

WPŁYW JODU, KOBALTU, MIEDZI ORAZ MOLIBDENU NA WZROST I RÓŻNICOWANIE TKANKI KALUSOWEJ *Triticum aestivum* L.

Roman Prażak

Instytut Nauk Rolniczych w Zamościu, Akademia Rolnicza w Lublinie

Wstęp

Kultury kalusowe są wykorzystywane dla zwiększenia zmienności somaklonalnej roślin zbożowych [CHENG i in. 1998]. Do indukcji embriogeniczności tych kultur stosowane są w praktyce laboratoryjnej różnorodne czynniki stresowe [MALEPSZY i in. 1989]. Takimi czynnikami mogą być pierwiastki, które w ilościach śladowych pełnią rolę mikroelementów, w tym jod, kobalt, miedź i molibden.

Badania miały na celu określenie wpływu wysokich koncentracji wybranych mikroelementów na tkankę kalusową *Triticum aestivum* L.

Materiały i metodyka

Tkankę kalusową uzyskano z eksplantatów liściowych pszenic odmian Begra i Panda, na pożywce MS [MURASHIGE, SKOOG 1962], uzupełnionej dodatkowo 2 mg 2,4-D·dm⁻³ (2,4-D – kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy). Kultury eksplantatów liściowych prowadzono w fitotronie na słabym świetle (3 W·m⁻²), przy 16 godz. fotoperiodzie i temperaturze 24°C. Kalusy uformowane po 4 tygodniach na eksplantatach liściowych, przeniesiono na pożywkę MS z dodatkiem 2 mg 2,4-D·dm⁻³ i różnych koncentracji jodu, kobaltu, miedzi i molibdenu – standardowych dla pożywki MS oraz zwiększonych 100- i 1000-krotnie. Doświadczenia wykonano w trzech powtórzeniach, każdorazowo wykładając po 75 kalusów w każdej kombinacji. Po trzech pasażach, przeprowadzanych co cztery tygodnie, kalusy zważono oraz wykonano ich analizę mikroskopową dla określenia liczby powstałych struktur merystematycznych (tab. 1). Regenerację korzeni oraz pędów przeprowadzono początkowo na pożywce MS z dodatkiem 0,5 mg NAA·dm⁻³ (NAA – kwas α -naftalenooctowy) i kinetyny (6-furfuryloaminopuryna) w ilości 0,5 mg·dm⁻³, a następnie na pożywce MS bez regulatorów wzrostu, zwiększając oświetlenie do 6 W·m⁻². Po dwóch pasażach określono liczbę wytworzonych korzeni i pędów przypadających na jeden kalus (tab. 1). Wyniki opracowano statystycznie za pomocą testu Tukeya.

Tabela 1; Table 1

Wpływ zwiększonych zawartości niektórych mikroelementów w pożywce MS na wzrost i różnicowanie tkanki kalusowej *Triticum aestivum* L. (wartości średnie cech biometrycznych przypadające na 1 kalus)

Influence of increased content of some micronutrients in MS medium on growth and differentiation of *Triticum aestivum* L. callus tissue (mean values of biometrical features per 1 callus)

Lp. No.	Cecha biometryczna Biometrical feature	Odmiana Cultivar	Stężenie mikroelementów; Concentration of micronutrients											
			kontrola** control**	J		Co		Cu		Mo				
				100×	1000×	100×	1000×	100×	1000×	100×	1000×			
1.	Świeża masa tkanki kalusowej; Fresh matter of callus tissue (g) (Przyrost; Increment (%))	Begra Panda	0,315 (304)	0,115* (161)	0,258 (285)	0,220 (349)	0,239 (312)	0,169* (276)	0,204 (278)	0,163* (167)	0,109* (180)	0,156* (108)	0,109* (180)	0,142* (224)
			0,298 (231)	0,111* (203)	0,206 (178)	0,326 (303)	0,153* (259)	0,156* (108)	0,109* (180)	0,156* (108)	0,109* (180)	0,142* (224)	0,156* (108)	0,109* (180)
2.	Liczba centr merystematycznych; Number of meristematic centres	Begra Panda	12,56	1,28*	5,58*	5,16*	6,26*	2,18*	5,43*	0,00	0,00	2,18*	5,43*	0,00
			15,11	0,00	8,42*	9,14*	1,16*	2,84*	0,00	0,00	0,00	0,00	2,84*	5,43*
3.	Liczba korzeni Number of roots	Begra Panda	18,24	3,17*	5,51*	19,53	4,29*	5,08*	3,16*	0,00	0,00	5,08*	3,16*	0,00
			14,36	0,00	6,33*	15,11	2,85*	6,24*	0,00	0,00	0,00	0,00	6,24*	3,16*
4.	Liczba pędów Number of shoots	Begra Panda	3,61	0,00	0,00	0,00	8,16*	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
			0,18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

* - wynik istotnie różny od kontroli; result significantly different in relation to the control

** - standardowe stężenia J, Co, Cu i Mo w pożywce MS [MURASHIGE, SKOOG 1962]; standard content of J, Co, Cu i Mo in MS medium [MURASHIGE, SKOOG 1962]

Wyniki i dyskusja

Generalnie mikroelementy, tj. J, Co, Cu i Mo, w wysokich koncentracjach (100- i 1000-krotnie wyższych od ich koncentracji fizjologicznych) powodowały słabszy od kontroli przyrost świeżej masy kalusa oraz hamowały proces różnicowania się tej tkanki, ograniczając liczbę tworzących się centr merystematycznych. Wyjątek stanowiły kombinacje o zwiększonej zawartości miedzi (100×) i kobaltu (1000×), w których odnotowano wyższy od kontroli przyrost świeżej masy tkanki kalusowej obu badanych odmian pszenicy (tab. 1).

