

ANDRZEJ WOJCIECHOWSKI, JANETTA NIEMANN, BŁAŻEJ SPRINGER,
KATARZYNA CICHOCKA

Katedra Genetyki i Hodowli Roślin
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

SELEKCJA ROŚLIN TOLERUJĄCYCH ZWIĘKSZONĄ ZAWARTOŚĆ SOLI METALI CIĘŻKICH (Cu I Cd) W PODŁOŻU U WYBRANYCH ODMIAN RZEPAKU

SELECTION OF PLANTS TOLERANT TO HIGHER CONTENT
OF HEAVY METALS SALTS (Cu AND Cd) IN SUBSTRATE
IN CHOSEN CULTIVARS OF OILSEED RAPE

Streszczenie. Celem pracy było wyselekcjonowanie w warunkach *in vitro* roślin rzepaku ozimego przydatnych do uprawy na glebach o zwiększonej koncentracji metali ciężkich oraz oszacowanie, w jakim stopniu kwas abscysynowy (ABA) oraz stan fizjologiczny testowanych nasion mogą wpływać na odporność na sole metali ciężkich. Materiał badawczy stanowiły odmiany rzepaku ozimego: 'Górczański', 'Kana' i 'Lisek'. Nasiona wykładano na pożywkę Murashigego i Skooga (MS) oraz na pożywkę MS z dodatkiem siarczanu miedzi w stężeniu 0,5 μM oraz soli kadmu w stężeniu 5,0 μM w różnym stanie fizjologicznym: nasiona suche, moczone przez 24, 48, 72 h w wodzie, moczone przez 24, 48, 72 h w wodzie z dodatkiem ABA. Odporne rośliny przenoszono do doniczek z ziemią i dalszą hodowlę prowadzono w warunkach szklarniowych. Sól kadmu okazała się bardziej toksyczna aniżeli sól miedzi. Stopień wrażliwości na zastosowane w eksperymencie sole zależał od badanego genotypu. Stan fizjologiczny wykładanych nasion testowanych odmian rzepaku ozimego miał istotne znaczenie w selekcji roślin odpornych. Najwięcej roślin odpornych otrzymano na pożywce z CuSO_4 z nasion uprzednio nie moczonych w wodzie odmiany 'Górczański'. Kwas abscysynowy spowodował zwiększoną odporność siewek u odmiany 'Górczański' na CuSO_4 . W przypadku selekcji odmian rzepaku ozimego na pożywce z dodatkiem siarczanu kadmu ABA nie wpłynął na zwiększenie odporności roślin na tę sól.

Słowa kluczowe: selekcja *in vitro*, odporność na stres, fitoremediacja

Wstęp

Intensywny rozwój przemysłu, szczególnie energetycznego, chemicznego i hutniczego, emitującego znaczne ilości pyłowych i gazowych zanieczyszczeń, w tym metali ciężkich, spowodował w niektórych rejonach kraju znaczną degradację gleb. W Polsce problem ten dotyczy około 3% gleb użytkowanych rolniczo, skoncentrowanych lokalnie wokół hut lub elektrociepłowni (KABATA-PENDIAS i PENDIAS 1999). Metale ciężkie zajmują szczególną pozycję wśród zanieczyszczeń środowiskowych, ponieważ nie podlegają biodegradacji i łatwo kumulują się w środowisku. Postępujący proces degradacji środowiska naturalnego spowodowany wszechstronną działalnością człowieka skłania do podejmowania działań zapobiegających dalszemu zanieczyszczaniu środowiska i remediacji ekosystemów już zanieczyszczonych.

Poprawę jakości gleb skażonych metalami ciężkimi można uzyskać, stosując chemiczne i fizyczno-chemiczne technologie pozwalające usunąć zanieczyszczenia, co w konsekwencji eliminuje z gleby życie biologiczne. Z tego względu wdrażane są metody znacznie łagodniej wpływające na zmiany aktywności biologicznej gleb. W metodach tych, określanych mianem fitoremediacji, wykorzystywane są rośliny do usuwania bądź stabilizowania zanieczyszczeń (JASIEWICZ i ANTKIEWICZ 2000). Rośliny stosowane w procesie fitoekstrakcji powinny się charakteryzować dużą tolerancją na silne stężenia metali ciężkich oraz znacznym stopniem ich akumulacji, szczególnie w organach nadziemnych. Jednocześnie muszą to być rośliny, które szybko rosną w warunkach polowych i wykazują duży przyrost biomasy w okresie wegetacji. Sukces fitoremediacji zależy przede wszystkim od wyboru odpowiedniego gatunku rośliny. Na terenach silnie skażonych metalami ciężkimi wskazana jest uprawa roślin włóknistych (lnu, konopi), rzepaku, a także wikliny. Obecnie prowadzone są stałe poszukiwania gatunków roślin fitostabilizujących metale ciężkie (KONDIŹSKI i IN. 1996).

