

WYKORZYSTANIE BIOSTYMULUJĄCEGO DZIAŁANIA ŚWIATŁA LASERA HELOWO - NEONOWEGO W BADANIACH NAD ŁUBINEM ANDYJSKIM

W. Rybiński, S. Stawiński¹

Instytut Genetyki Roślin PAN, ul. Strzeszyńska 34, 60-479 Poznań

¹Hodowla Roślin Smolice, Oddział w Przebędowie, 64-620 Murowana Goślina

Streszczenie: Badano wpływ lasera oraz dwóch chemomutagenów (MNU i NaN_3) na zmienność cech u łubinu andyjskiego. Do naświetlania nasion wykorzystano laser helowo-neonowy o długości fali 632,8 nm i mocy padającego światła o wartości powierzchniowej gęstości mocy 1mW/cm^2 . Pomiary wartości cech morfologicznych oraz struktury plonu prowadzono w warunkach pola doświadczalnego IGR PAN. W przeciwieństwie do chemomutagenów światło lasera indukowało efekt biostymulacji a jej wartość zależna była od czasu naświetlania oraz rodzaju badanej cechy. Obserwowany efekt w porównaniu z kombinacją kontrolną wyrażał się większą liczbą wschodzących roślin, przyspieszeniem kwitnienia, wzrostem liczby pędów z nasionami oraz wyższą liczbą strąków i nasion z rośliny. W obrębie rośliny efekt biostymulacji był wyższy w odniesieniu do pędu głównego aniżeli pędów bocznych. Uzyskane wyniki wskazują, że laser helowo-neonowy w przedziale światła czerwonego można traktować jako efektywny biostymulator i może być wykorzystany do przedsewnego naświetlania nasion łubinu andyjskiego.

Słowa kluczowe: biostymulacja, chemomutageny, laser, łubin andyjski, struktura plonu, zmienność cech.

WSTĘP

W porównaniu z tradycyjnie uprawianymi gatunkami łubinu jak łubin biały, żółty i wąskolistny, łubin andyjski (*Lupinus mutabilis* Sweet) jest gatunkiem w Polsce stosunkowo nowym i jak dotąd nie został wprowadzony do produkcji rolniczej. Czynniki mogące ograniczyć jego wartość użytkową to: zbyt wysoka zawartość alkaloidów, długi okres wegetacji, niski stosunek liczby nasion

w stosunku do wysokiej biomasy, tendencja do obcozapyłania oraz niska odporność na alternarię co wskazuje na konieczność intensywniejszych badań nad łubinem andyjskim aby umożliwić jego szersze zastosowanie w uprawie [3].

Postęp jaki uzyskano w ostatnich latach, szczególnie w uzyskiwaniu linii "słodkich" łubinu andyjskiego [2] otwiera niewątpliwie perspektywy jego szerszego aniżeli dotąd znaczenia użytkowego. Według Sawickiej [21] w przypadku materiałów "słodkich" mamy do czynienia z zbyt wąską bazą genetyczną spowodowaną wykorzystaniem nielicznej liczby form jako materiału wyjściowego. Pionierskie prace nad indukowaniem mutacji u łubinu [7,6] oraz późniejsze badania [12,15] wykazały, że mutageneza może być efektywnym źródłem poszerzenia istniejącej zmienności genetycznej cech u tego gatunku.

W przedstawionej pracy dokonano analizy zmienności cech u roślin łubinu andyjskiego po zastosowaniu światła lasera helowo - neonowego oraz dwóch powszechnie stosowanych chemomutagenów – azydku sodu (NaN_3) oraz N-metylo-N-nitrosomocznika (MNU).

MATERIAŁ I METODYKA

Materiał wyjściowy do badań stanowiły nasiona łubinu andyjskiego (*Lupinus mutabilis* Sweet) pochodzące z ZD IHAR w Przebędowie. W zależności od kombinacji nasiona naświetlano laserem lub traktowano chemomutagenami. Do napromieniowania nasion wykorzystano laser helowo-neonowy o długości fali 632,8 nm i gęstości powierzchniowej mocy 1 mW/cm^2 przygotowany do naświetlania obiektów biologicznych przez Centrum Techniki Laserowej w Warszawie. Zastosowano cztery czasy naświetlania: 30; 60; 90 i 120 minut. Do traktowań mutagennych wybrano azydek sodu (NaN_3) w stężeniu 3,5 mM oraz N-metylo-N-nitrosomocznik w stężeniu 0.8 mM. Nasiona przed indukowaniem mutacji moczo w wodzie destylowanej przez okres 8 godzin a następnie na trzy godziny umieszczano w roztworze każdego z mutagenów. Nasiona nie poddane działaniu światła lasera lub chemomutagenów stanowiły kombinację kontrolną.

