7.9 and 3.2%, respectively. The number of obtained haploids/100 cultured embryos irradiated with laser light was also higher in comparison with the control by 1.8, 0.9 and 10.8%, respectively. The obtained results show that treatment with laser beams was more effective at the first step of haploid production (seeds/100 florets) than at the next step (haploids/100 embryos cultured). From the practical point of view, better results can be obtained by irradiation of seeds before sowing than by irradiation of immature embryos. Cultivar Apex with a positive reaction on irradiation of embryos was an exception here.

#### Key words:

barley, haploids, *Hordeum bulbosum*, laser, incompatibility.

#### Adres do korespondencji

Wojciech Rybiński,  
Instytut Genetyki Roślin  
Polska Akademia Nauk,  
ul. Strzeszyńska 34,  
60-479 Poznań.

### 1. Wstęp

Na początku lat sześćdziesiątych opublikowano pierwszą pracę nad wykorzystaniem światła lasera rubinowego w naukach biologicznych (1). Badaniami tymi zapoczątkowano zainteresowanie laserem, głównie w pracach nad biologią komórki (2-4).

Wykazano, że laser może indukować mutacje (5-7). Okazało się również, że światło lasera o długości fali 630-650 nm może w niższych dawkach działać jak biostymulator (8,9). Stwierdzono, że nasiona napromieniowane określonymi dawkami światła lasera wykazują podwyższony potencjał bioenergetyczny, co uwidacznia się poprawieniem ich zdolności kiełkowania i wzmocnieniem roślin w trakcie ich wzrostu i rozwoju, a w efekcie końcowym – wzrostem plonowania od 10 do 20%.

Celem pracy było zbadanie, czy światło lasera helowo-neonowego o długości fali 632 nm wpływa stymulująco na rozwój roślin i niedojrzałych, haploidalnych zarodków jęczmienia uzyskanych w wyniku krzyżowań jęczmienia uprawnego z *Hordeum bulbosum*, a także – czy może być wykorzystane do zwiększenia efektywności uzyskiwania haploidów z form jęczmienia o częściowej niezgodności z *H. bulbosum*.

## 2. Metodyka badań

Materiał do badań stanowiła linia DH jęczmienia jarego HG156 oraz odmiany Apex i Vada charakteryzujące się częściową niezgodnością z *H. bulbosum*. Ziarniaki napromieniowywano przez 30 minut światłem lasera, ziarniaki nie napromieniowane stanowiły kontrolę. Rośliny z nasion traktowanych światłem lasera oraz rośliny kontrolne zapyłano *H. bulbosum*. Po upływie 14-17 dni od zapylenia niedojrzałe zarodki izolowano i poddawano naświetlaniu laserem przez 20 minut. Zarodki nie naświetlane stanowiły kontrolę. Do badań zastosowano laser helowo-neonowy (He-Ne) działający w przedziale światła czerwonego o długości fali 632 nm i mocy 1 mW/cm<sup>2</sup>, przystosowany przez Centrum Techniki Laserowej w Warszawie do naświetlania obiektów biologicznych. Zarodki naświetlane oraz kontrolne hodowano w warunkach *in vitro* na pożywce B5 Gamborga (10) zgodnie ze standardową procedurą podaną m.in. przez Devaux i in. (11).

Dla każdej kombinacji z naświetlaniem oraz kontrolnej określano liczbę zapylnych kwiatów, liczbę zawiązanych ziarniaków, liczbę zarodków wyłożonych na pożywkę oraz liczbę uzyskanych roślin haploidalnych, a następnie obliczono stosunek zawiązanych ziarniaków do zapylnych kwiatów oraz stosunek liczby uzyskanych roślin haploidalnych do wyłożonych zarodków.

## 3. Wyniki i dyskusja

O efektywności metody *H. bulbosum* mierzonej liczbą uzyskanych roślin haploidalnych w stosunku do zapylnych kwiatków decyduje głównie procent zawiązanych ziarniaków oraz liczba zarodków rozwijających się na pożywce (12). W tabeli 1 przedstawiono liczbę zapylnych kwiatów i zawiązanych ziarniaków. Spośród badanych form najwyższy procent zawiązanych ziarniaków obserwowano dla rodu HG156, przy czym okazał się on wyższy u roślin, które rowiły się z ziarniaków naświetlo-

nych laserem (89,2%) niż kontrolnych (76,2%). Wartości uzyskane dla odmiany Vada i Apex były wyraźnie niższe, lecz – podobnie jak u rodu HG156 – wyższe w kombinacji z laserem o odpowiednio 7,9 i 3,2%. Uzyskane wyniki wskazują z jednej strony na stymulujący wpływ światła lasera na procent zawiązanych ziarniaków, z drugiej zaś na znaczący wpływ genotypu na uzyskany efekt.