Celem niniejszej pracy była ocena wybranych odmian rzepaku ozimego pod względem ich tolerancji na zwiększone zasolenie podłoża solami metali ciężkich i ewentualna selekcja roślin znoszących zwiększoną zawartość soli w glebie. Również znajomość reakcji poszczególnych odmian na niekorzystne czynniki środowiska, tj. suszę, nadmiar wody lub metali ciężkich, pozwoli na odpowiednią selekcję roślin odpornych.

Material i metody

W przeprowadzonym eksperymencie użyto trzech odmian rzepaku ozimego: 'Górczański', 'Kana' i 'Lisek'. Odmiana 'Górczański' wyhodowana w latach pięćdziesiątych XX wieku nadaje się do uprawy z przeznaczeniem wyłącznie na cele techniczne, gdyż zawiera w nasionach zarówno kwas erukowy, jak i glukozynolany. Odmiany 'Kana' i 'Lisek' zostały wyhodowane w latach dziewięćdziesiątych ubiegłego wieku i są odmianami o zmniejszonej zawartości kwasu erukowego i glukozynolanów.

Sposób przeprowadzenia eksperymentu i jego schemat

W zapoczątkowaniu reakcji rośliny na warunki stresowe bierze udział kwas abscysynowy (ABA), który jest powszechnie występującym w świecie roślin inhibitorem wzrostu. Czasami nazywa się go hormonem stresowym, ponieważ wzrost jego stężenia towarzyszy niekorzystnym dla roślin zmianom w środowisku. Pojawienie się większych ilości kwasu abscysynowego w tkance sprzyja zazwyczaj zwiększeniu jej odporności na stres. Jak wskazują dane literaturowe, ABA wpływa m.in. na zwiększenie odporności roślin na chłód oraz przyspiesza adaptację kultur komórkowych do zasolenia podłoża (KUBIK 1997). Zatem zaistniała konieczność przeprowadzenia badań i określenia, w jakim stopniu regulator wzrostu (ABA) oraz stan fizjologiczny testowanych odmian mogą wpływać na odporność roślin na zwiększone zasolenie solami metali ciężkich.

W doświadczeniu testowano odporność młodych siewek na sole metali ciężkich trzech odmian rzepaku ozimego. W tym celu do płytek Petriego zawierających kontrolną pożywkę Murashigea i Skooga (MS) (1962) lub MS z dodatkiem CuSO_4 (stężenie $0,5 \mu\text{M}$) albo CdSO_4 (stężenie $5,0 \mu\text{M}$) wykładano po 50 nasion w różnym stanie fizjologicznym, tj.: suchych, uprzednio moczonych przez 24, 48, 72 i 96 h w sterylnej wodzie lub moczonych w sterylnej wodzie z dodatkiem kwasu abscysynowego (stężenie 10^{-6} M). Zastosowanie dziesięciokrotnie większego stężenia soli kadmu wynika z dużej mobilności tego pierwiastka w środowisku naturalnym.

Szczegółową ocenę odporności przeprowadzono po 28 dniach inkubacji, odnotowując liczbę żywych roślin. Następnie uzyskane odporne siewki przenoszono na pożywkę MS bez dodatku soli na dwa tygodnie, po czym zregenerowane, odporne rośliny sadzono do doniczek z ziemią i dalszą hodowlę prowadzono w szklarni Katedry Genetyki i Hodowli Roślin Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.

Cały eksperyment z siarczanem miedzi, jak i siarczanem kadmu, wykonano w trzech powtórzeniach.

Wyniki

Kielkowanie nasion na pożywce kontrolnej i pożywkach selekcyjnych

Przebieg kiełkowania nasion trzech testowanych odmian na kontrolnej pożywce MS wykazywał zróżnicowanie w zależności od odmiany oraz stanu fizjologicznego nasion. Ogólnie, u wszystkich odmian na tej pożywce najslabiej kiełkowały nasiona, które uprzednio moczone w wodzie z dodatkiem ABA. Odmiennie przebiegało kiełkowanie nasion na pożywkach selekcyjnych. Szczególnie drastyczne zmniejszenie kiełkowania obserwowano u wszystkich odmian w przypadku wyłożenia na pożywkę selekcyjną z dodatkiem CdSO_4 nasion suchych: skiełkowało zaledwie 0,8% nasion odmiany 'Lisek' i 10,0% nasion odmiany 'Górczański' (tab. 1). Moczenie nasion zarówno w wodzie czystej, jak i z dodatkiem ABA zmniejszało niekorzystny wpływ soli metali ciężkich zawartych w pożywce i w tych przypadkach odsetek kiełkujących nasion był znacznie większy w porównaniu z nasionami suchymi.