Po zakończeniu naświetlania i traktowania mutagenami nasiona wysiewano na poletka w doświadczeniu założonym metodą bloków losowanych w trzech powtórzeniach. Obsadę roślin na poletku określano po wschodach oraz podczas kwitnienia. Wysokość roślin mierzono po wschodach, w czasie kwitnienia oraz przed zbiorem. Dla każdej kombinacji notowano termin rozpoczęcia kwitnienia. Po zbiorze na roślinach określano liczbę pędów z nasionami. Analizę struktury plonu określano poprzez ocenę liczby strąków i nasion na pędzie głównym oraz pędach bocznych. Wyniki wyrażono w procentach wartości redukcji (-) lub stymulacji (+) cech zgodnie z metodyką podaną przez Rybińskiego [20].

WYNIKI

Zastosowane dawki chemomutagenów redukowały liczbę wschodzących roślin w porównaniu z kombinacją kontrolną (Tab.1). Wyższą redukcję wartości tej cechy obserwowano dla azydki sodu (33%) aniżeli MNU (15%). W przeciwieństwie do chemomutagenów światło lasera indukowało dla wszystkich czasów naświetlania efekt stymulacji. Najwyższą stymulację wschodów obserwowano przy 90 minutach naświetlania (51%). Obsada roślin na poletku oceniana w drugim terminie pomiaru w kombinacjach z mutagenami była prawie identyczna jak w pierwszym terminie. Dla kombinacji z laserem, obserwowano wzrost wartości stymulacji w porównaniu z pierwszym terminem a najwyższą wartość wykazano również dla 90 minut naświetlania.

Podobnie jak dla cechy obsady roślin na poletku chemomutageny indukowały dla wszystkich trzech terminów pomiaru (Tab.1) efekt redukcji wysokości roślin, przy czym redukcja była najniższa w trzecim terminie pomiaru (przed zbiorem roślin). Światło lasera stymulowało wysokość roślin a wartość stymulacji obniżała się w kolejnych terminach pomiaru i przed zbiorem wysokość roślin była prawie identyczna jak roślin kontrolnych.

Tabela 1. Wartości stymulacji (+) lub redukcji (-) cech lubinu andyjskiego po działaniu światła lasera i chemomutagenów wyrażone w procentach kontroli

Table 1. The value of stimulation (+) or reduction (-) of andean lupin traits calculated as per cent of control value after use of chemomutagens and laser light

Kombinacje	Liczba roślin		Wysokość roślin		
	po wschodach	przed kwitnieniem	po wschodach	w czasie kwitnienia	przed zbiorem
NaN ₃ – 3.5 mM	-33.2	-33.2	-15.3	-15.3	-7.0
MNU – 0.8mM	-15.0	-12.2	-14.0	-21.3	-6.5
Laser – 30 minut	+28.0	+38.4	+9.5	+3.1	+4.2
Laser – 60 minut	+18.4	+33.0	+5.2	+1.0	+2.2
Laser – 90 minut	+51.0	+67.2	+21.0	+5.5	+2.1
Laser – 120 minut	+42.3	+43.0	+3.1	+2.2	-2.1

Zarówno chemomutageny, jak i światło lasera miały wpływ na termin, rozpoczęcia kwitnienia (Tab.2). W porównaniu z kombinacją kontrolną azydek sodu opóźniał rozpoczęcie kwitnienia roślin o dwa a MNU o trzy dni. Laser przyspieszał kwitnienie, które wynosiło 3 dni w odniesieniu do kombinacji z 90 minutami naświetlania.

Tabela 2. Wartości stymulacji (+) lub redukcji (-) cechy liczby pędów z nasionami oraz termin kwitnienia roślin po działaniu chemomutagenów i światła lasera

Table 2. The value of stimulation (+) or reduction (-) for number of stems with seeds and date of plant flowering after use of chemomutagens and laser light

Kombinacje	Liczba pędów z nasionami z rośliny	Termin rozpoczęcia kwitnienia
Kontrola	-	15.06
NaN ₃ – 3.5 mM	-19.0	17.06
MNU – 0.8mM	-33.1	18.06
Laser – 30 minut	+11.3	14.06
Laser – 60 minut	+8.3	15.06
Laser – 90 minut	+5.2	12.06
Laser – 120 minut	+9.1	14.06

Wpływ światła lasera i chemomutagenów na parametry plonowania łubinu andyjskiego przedstawia tabela 3.