Według KABATY-PENDIAS i PENDIAS [1999] rośliny są stosunkowo odporne na zatrucie miedzią, jednak nadmierne jej ilości powodują różne zaburzenia w przebiegu procesów metabolicznych i fizjologicznych. Wiadomo, że miedź jest niezbędnym składnikiem roślin do ich normalnego rozwoju i wzrostu; m.in. wchodzi ona w skład różnych enzymów i białek, które biorą udział w specyficznych procesach metabolicznych. Nadmiar miedzi uszkadza głównie DNA oraz ogranicza proces fotosyntezy [MAKSYMIEC 1997]. W badaniach CHAKRAVARTY i SRIVASTAVA [1992], dodatek 0,5 mmol Cu·dm⁻³ i 1,0 mmol Cu·dm⁻³ do pożywki MS powodował prawie 7-krotne zmniejszenie przyrostu świeżej i suchej masy tkanki kalusowej słonecznika po 30 dniach kultury *in vitro*.

Jak dotychczas, nie wykazano jednoznacznie niezbędności kobaltu dla roślin wyższych niemotylkowych, chociaż obserwuje się czasami jego korzystny wpływ na ich rozwój. Nadmiar kobaltu (szkodliwe stężenie dla roślin zbożowych 10–20 mg Co·kg⁻¹) ogranicza biochemiczne funkcje żelaza i manganu. Kobalt wchodzi w strukturę porfiryn budujących koenzym kobalaminy, który uczestniczy bezpośrednio w procesach wiązania N₂ [KABATA-PENDIAS, PENDIAS 1999].

W warunkach nadmiaru mikroelementów obserwowano zmianę konsystencji tkanki kalusowej ze zbitą na luźną. Zmiana ta była spowodowana m.in. uszkodzeniem błon i ścian komórkowych. Na powierzchni kalusa obserwowano nekrozy, które były szczególnie liczne w kombinacjach z wysokimi stężeniami jodu i molibdenu. Według KABATY-PENDIAS i PENDIAS [1999] jod w niskich stężeniach w pożywce wodnej (0,1 mg·dm⁻³) działa stymulująco na rośliny, w stężeniach wyższych (tj. ponad 0,5 mg·dm⁻³) może oddziaływać na nie szkodliwie. Rośliny są na ogół odporne na duże stężenia molibdenu w tkankach, przy czym do najbardziej wrażliwych należą zboża. Objawy toksyczności molibdenu u traw występują przy stężeniu 3 mg Mo·kg⁻¹ s.m. [KOPCEWICZ, LEWAK 1998; KABATA-PENDIAS, PENDIAS 1999].

Wysokie stężenia mikroelementów wpływały najczęściej negatywnie na regenerację korzeni i pędów (tab. 1). Wyjątek stanowiła kombinacja z 1000-krotnie podwyższoną zawartością kobaltu, w której odnotowano większą niż w kontroli liczbę korzeni obu badanych pszenic oraz kombinacja ze 100-krotnie zwiększoną zawartością miedzi o większej niż w kontroli liczbie zregenerowanych pędów u odmiany Begra (tab. 1). Wpływ miedzi na regenerację pędów wynika prawdopodobnie z jej funkcji jako ważnego składnika oksydazy cytochromowej, niezbędnej do syntezy chlorofilu [KOPCEWICZ, LEWAK 1998]. W warunkach niedoboru miedzi następuje zmniejszenie aktywności fotosyntetycznej roślin [WOJCIESKA-WYSKUPAJ-TYS, GŁĄŻEWSKI 1998].

Literatura

CHAKRAVARTY B., SRIVASTAVA S. 1992. *Toxicity of some heavy metals in vivo and in vitro in Helianthus annuus*. Mutation Research 283: 287–294.

CHENG X.Y., GAO M.W., LIANG Z.Q., LIU G.Z. 1998. *Somaclonal variation in winter wheat (*Triticum aestivum* L.): frequency, occurrence and inheritance*. J. Appl. Genet. 39(1): 59–72.

KABATA-PENDIAS A., PENDIAS H. 1999. *Biogeochemia pierwiastków śladowych*. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa: 398 ss.

KOPCEWICZ J., LEWAK S. 1998. *Podstawy fizjologii roślin*. PWN Warszawa: 725 ss.