Tabela 1. Efektywność kiełkowania nasion trzech odmian rzepaku ozimego na pożywkach selekcyjnych odporność na zwiększoną zawartość siarczany kadmu (CdSO_4) i miedzi (CuSO_4) w podłożu w zależności od stanu fizjologicznego nasion (%)

Table 1. Effectiveness of seeds sprouting of three winter oilseed rape cultivars on the media selecting the resistance to the increased content of the sulfate of cadmium (CdSO_4) and of copper (CuSO_4) in the substrate depending on the physiological state of seeds (%)

Pożywka Medium	Nasiona suche Dry seeds	Nasiona moczone w sterylnej wodzie Seeds soaked in sterile water			Nasiona moczone w wodzie + ABA 10^{-6} M Seeds soaked in water + ABA 10^{-6} M		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
‘Górczański’							
MS	100 ^a	98,4 ^{ad}	99,2 ^{ad}	98,4 ^{ad}	92,1 ^b	88,6 ^c	84,4
MS + CdSO_4	10,0	73,4	100,0 ^{ac}	100,0 ^{ac}	92,6 ^{bc}	87,0 ^c	90,8 ^{ac}
MS + CuSO_4	98,3 ^a	81,8	94,2 ^a	89,2	98,1 ^a	98,1 ^a	100,0 ^a
‘Lisek’							
MS	98,4 ^a	96,2 ^a	92,0 ^a	98,4 ^a	78,6	84,4	81,6
MS + CdSO_4	0,8	34,0	98,4 ^a	97,5 ^a	96,3 ^a	94,4 ^a	94,4 ^a
MS + CuSO_4	97,5 ^a	95,8 ^a	74,8	82,5	92,6 ^b	98,1 ^a	100,0 ^a
‘Kana’							
MS	99,2 ^a	98,4 ^a	92,6 ^a	95,5 ^a	74,6	78,4	68,4
MS + CdSO_4	8,3	55,8	0,0	0,0	100,0 ^a	96,3 ^a	92,6 ^a
MS + CuSO_4	98,4 ^a	80,8 ^f	80,0 ^f	90,0 ^a	100,0 ^a	100,0 ^a	94,4 ^a

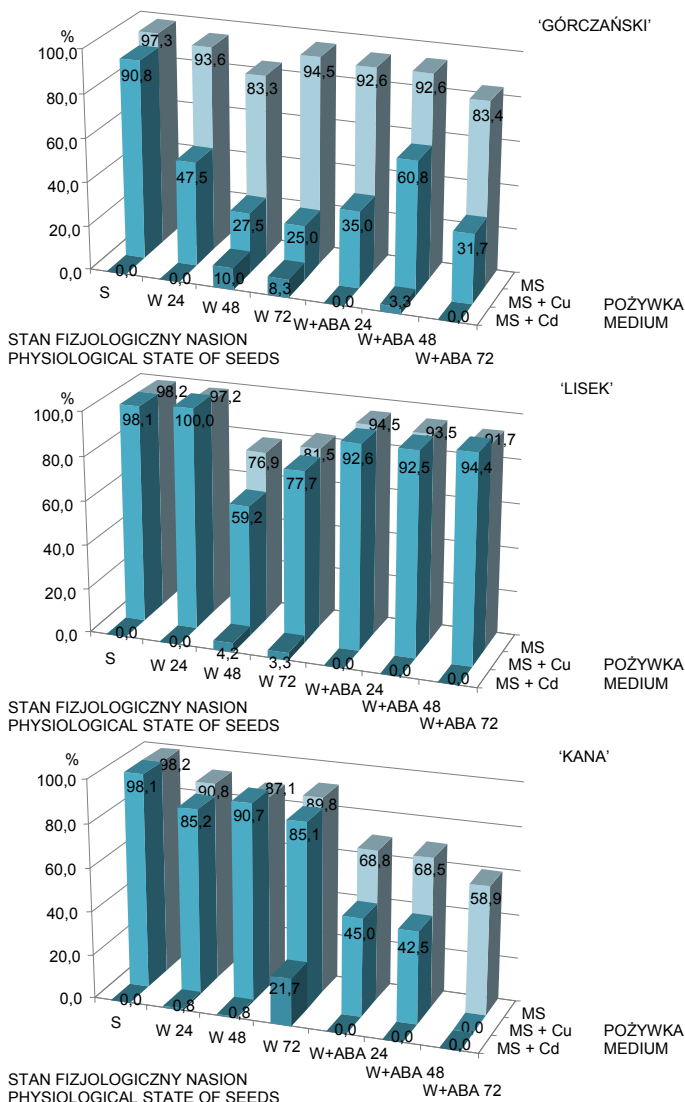
Dane oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie na poziomie $\alpha = 0,05$ (test Duncana).
Data marked with the same letters are not significantly different at $\alpha = 0.05$ (Duncan's test).

