Medyczne Zagłębie Nauki 2026

Regeneracja Cannabis sativa L. w kulturach in vitro

Iga Kordeusz[1], Julia Wilk[1], Zuzanna Dudek[1], Klaudia Gilowska[1], Wiktoria Paculа[1], Radosław Pudełko[1], Anna Szczotka[1], dr n. med. Sabina Gałka[2]

[1]Studenckie Koło Naukowe przy Zakładzie Biotechnologii i Inżynierii Genetycznej,
[2]Zakład Biotechnologii i Inżynierii Genetycznej, Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu,
Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. Jedności 8, 41-200 Sosnowiec
Opiekun Pracy: dr n. med. Sabina Gałka

Konopie siewne (Cannabis sativa) *są bogatym surowcem roślinnym o dużym znaczeniu farmaceutycznym i przemysłowym, dlatego opracowanie efektywnych metod regeneracji tych roślin w kulturach* ***in vitro*** *ma istotne znaczenie w badaniach biotechnologicznych. Kluczową rolę w procesie organogenezy odgrywają m.in. regulatory wzrostu roślin, które kontrolują podziały komórkowe oraz różnicowanie tkanek [1].*

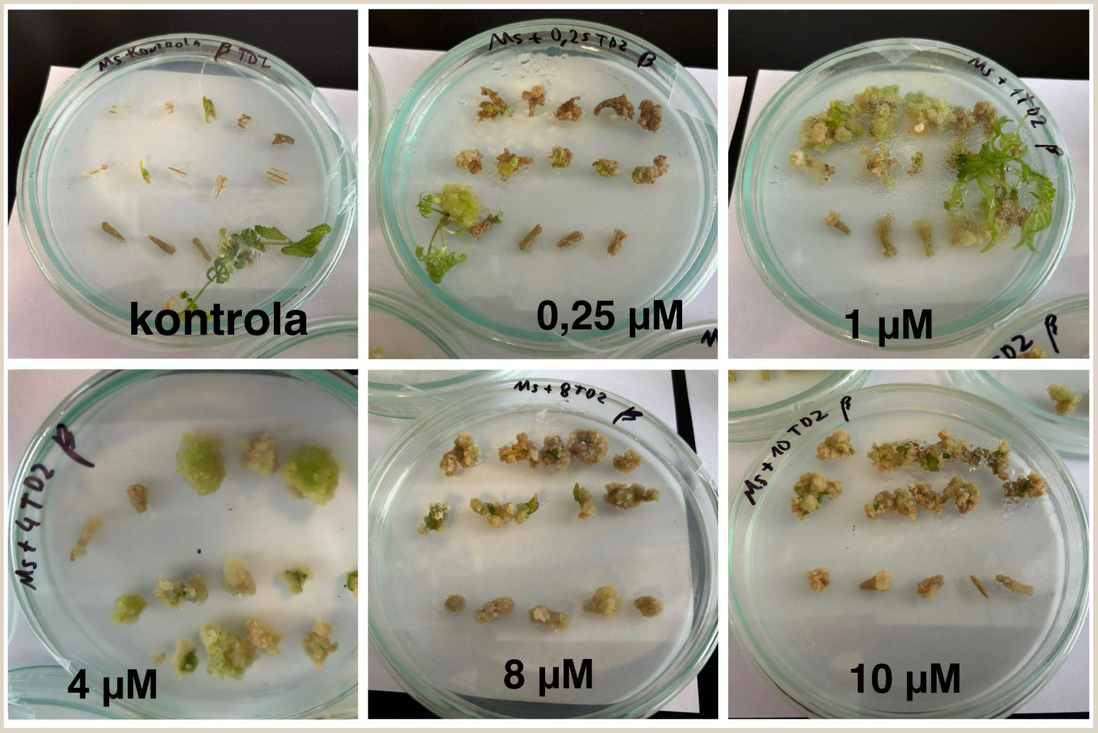
Celem *niniejszego badania była ocena wpływu cytokininy (tidiazuronu,* TDZ*) i auksyny (kwasu 2,4 dichlorofenoksyoctowego,* 2,4D*) na inicjację morfogenezy pędów, korzeni i kalusa z eksplantatów liściowych i pędowych konopi.*

MATERIAŁY I METODY

Materiałem badanym były nasiona oraz eksplantaty liściowe i pędowe Konopi siewnych, odmiany Białobrzeska.