MAKSYMIEC W. 1997. *Effect of copper on cellular processes in higher plants*, Photosynthetica 34: 321–342.

MALEPSZY S., NIEMIROWICZ-SZCZYT K., PRZYBECKI Z. 1989. *Biotechnologia w genetyce i hodowli roślin*. PWN Warszawa: 283 ss.

MURASHIGE T., SKOOG F. 1962. *A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures*. Physiol. Plant. 15: 473–497.

WOJCIESKA-WYSKUPAJTYS U., GŁĄZEWSKI S. 1998. *Stres miedziowy a przebieg wybranych procesów fizjologicznych u pszenżyta*, w: *Ekofizjologiczne aspekty reakcji roślin na działanie czynników stresowych*. Grzesiak S., Skoczowski A., Miszański Z. (red.), ZFR PAN, Kraków: 121–124.

Słowa kluczowe: jod, kobalt, miedź, molibden, tkanka kalusowa, *Triticum aestivum* L.

Streszczenie

Badano wpływ zwiększonych 100- i 1000-krotnie zawartości jodu, kobaltu, miedzi i molibdenu w pożywce MS według Murashige i Skooga, na wzrost i różnicowanie tkanki kalusowej *Triticum aestivum* L. odmian Begra i Panda. Kalus uzyskano z eksplantatów liściowych na pożywce indukcyjnej MS z dodatkiem 2 mg 2,4-D·dm⁻³ (2,4-D – kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy). Następnie namnażano go na pożywkach MS + 2 mg 2,4-D·dm⁻³ o standardowej i zwiększonej zawartości wybranych mikroelementów. Regenerację roślin przeprowadzono na pożywce MS z dodatkiem 0,5 mg NAA·dm⁻³ (NAA – kwas α -naftalenoctowy) i kinetyny (6-furfuryloaminopuryna) w ilości 0,5 mg·dm⁻³ oraz na pożywce MS bez regulatorów wzrostu. Wysokie koncentracje mikroelementów powodowały najczęściej słabszy od kontroli przyrost świeżej masy kalusa oraz hamowały proces różnicowania się tej tkanki, ograniczając liczbę tworzących się centr merystematycznych oraz regenerację korzeni i pędów. Wyjątek stanowiły kombinacje o zwiększonej zawartości kobaltu (1000 \times) i miedzi (100 \times), w których odnotowano wyższy od kontroli przyrost świeżej masy kalusa. Uszkodzenie błon i ścian komórkowych, spowodowane przez nadmiar mikroelementów, przyczyniało się do zmiany konsystencji tkanki kalusowej ze zbitej na bardziej luźną. Na powierzchni kalusa obserwowano nekrozy. W kombinacji o 1000-krotnie zwiększonej zawartości kobaltu zregenerowało najwięcej korzeni obu odmian pszenic. Najwięcej pędów wytworzyło się w tkance kalusowej pszenicy Begra w kombinacji o zwięk-

szanej 100-krotnie zawartości miedzi. Poza tym pędy pszenic Begra i Panda regenerowały również w kontroli.

INFLUENCE OF IODINE, COBALT, COPPER AND MOLYBDENUM ON GROWTH AND DIFFERENTIATION OF *Triticum aestivum* L. CALLUS TISSUE

Roman Prażak

Institute of Agricultural Sciences in Zamość, Agricultural University, Lublin

Key words: cobalt, copper, iodine, molybdenum, callus tissue, *Triticum aestivum* L.

Summary

The influence of increased 100 and 1000 times contents of iodine, cobalt, copper and molybdenum in the MS (Murashige, Skoog) medium on growth and differentiation of *Triticum aestivum* L. callus tissues, Begra and Panda cultivars, was studied. Callus tissue from leaf explants was obtained on induction medium – MS + 2 mg 2,4-D·dm⁻³ (2,4-D – 2,4 dichlorophenoxyacetic acid). Next step was to micropagate the callus tissue on standard MS medium and on MS medium with increased contents of some micronutrients. Plant regeneration was performed on MS media supplemented with 0.5 mg NAA·dm⁻³ (NAA – naphtalene-acetic acid) and 0.5 mg kinetin·dm⁻³, and on medium without growth regulators. Generally, the high concentrations of micronutrients caused weaker than control increment of callus fresh matter and inhibited the process of tissue differentiation by inhibition of meristematic centre number as well as root and shoot regeneration. High cobalt (1000 times) and copper (100 times) content combinations, resulting in the higher than control increment of callus fresh matter, were the exceptions. Damages of cell membranes and walls caused by the increase of micronutrient concentration, contributed to the change of callus tissue consistency from compact to loose. Necrosis symptoms were observed on the callus surface. At combination with 1000 times increased content of cobalt the highest number of roots in both wheat cultivars were observed. The highest shoot number formed the callus tissue of Begra cultivar in combination with 100 times increased copper content. Besides, the shoots of Begra and Panda cultivars regenerated also in control treatment.

Dr Roman Prażak

Instytut Nauk Rolniczych w Zamościu

Akademia Rolnicza

ul. Szczepkowska 102

22-400 ZAMOŚĆ