Stopień przeżywalności siewek trzech odmian rzepaku na pożywkach selekcyjnych odporność na sole Cd i Cu w podłożu

Przeżywalność na pożywce MS z dodatkiem CuSO_4

Największy odsetek roślin odpornych na siarczan miedzi zawarty w pożywce zaobserwowano u odmiany ‘Lisek’ (100%), gdy nasiona tej odmiany były moczone w wodzie przez 24 h, oraz u odmian ‘Kana’ i ‘Lisek’, gdy na pożywkę wykładano suche nasiona (98,1%) (rys. 1). Znamienne jest, że odmiana ‘Lisek’ inaczej reagowała na pobudzenie fizjologiczne przez moczenie nasion w sterylnej wodzie, a inaczej po moczeniu w wodzie z dodatkiem ABA. U odmiany tej ponad 90% siewek wyrosłych z nasion traktowanych ABA wykazywało odporność na CuSO_4 . U dwóch pozostałych odmian przeżywalność ta kształtowała się w granicach od 30,8% (odmiana ‘Kana’, nasiona moczone 72 h w roztworze ABA) do 60,8% (nasiona odmiany ‘Górczański’ moczone 48 h w roztworze ABA). Również różną reakcją odmian obserwowano w przypadku moczenia nasion w czystej wodzie. U odmiany ‘Lisek’ odsetek roślin,

Wojciechowski A., Niemann J., Springer B., Cichocka K., 2012. Selekcja roślin tolerujących zwiększoną zawartość soli metali ciężkich (Cu i Cd) w podłożu u wybranych odmian rzepaku. Nauka Przyr. Technol. 6, 1, #7.



Rys. 1. Przeżywalność siewek trzech odmian rzepaku ozimego na pożywkach selekcjonujących odporność na zwiększoną zawartość siarczany kadmu (CdSO_4) i miedzi (CuSO_4) w podłożu w zależności od stanu fizjologicznego nasion: S – nasiona suche, W – nasiona moczone w sterylnej wodzie przez 24, 48 lub 72 h, W+ABA – nasiona moczone przez 24, 48 lub 72 h w wodzie z dodatkiem kwasu absycynowego w stężeniu 10^{-6} M

Fig. 1. Survivability of seedlings of three winter oilseed rape cultivars on the media selecting the resistance to the increased content of the sulfate of cadmium (CdSO_4) and copper (CuSO_4) in the substrate depending on the physiological state of seeds: S – dry seeds, W – seeds soaked in sterile water through 24, 48 or 72 h, W+ABA – seeds soaked in water through 24, 48 or 72 h with the addition of abscisic acid in concentration 10^{-6} M

które przeżyły na pożywce MS z dodatkiem CuSO_4 , wyniósł – w zależności od długości moczenia nasion – od 59,2% (moczenie w wodzie przez 72 h) do 100% (moczenie przez 24 h). Z kolei u odmiany ‘Kana’ wartości te wyniosły od 85,1% do 90,7%. Najmniej siewek odpornych na CuSO_4 obserwowano u odmiany ‘Górczański’ (około 26-47%). Wydłużanie czasu traktowania nasion wodą lub wodą z dodatkiem ABA w większości przypadków zmniejszało odporność roślin na CuSO_4 .