Tabela 1

Osadzenie ziarniaków u wybranych form jęczmienia po zapyleniu *Hordeum bulbosum* w kontroli oraz po potraktowaniu ziarniaków przed wysiewem światłem lasera

Obiekty/kombinacje	Liczba zapylnych kwiatów	Liczba uzyskanych ziarniaków	Zarodki/100 zapylnych kwiatów
HG 156			
kontrola	681	519	76,2
laser	1072	956	89,2
Vada			
kontrola	1068	183	17,1
laser	1482	371	25,0
Apex			
kontrola	1130	135	11,9
laser	1850	280	15,1

Większość odmian jęczmienia wykazuje wysoki stopień krzyżowalności z *H. bulbosum*, który w zależności od warunków środowiskowych wynosi od 70 do 90% (11,13,14). Odmiany o częściowej niezgodności z *H. bulbosum*, do których należą m.in. odmiany Vada (12,15) i Apex (10,12), zawiązują znacznie mniej ziarniaków, co obniża efektywność tej metody otrzymywania form haploidalnych jęczmienia. W badaniach Thörna (15) osadzanie ziarniaków u odmiany Vada wynosiło 4,5% i było niższe aniżeli u częściowo niezgodnej 6-rzędowej odmiany Vogelsanger Gold (9,5%). Wykazano, że częściowa niezgodność wspomnianych odmian z *H. bulbosum* warunkowana jest przez jeden gen dominujący, przy czym stopień niezgodności może być modyfikowany przez czynniki środowiskowe (14,15). W prezentowanych badaniach napromieniowanie światłem lasera ziarniaków przed wysiewem zwiększyło procent osadzenia ziarniaków na uzyskanych z nich roślinach po krzyżowaniu z *H. bulbosum*. Podobne wyniki uzyskali autorzy naświetlając zarodki kilku rodów jęczmienia ozimego (nie wykazujących częściowej niezgodności z *H. bulbosum*), przy czym stwierdzono, że stymulujący wpływ światła lasera zależny był od genotypu jęczmienia (16).

W tabeli 2 przedstawiono liczbę wyłożonych na pożywkę zarodków i otrzymanych roślin haploidalnych. Procent uzyskanych haploidów w stosunku do wyłożo-

nych zarodków linii HG156 i odmiany Vada w kombinacji z laserem oraz w kontroli był zbliżony i wynosił od 22,4 do 25,4%. Stymulujący wpływ światła lasera na rozwój zarodków w kulturze *in vitro* stwierdzono w przypadku odmiany Apex: w kombinacji z laserem uzyskano 34,5% haploidów, podczas gdy w kontroli 23,7%.

Tabela 2

**Procent uzyskanych roślin haploidalnych jęczmienia w kontroli oraz po potraktowaniu niedojrzałych zarodków światłem lasera**

Obiekty/kombinacje	Liczba wyłożonych zarodków	Liczba uzyskanych haploidów	Haploidy/100 zarodków
HG 156			
kontrola	373	88	23,6
laser	389	99	25,4
Vada			
kontrola	183	41	22,4
laser	236	55	23,3
Apex			
kontrola	135	32	23,7
laser	185	64	34,5

Analizując wyniki w tabelach 1 i 2 można stwierdzić, że światło lasera ma większy wpływ na pierwszym etapie metody *H. bulbosum* (liczba zawiązanych ziarniaków/100 zapylnych kwiatów), aniżeli w następnym etapie (liczba haploidów/100 wyłożonych zarodków). Sugeruje to wyższy stymulujący wpływ światła lasera na wzrost i rozwój roślin przed ich krzyżowaniem, aniżeli na zarodki przed ich wyłożeniem na pożywkę. W badaniach Rybińskiego i innych (7) napromieniowanie ziarniaków jęczmienia umożliwiło uzyskanie roślin wykazujących o 30% wyższą liczbę i masę ziaren z rośliny w porównaniu z kontrolą.

Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że światło lasera helowo-neonowego o długości fali 632 nm wpływa na zwiększenie efektywności metody bulbosowej, co ma istotne znaczenie w odniesieniu do odmian wykazujących częściową niezgodność w krzyżowaniach z *H. bulbosum*.

## Literatura

1. Bessis M., Gires F., Mayer G., Normarski G., (1962), C.R. Acad. Sci., 255, 1010-1012.
2. Amy R. L., Storb R., (1965), Science, 210, 756-757.
3. Saks N., Zuzolo R. C., Kopac M. J., (1965), Ann. N. Y. Acad. Sci., 122, 695-712.
4. Moreno G., Lutz M., Bessis M., (1969), Int. Rev. Exp. Phatol., 7, 99-137.
5. Berns M. W., Olson R. S., Rounds D. E., (1969), Nature, 221, 74-75.
6. Dudin P., (1990), Genetica, 26, 363-366.

7. Rybiński W., Patyna H., Przewoźny T., (1993), Genet. Pol., 34, 337-343.
8. Koper R., Wójcik S., Kornas-Czuczwar B., Bojarska U., (1996), Int. Agrophysics, 10, 103-108.
9. Podleśny J., Koper R., (1998), Zeszyty Probl. Post. Nauk Roln., 454, 256-262.
10. Adamski T., Jeżowski S., Majewska T., Surma M., (1990), Hodowla Roślin, 4-5, 5-8.
11. Devaux P., Adamski T., Surma M., (1990), Plant Breeding, 104, 305-311.
12. Surma M., (1997), Seminaria Wydziału Rolniczego AR, Poznań, 3, 156-174.
13. Adamski T., (1979), Genet. Pol., 20, 31-42.
14. Devaux P., Adamski T., Surma M., (1992), Crop Sci., 32, 269-271.
15. Thörn C., (1991), Hereditas, 114, 213-218.
16. Rybiński W., Adamska E., (1996), Zeszyty Naukowe AR, Kraków, 50, 289-292.