Tabela 3. Wartości stymulacji (+) lub redukcji (-) cech struktury plonu po działaniu chemomutagenów i światła lasera wyrażone w procentach wartości kontroli

Table 3. The value of biostimulation (+) or reduction (-) of yield structure calculated as per cent of control value after use of chemomutagens and laser light

Kombinacje	Pęd główny		Pędy boczne	
	Liczba strąków	Liczba nasion	Liczba strąków	Liczba nasion
NaN ₃ – 3.5 mM	+19.1	+12.0	-13.0	-31.0
MNU – 0.8mM	+9.3	-3.0	-32.4	-26.5
Laser – 30 minut	+15.2	+45.1	+42.7	+41.1
Laser – 60 minut	+9.0	+43.0	+41.2	+46.0
Laser – 90 minut	+15.3	+26.4	-43.2	-22.3
Laser – 120 minut	+19.4	+37.2	-12.9	-19.2

Generalnie chemomutageny obniżały a laser stymulował liczbę pędów z nasionami z rośliny. O ile po działaniu mutagenów obserwowano nieznaczną stymulację liczby strąków i nasion z pędu głównego to dla tych samych cech pędów bocznych uzyskano efekt redukcji. Podobną tendencję lecz o wyraźnie wyższym działaniu stymulującym uzyskano dla światła lasera. Zastosowane czasy naświetlania wywołują stymulację liczby strąków pędu głównego od 15.2 - 19.4% a liczby nasion od 37.2 – 45.1%. W odniesieniu do pędów bocznych uzyskane

wartości są wyraźnie niższe a oprócz stymulacji obserwowano również efekt redukcji. Naświetlanie nasion przez 30 minut wywołało stymulację liczby strąków pędów bocznych rzędu 42% ale wydłużanie naświetlania do 90 minut silnie redukowało wartość tej cechy. Znalazło to odzwierciedlenie w liczbie nasion dla której dawka 30 minut wywołała stymulację tej cechy o 41% a dawka 90 minut redukowała liczbę nasion z pędów bocznych o 22%.

DYSKUSJA

Analizując uzyskane wyniki można stwierdzić, że zastosowane dawki lasera i mutagenów indukowały procesy stymulacji i redukcji wartości analizowanych cech. O ile mutageny wywołują przede wszystkim uszkodzenia somatyczne u roślin M_1 , wyrażone redukcją wartości badanych cech to światło lasera wykazywało działanie biostymulujące. Mimo, że chemomutageny indukowały efekt redukcji, dla niektórych cech uzyskano nieznaczna stymulację. Jest to zgodne z danymi literaturowymi wskazującymi, że w niskich stężeniach chemomutageny mogą wykazywać działanie stymulujące [13,1]. Zdecydowane działanie stymulujące wykazywało światło lasera. Podobny efekt obserwowano w badaniach nad gryką [14], fasolą [23], pomidorami [9], soją [16], trawami [22], bobikiem [17], kukurydzą [11], burakiem cukrowym [8], jęczmienia [20] i pszenicą [4].

Jednym z pozytywnych efektów działania światła lasera była obserwowana stymulacja wschodów. Analizując rośliny kukurydzy po działaniu światła lasera [10], w wyższych przedziałach dawek uzyskano wzrost liczby w zeszłych roślin w porównaniu z wschodami formy wyjściowej. Ma to niewątpliwie związek z lepszym kiełkowaniem nasion [18], co wykazano po działaniu lasera na nasiona łubinu białego. W badaniach nad pszenicą światło lasera zwiększało energię kiełkowania o 25 - 28% [4]. Podobnie jak w badaniach Sawickiej [21] nad łubinem andyjskim, mutageny redukowały liczbę wschodzących roślin.

Niższą efektywność stymulacyjną lasera uzyskano dla wysokości roślin. Efekt stymulacji był najwyższy tuż po wschodach i obniżał się w miarę wzrostu i rozwoju roślin. W badaniach nad bobikiem [17] po działaniu lasera obserwowano wzrost wysokości roślin mierzony w fazie do pierwszego strąka i wg autora naświetlanie było najbardziej efektywne w wczesnych fazach rozwoju rośliny. Stymulujący wpływ lasera na wysokość roślin wykazano także u łubinu białego [19], przy czym uzyskano również wzrost suchej masy części nadziemnej. Pomiarzy czterotygodniowych siewek kukurydzy po działaniu lasera wykazały wzrost wysokości roślin u dwóch form odpowiednio o 24 i 11% [11]. Chemomutageny

redukowały wysokość roślin co również obserwowano u łubinu andyjskiego po traktowaniu nasion zróżnicowanymi dawkami promieni gamma [21].