Przeżywalność na pożywce MS z dodatkiem CdSO_4

Dodatek siarczynu kadmu do pożywki MS radykalnie zmniejszył przeżywalność roślin wszystkich testowanych odmian. W przypadku nasion suchych wykładanych na tę pożywkę obserwowano całkowity brak kiełkowania (rys. 1). Siewki wyrosłe z nasion odmian ‘Lisek’ i ‘Kana’ moczonych uprzednio w wodzie z dodatkiem ABA całkowicie obumarły. Największy procent odpornych siewek odnotowano u odmiany ‘Kana’: były to siewki wyrosłe z nasion uprzednio moczonych przez 72 h w sterylnej wodzie (21,7%). Również u odmian ‘Górczański’ oraz ‘Lisek’ po takim sposobie traktowania nasion otrzymano siewki, które przeżyły na pożywce z dodatkiem soli kadmu (odpowiednio 3,3% i 8,3%), jednak w przypadku tych dwóch odmian więcej roślin tolerujących CdSO_4 w pożywce obserwowano po 48-godzinnym moczeniu nasion w sterylnej wodzie (odpowiednio 10,0% i 4,2%).

Dyskusja

Gleba, obok wody i powietrza, stanowi podstawowy składnik biosfery. Spełnia w środowisku przyrodniczym różnorodne funkcje, m.in. działa filtrująco i buforująco, chroniąc ekosystemy przed nadmiernym przepływem pierwiastków śladowych do innych elementów biosfery. W dużym stopniu wprowadzone do środowiska metale ciężkie ulegają akumulacji w glebie, powodując jej poważną degradację. Długotrwałość skażenia gleby może sięgać kilkuset, a nawet tysięcy lat, zależnie od rodzaju gleby i jej właściwości fizyczno-chemicznych (ALLOWAY i AYRES 1999).

Obecnie jednym z ważniejszych problemów do rozwiązania jest otrzymanie roślin uprawnych odpornych na wiele niekorzystnych czynników, w tym na zwiększone zasolenie gleb różnymi solami metali ciężkich. Uzyskanie takich roślin może się odbywać za pomocą metod hodowli *in vitro*, pozwalających na niemalże nieograniczone czasowo prowadzenie kultur w sterylnych warunkach (ZENTKELER 1984).

W niniejszej pracy dokonano za pomocą kultur *in vitro* selekcji trzech odmian rzepaku ozimego na siarczany miedzi i kadmu. W celu otrzymania roślin przydatnych do uprawy na terenach rekultywowanych badano również, w jakim stopniu na odporność testowanych odmian wpływa kwas absycynowy (ABA) oraz stan fizjologiczny wykładanych nasion. W przeprowadzonym eksperymencie zaobserwowano, że na pożywce z CuSO_4 największy procent odpornych siewek odmian ‘Górczański’ i ‘Kana’ uzyskano wówczas, gdy nasiona wykładano na pożywkę selekcyjną w stanie suchym. Więcej form odpornych wykształciła odmiana ‘Górczański’ niż ‘Kana’. Odmienne zareagowała odmiana ‘Lisek’: najwięcej odpornych siewek uzyskano z nasion moczonych przez 24 h w wodzie przed umieszczeniem na pożywce z solą miedzi. Obserwacje te potwier-

dzają dane prezentowane przez ALLOWAY i AYRESA (1999) oraz SPIAKA (1996), którzy wykazali, że odporność na metale ciężkie była zależna od genotypu rośliny. Dane otrzymane w naszej pracy dowodzą, że na przeżywalność odmian rzepaku ozimego miał również wpływ stan fizjologiczny nasion wykładanych na pożywkę selekcyjną. Podobnie twierdzą ALLOWAY i AYRES (1999) oraz MARCHWIŃSKA i KUCHARSKI (1983). Ich zdaniem granice toksyczności zależą od stadium rozwojowego rośliny oraz od warunków, w których wyrosła.

Nadmierne ilości miedzi w roślinie powodują różne zaburzenia w metabolizmie, a w efekcie ograniczenie wzrostu i rozwoju. Nadmiar tego pierwiastka uszkadza głównie DNA oraz ogranicza procesy fotosyntezy, jak również pobierania żelaza i cynku. Toksyczne oddziaływanie miedzi powoduje także zmiany w przepuszczalności błon komórkowych, co zwiększa wydzielanie niektórych kationów, np. K^+ (KABATA-PENDIAS i PENDIAS 1979). Objawami nadmiaru miedzi u trzech odmian rzepaku ozimego było początkowo ciemnozielone zabarwienie, a następnie chloroza oraz skrócenie korzeni w porównaniu z próbą kontrolną. Wyniki badań wykazały, że najwięcej eksplantatów żółtych uformowała odmiana 'Lisek' z nasion moczonych przez 48 h w wodzie przed wyłożeniem na pożywkę z siarczanem miedzi.

