

MARIOLA DREGER
TOMASZ WRÓBEL
MILENA SZALATA
MAŁGORZATA GÓRSKA-PAUKSZTA
GRAŻYNA MAŃKOWSKA
MARCIN OŻAROWSKI
KAROLINA WIELGUS

Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich, Zakład Biotechnologii
ul. Wojska Polskiego 71b, 60-630 Poznań
e-mail: mariola.dreger@iwnirz.pl

Zastosowanie mikropropagacji w celu otrzymania i selekcji genotypów konopi włóknistych o potencjale medycznym*

Konopie (*Cannabis sativa* L.) są coraz szerzej wykorzystywane do celów medycznych, a postępowi badań w tej dziedzinie towarzyszy ciągły wzrost popytu na surowiec o określonym profilu kannabinoidów. Ograniczenia uprawy tych roślin, wynikające z obostrzeń prawnych, pociągają za sobą nacisk na selekcję odmian pozbawionych działania psychotycznego, warunkowanego zawartością THC, a bogatych w inne kannabinoidy o znaczeniu medycznym jak np.: kannabidiol (CBD). Dlatego konieczne jest wdrożenie nowoczesnych technologii w programy hodowlane nowych, ulepszonych odmian konopi o potencjale farmaceutycznym. Zastosowanie mikropropagacji umożliwia wydajne namnażanie genotypów roślin o pożądanych cechach w ściśle kontrolowanych warunkach. Celem badań jest opracowanie wydajnego protokołu mikropropagacji wybranych genotypów konopi siewnych do otrzymywania wysokiej jakości materiału rozmnożeniowego, a w dalszej perspektywie uzyskania nowych odmian o potencjale medycznym.

Obiektem badawczym były dwie krzyżówki konopi siewnych. Nasiona do incjacji kultur pochodziły z Banku Genów Instytutu Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich. Epikotyle sterylnych siewek wykładano na pożywkę ½ MS z kwasem 3-indoliloctowym IAA (0,5 mg/l) w celu regeneracji pędów. Gdy pędy były dobrze wykształcone (wiek ok.

* Badania sfinansowano ze środków Narodowego Centrum Badań i Rozwoju w ramach projektu nr: INNOMED/I/11/NCBR/2014 oraz programu wieloletniego Ministerstwa Rolnictwa i Rozwoju Wsi (RM 171/2017).

3 tygodni) odcinano wierzchołek pędu by pobudzić pąki kątowe do wzrostu i otrzymać pędy boczne. Odciętą część wierzchołkową dzielono na eksplantaty: wierzchołek pędu (WP) i odcinki węzłowe (OW), po czym wykładano na pożywkę ukorzeniającą. Pozostałą część pędu dalej inkubowano przez następne 2–3 tygodnie do otrzymania nowych pędów bocznych. Zregenerowane pędy boczne cięto ponownie, zliczając indywidualnie z każdego pędu liczbę eksplantatów wtórnych: WP i OW. Eksplantaty umieszczano pojedynczo w pojemnikach zawierających pożywkę ukorzeniającą. Kultury pasażowano w odstępach 3–4 tygodni. Warunki prowadzenia kultur: temperatura: 25°C; fotoperiod 16h/8 h; natężenie światła: 80–120 $\mu\text{mol/s/m}^2$. Zregenerowane rośliny w wieku 3 tygodni oceniano pod względem: przeżywalności (%), ukorzenia (%), wysokości pędu (cm) i liczby korzeni. Ukorzone rośliny o wysokości około 2 cm i prawidłowo rozwiniętym systemie korzeniowym aklimatyzowano do warunków *ex vitro*.

Dotychczas otrzymano 32 genotypy konopi. Średnia wydajność metody namnażania oscylowała w granicach od 5,4 do 7,9 eksplantatów w przeliczeniu na jeden pęd i była zależna od genotypu. Wydajność zastosowanej metody liczona dla wszystkich linii wynosiła $6,6 \pm 2,35$ SD eksplantatów w przeliczeniu na jeden pęd. Przeżywalność eksplantatów była wysoka i wynosiła od 98% do 100%. Odsetek ukorzonych pędów wynosił od 57% do 69%. Zauważono znaczne różnice w regeneracji obu typów eksplantatów (WP i OW), prawidłowość ta dotyczyła wszystkich linii, niezależnie od genotypu. Niemal dwukrotnie więcej eksplantatów WP niż OW ukorzeniało się i formowało większą liczbę korzeni (72% versus 45%; 79% versus 39%; 80% versus 59%). Średnia wysokość pędów zregenerowanych z WP była ok. 2-krotnie wyższa od pędów zregenerowanych z OW. Zaobserwowano różnice osobnicze (między genotypami) odnośnie regeneracji i tempa wzrostu zarówno pędu jak i korzeni (przeciętnie od 2 do 4 tygodni). Przeżywalność roślin po aklimatyzacji do warunków *ex vitro* wynosiła 100%, a do warunków hali wegetacyjnej 85%.

Wprowadzenie modyfikacji metody mikrorozmnażania poprzez odcinanie wierzchołka pędu pozwoliło na regenerację pędów bocznych, a przez to: zwiększenie całkowitej liczby eksplantatów, w tym 3-krotne zwiększenie liczby wierzchołków pędów, które lepiej się ukorzeniały i regenerowały pędy. Umożliwiło to namnażanie linii i otrzymanie zaaklimatyzowanych roślin, z których pobrano próby do oceny zawartości kannabinoidów.

LITERATURA

- Wróbel T, Dreger M, Wielgus K, Słomski R. 2018. The application of plant *in vitro* cultures in cannabinoid production. *Biotechnol Lett.*;40 (3): 445 — 454.
- Murashige T., Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant* 15: 473 — 497.