Na wstępnym etapie doświadczenia nasiona konopi poddano sterylizacji w etanolu oraz podchlorynie sodu, a następnie wysiano je na pożywkę ½ MS i hodowano w fotoperiodzie 16/8h w warunkach *in vitro*. Po upływie kilku tygodni z siewek pozyskano fragmenty liści i pędów o rozmiarach około 0,5 cm i umieszczono je po 5 sztuk na pożywkach zawierających TDZ (0,25-10µM) (Ryc. 1) i 2,4D (0,25-3µM) (Ryc.2) oraz kontrolnych bez hormonów (Ryc. 1,2). Inkubację utrzymano w fotoperiodzie 16/8h oraz w temperaturze 25 stopni C. Po 34 dniach hodowli wykonano ocenę liczby eksplantatów, na których wyrosły organy przybyszowe oraz zważono świeżą masę powstałego kalusa.

Tidiazuron *(TDZ; N-fenylo-N'-1,2,3-tidiazol-5-ylomocznik) to syntetyczny regulator wzrostu roślin z grupy difenylomocznikow. Wykazuje aktywność cytokininopodobną, mimo że nie posiada pierścienia purynowego typowego dla klasycznych cytokinin. W kulturach in vitro stosowany jest głównie do indukcji organogenezy pędów oraz embriogenezy somatycznej. Jego działanie zależy m.in. od stężenia regulatora oraz warunków środowiska [2,3].*



Ryc.1 *Organogeneza Cannabis sativa po 34 dniach hodowli in vitro na pożywkach MS z TDZ oraz kontrolnej bez hormonu*