Jednym z zasadniczych zagadnień w ulepszaniu łubinu andyjskiego jest uzyskanie form o poprawionej wczesności, wcześniej zakwitających [21]. W przedstawionym eksperymencie światło lasera wpływało na wcześniejsze kwitnienie roślin w porównaniu z kombinacją kontrolną. Z badań innych autorów [5] wynika, że naświetlanie nasion laserem powoduje oprócz zwyżki plon również znaczne skrócenie okresu wegetacji. Trzykrotne naświetlanie laserem nasion łubinu białego powodowało przyśpieszenia kwitnienia o 8 dni [18].

Sz szczególnie efektywny wpływ lasera obserwowano w odniesieniu do parametrów struktury plonu. Wzrost liczby strąków i nasion z rośliny może mieć związek z lepszym kielkowaniem, poprawionym wschodami a przede wszystkim z większym wigorem w trakcie wzrostu i rozwoju roślin. Według Podleśnego [17] wpływ na zwyżkę plonu bobiku po działaniu lasera oprócz mniejszych ubytków z lanu miał wzrost liczby strąków na roślinie. Efekt ten obserwowano również w niniejszej pracy. Ponadto obserwowano zróżnicowaną zdolność plonowania w obrębie rośliny. Światło lasera było wyraźnie bardziej efektywne w odniesieniu do pędu głównego aniżeli pędów bocznych. Między innymi może to mieć związek z malejącym efektem biostymulacji w miarę rozwoju roślin a pojawienie się strąków i nasion na pędzie głównym następuje wcześniej aniżeli na długo rozwijających się pędach bocznych.

WNIOSKI

1. Związki mutagenne indukowały uszkodzenia somatyczne roślin pokolenia M₁ łubinu andyjskiego wyrażone redukcją wschodów, obniżeniem wysokości roślin, opóźnieniem kwitnienia, zmniejszeniem liczby pędów nasionami oraz niższą zdolnością plonowania.
2. W przeciwieństwie do chemomutagenów światło lasera wywołało efekt biostymulacji, której wartość zależna była od czasu naświetlania oraz rodzaju badanej cechy.
3. W porównaniu z kombinacją kontrolną światło lasera miało wpływ na wzrost liczby wschodzących roślin, przyśpieszenie rozpoczęcia kwitnienia, wzrost liczby pędów z nasionami oraz wyższą liczbę strąków i nasion z rośliny co potwierdza przydatność lasera dla przedsięwziętego traktowania nasion łubinu andyjskiego.
4. Efektywność światła lasera wyrażona liczbą strąków i nasion była wyższa dla pędu głównego rośliny aniżeli pędów bocznych.

PIŚMIENNICTWO

1. Adamska E., Maluszyński M.: The stimulation of growth in shoots of *Nicotiana rustica* and *Nicotiana tabacum* after N-nitroso-N-methylurea treatment. *Acta Biologica* 12, 175-184, 1983.
2. Baer von D., Lamperti L., Bear von E., Vth D., Haushagen U., Mujica A., Bartholdi T., Alvarez M., Trugo L.C.: Potential of *L.mutabilis* in comparison with *L.albus* in South Chile and in the Andean Highlands. Abstracts VII Int. Lupin Conf., April, 18-23, Evora, Portugal, Theme: 3 - no.1, 26-32, 1993.
3. Brücher H.: 1989. 2. *Lupinus mutabilis* Sweet, in: Useful Plants of Neotropical Origin and Their Wild Relatives, Springer-Verlag, 80-84, 1989.
4. Drozd D., Szajsner H., Laszkiewicz E.: The utilization of laser biostimulation in cultivation of spring wheat (in Polish). *Biul. Inst. Hod. i Aklim. Roślin* 211, 85-90, 1999.
5. Gieroba J., Koper R., Matyka S.: The influence of pre-sowing laser biostimulation of maize seeds on the crop and nutritive value of corn. 45-th Australian Cereal Chemistry Conference, Adelaide 2, 30-33, 1995.
6. Gustafsson A., Gadd I.: Mutations and crops improvement. II. The genus *Lupinus* (*Leguminosae*), *Hereditas* 53, 15-39, 1965
7. Hackbarth J.: Die Gene der Lupinenarten. I. Gelbe lupinen (*Lupinus luteus* L.). *Z. Pflanzenzüchtung* 1, 37, 1-26, 1957.
8. Koper R., Wójcik S., Kornas-Czuczwar B., Bojarska U.: Effect of laser exposure of seeds the yield and chemical composition of sugar beet roots. *Intern. Agrophysics* 10 (2), 103-108, 1996.
9. Koper R.: Stymulacja laserowa nasion pomidorów. "Owoce, Warzywa, Kwiaty", Nr 21, 16, 1997.
10. Lipski S., Koper R.: Emergence, early growth and development of maize under optimal and chilling conditions as effect by pre-sowing laser irradiation of seeds. *Mat. Międzynarodowego Symp. Cost - 814, Radzików*, 22, 1997.
11. Lipski S., Koper R.: Emergence, early growth and development of maize in similar to natural and chilling conditions affected by pre-sowing laser irradiation. *Luxemburg: Office for Official Publication of the European Comunités*, 231-235, 1998
12. Micke A., Święcicki W.: Induced mutations in lupine. *Proceedings 5th Int. Lupin Conf.*, Poznań, July 88, 110-127, 1988.
13. Necas J.: Stimulating and inhibiting effects of mutagens on the growth of algae on solid medium. *Arch. Hydrobiol.*, 39: 52-67, 1970.
14. Olchowiak G., Dziamba SZ.: Wpływ promieniowania mikrofalowego na elementy struktury plonu gryki. *Uszlachetnianie Materiałów Nasiennych. Materiały konferencyjne, Olsztyn-Kortowo*, 283-287, 1994.
15. Plarre W.: Mutation breeding, *Proc. 6th Int. Lupin Conf.*, Temico-Pucon, Chille, Nov 1990, 340-349, 1991
16. Plesnik S.: The evaluation of some quantitative traits in M₁ generation in soybean after laser emission and ethyleneimine. *Genetica et Biologia Molecularis*, 24, 105-113, 1993.