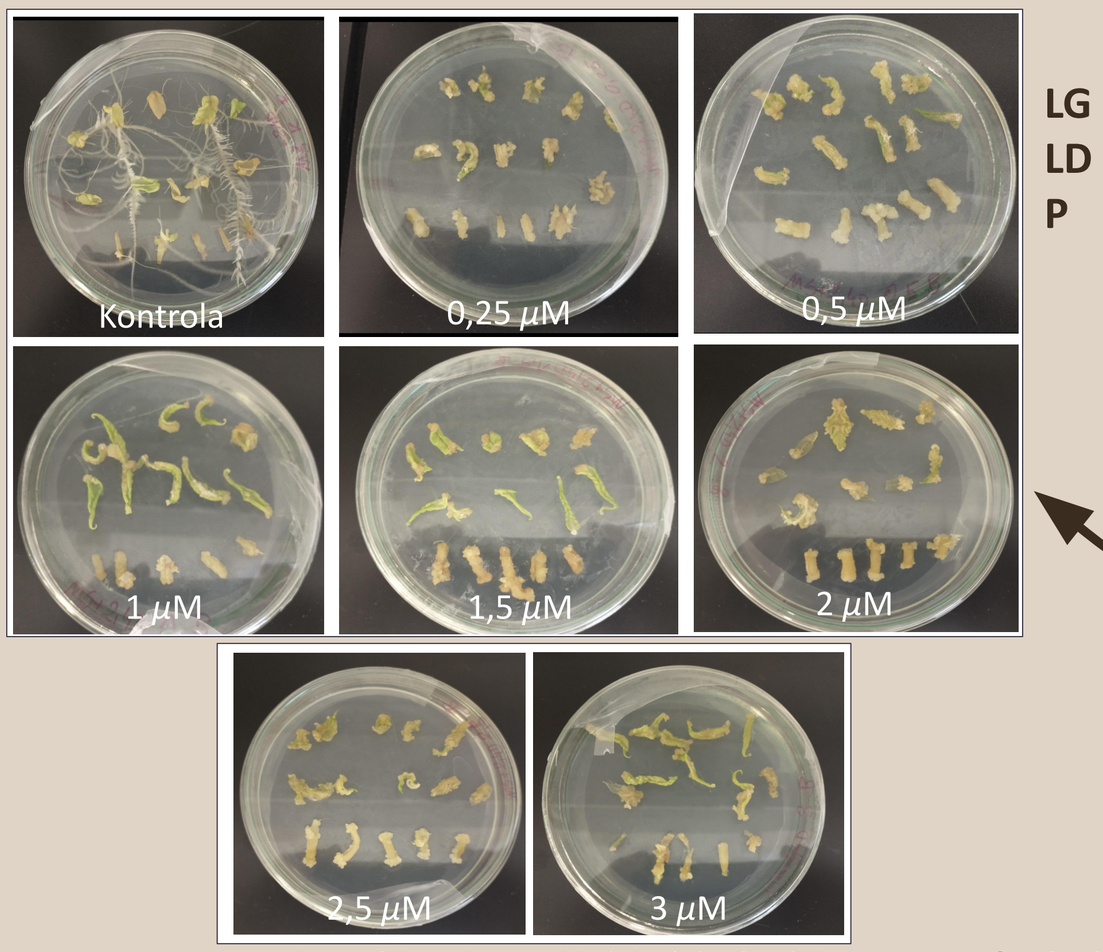
WYNIKI TDZ

Kalusogeneza: *wszystkie eksplantaty (zarówno liściowe, jak i pędowe) wytworzyły kalus przy obecności TDZ, a największy przyrost świeżej masy (1,086 g/eksplantat) uzyskano na liściach wyłożonych górną stroną blaszki liściowej do góry - LG przy 1 µM TDZ.*

Organogeneza pędów: *najwyższą efektywność odnotowano przy 0,25 µM TDZ (40% eksplantatów pędowych - P), natomiast przy stężeniach ≥2 µM nie obserwowano wzrostu pędów.*

Ryzogeneza: *nie stwierdzono indukcji korzeni.*

Kwas 2,4 dichlorofenoksyoctowy *(2,4D) jest to syntetyczna auksyna, która w hodowli in vitro stymuluje podziały komórkowe, proliferację niezróżnicowanych komórek, prowadząc do powstania kalusa oraz niezbędna jest do inicjacji i rozwoju zarodków somatycznych [4].*



Ryc.2 *Organogeneza Cannabis sativa po 34 dniach hodowli in vitro na pożywkach MS z 2,4D oraz kontrolnej bez hormonu*

WYNIKI 2,4D

Kalusogeneza: *zaobserwowano wytworzenie kalusa przy zastosowanych wszystkich stężeniach 2,4D, na wszystkich eksplantatach (zarówno liściowych, jak i pędowych), a największy jego przyrost (0,4124 g/ eksplantat) odnotowano na liściach wyłożonych górną stroną blaszki liściowej do góry -LG na pożywce z 2,5 µM 2,4D.*

Organogeneza pędów: *nie zaobserwowano wzrostu pędów przy żadnym stężeniu.*

Ryzogeneza: *Wzrost korzeni zaobserwowano jedynie na pożywce kontrolnej bez hormonów u 100% LG oraz u 60% na liściach wyłożonych dolną stroną blaszki liściowej do góry - LD i na eksplantatach pędowych.*

WNIOSKI: *Podsumowując uzyskane wyniki wykazano, że zastosowane oba regulatory wzrostu w istotny sposób wpływały na kierunek morfogenezy* ***Cannabis sativa*** *w kulturach* ***in vitro.***

TDZ *silniej indukował wzrost kalusa oraz regenerację pędów niż* ***2,4-D*** *, który stymulował tylko kalusogenezę.*

Uzyskane wyniki potwierdzają, że odpowiedni dobór regulatorów wzrostu umożliwia kontrolowanie przebiegu procesów regeneracyjnych w kulturach tkankowych konopi.siewnych przez co możliwe jest uzyskanie surowca konopnego z kultur in vitro.

Literatura:

[1] A. S. Monthony, S. R. Page, M. Hesami, i A. M. P. Jones, „The Past, Present and Future of Cannabis sativa Tissue Culture”, *Plants*, t. 10, nr 1, s. 185, sty. 2021, doi: 10.3390/plants10010185.

[2] L. A. E. Erland, R. T. Giebelhaus, J. M. R. Victor, S. J. Murch, i P. K. Saxena, „The Morphoregulatory Role of Thidiazuron: Metabolomics-Guided Hypothesis Generation for Mechanisms of Activity”, *Biomolecules*, t. 10, nr 9, s. 1253, sie. 2020, doi:10.3390/biom10091253.

[3] A. Catalano *et al.*, „Thidiazuron: New Trends and Future Perspectives to Fight Xylella fastidiosa in Olive Trees”, *Antibiotics*, t. 11, nr 7, lip. 2022, doi: 10.3390/antibiotics11070947.

[4] J. P. de Morais Oliveira, A. J. da Silva, M. N. Catrinck, i W. R. Clarindo, „Embryonic abnormalities and genotoxicity induced by 2,4-dichlorophenoxyacetic acid during indirect somatic embryogenesis in Coffea”, *Sci. Rep.*, t. 13, nr 1, s. 9689, cze. 2023, doi: 10.1038/s41598-023-36879-7.

Pracę sfinansowano ze środków Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach BNW-2-067/N/5/I