17. Podleśny J.: Wpływ przedsiewnego traktowania nasion światłem laserowym na kształtowanie cech morfologicznych i plonowanie bobiku. Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych, 446, 435-439, 1997.
18. Podleśny J., Koper R.: Efektywność stosowania przedsiewnej obróbki nasion łubinu białego światłem laserowym. Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych. 454, 255-262, 1998.
19. Podleśny J., Podleśna A., Koper R.: Chilling tolerance of white lupin in early developmental phases - the effect of seed pre-sowing irradiation by laser. Luxemburg: Office for Official Publications of the European Communities, 236-240, 1998.
20. Rybiński W., Patyna H., Przewoźny T.: Mutagenic effect of laser and chemical mutagens in barley (*Hordeum vulgare* L.). Genetica Polonica, 34, 337-343, 1993.
21. Sawicka E.J.: Indukowane mutacje u łubinu andyjskiego, Prace Ogródu Botanicznego PAN, Zeszyt 3, 1-101, 1993.
22. Sawicki B.: Plonowanie niektórych traw pod wpływem naświetlania materiału siewnego laserem helowo-neonowym. Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska, L(9), 59-63, 1995.
23. Szyrmer J., Klimont K.: Wpływ światła lasera na jakość nasion fasoli (*Phaseolus vulgaris* L.). Biul. Inst. Hod. i Aklim. Roślin, 210, 165-168, 1999.

Podziękowania. Panu Prof. Ludwikowi Pokorze oraz zespołowi Centrum Techniki Laserowej w Warszawie wyrażam podziękowanie za umożliwienie korzystania z aparatury laserowej.

THE USE OF HELIUM-NEON LASER AND THEIR BIOSTIMULATION EFFECT IN STUDY ON ANDEAN LUPIN

W. Rybiński, S. Stawiński¹

Institute of Plant Genetics, Polish Academy of Sciences, Strzeszyńska 34, 60-479 Poznań
Plants Breeding in Smolice, Department in Przebędowie, 64-620 Murowana Goślina

Summary: The paper present the influence of laser light and two chemomutagens on variability of traits in andean lupin (*Lupinus mutabilis* Sweet). For seed irradiation the helium-neon laser with wavelength 632 nm and power density - 1 mW/cm² was chosen. The value of morphological and yield contributing traits were measured in field conditions during the vegetation period and after harvesting of plants. As opposed to chemomutagens, the laser light induced biostimulation effect. This effect depended on laser exposure time and kind of analyzed trait. As compared to control combination, the biostimulation effect was expressed by increasing od plants emergence, early flowering, greater number of branches with seeds, increasing of pods number and seeds per plant. The laser light was more effective for pods and seeds number per main stem as compared to this traits of lateral branches.

Keywords: andean lupin, biostimulation, chemomutagens, laser, variability of traits, yield structure.