SZWEYKOWSKA (1997) oraz KABATA-PENDIAS i PENDIAS (1999) podają, że w roślinach tolerancyjnych wobec toksycznego działania miedzi zachodzą różne procesy wyłączające ten pierwiastek z metabolizmu. Miedź podlega silnemu wiązaniu z białkami i odkładaniu w przestrzeniach międzykomórkowych, a najczęściej jest zatrzymywana w korzeniach.

Celem niniejszej pracy było również określenie, w jakim stopniu zastosowany kwas absycynowy o stężeniu 10^{-6} M może wpływać na odporność roślin na sole metali ciężkich. Spośród trzech testowanych odmian, których nasiona przed umieszczeniem na pożywkę z siarczanem miedzi traktowano wodą i ABA (10^{-6} M), największy procent odpornych roślin zaobserwowano u odmiany 'Górczański' po 48 h działania tego regulatora wzrostu i wody. Również u odmiany 'Lisek' najwięcej eksplantatów odpornych odnotowano wówczas, gdy nasiona traktowano wodą i ABA przez 48 h (u tej odmiany otrzymano mniej roślin odpornych w porównaniu z odmianą 'Górczański'). U odmiany 'Kana' najwięcej roślin odpornych otrzymano z nasion traktowanych wodą i ABA przez 72 h. Stwierdzono również, że tylko u odmiany 'Górczański' ABA spowodował lepszą odporność roślin w przypadku traktowania nasion tym regulatorem przez 48 i 72 h, w porównaniu z roślinami, których nasion nie traktowano kwasem ABA, lecz moczone w wodzie.

W przeprowadzonym doświadczeniu zaobserwowano, że zanim doszło do wystąpienia skutków toksyczności zauważalne było zahamowanie wzrostu roślin. W badaniach Amzallaga i in. (1992) (STARCK i in. 1995) prowadzonych na sorgu w początkowej fazie zasolenia traktowanie sorga cytokininami lub giberelinami utrudniało adaptację do stresu w przeciwieństwie do pozytywnego wpływu ABA, skracającego okres adaptacji. W początkowej fazie warunków stresowych zahamowanie wzrostu ułatwia przetrwanie stresu. W następnej fazie traktowanie roślin cytokininami i giberelinami zmniejsza negatywne skutki zasolenia, w przeciwieństwie do ABA. Wyżej wymienieni autorzy konkludują, że przeprowadzone przez nich badania wskazują na zróżnicowaną reakcję rośliny na poszczególne hormony w zależności od jej stanu fizjologicznego. Twierdzą również, że zasolenie hamuje wzrost roślin na skutek zaburzeń w równowadze hormo-

nów. Ich zdaniem odporność na niekorzystne warunki jest większa w czasie zahamowanego wzrostu, natomiast w czasie przystosowania roślin do zasolenia i w okresie regeneracji zachodzi zwiększona synteza cytokinin i giberelin, co umożliwia wznowienie procesu wzrostu nawet w warunkach zasolenia.

ABA nazywany jest również hormonem stresowym, gdyż wytwarzany jest przez rośliny podczas działania niekorzystnych dla nich zmian w środowisku (takich jak np. brak lub nadmiar wody, zbyt niska lub zbyt wysoka temperatura, nadmierna ilość metali ciężkich).

W dobrze uwodnionej komórce ABA jest zlokalizowany głównie w cytozolu. W czasie stresu wodnego następuje jego redystrybucja oraz uwolnienie z form związanych do apoplastu ścian komórkowych, głównie w komórkach przysparych. Powoduje to uruchomienie procesów prowadzących do zamknięcia aparatów szparkowych, co pozwala ograniczyć straty wody (STARCK i IN. 1995). Według SZWEJKOWSKIEJ (1997) odporność na działanie danego czynnika stresowego w roślinie wzrasta wówczas, gdy stres wywołany suszą nie jest zbyt silny.

Kwas ABA wprowadzony do rośliny egzogennie przy jej normalnym uwodnieniu imituje reakcję obserwowaną w czasie stresu wodnego (STARCK i IN. 1995). PAGES i IN. (1994) wykazali, że mutant *Arabidopsis*, który ma zmniejszoną ilość ABA w stosunku do szczepu dzikiego, odpowiada na egzogennie dostarczony ABA poprzez inhibowanie przedwczesnego kiełkowania. W przypadku nadmiaru wody w środowisku stres jest związany z brakiem tlenu (SZWEJKOWSKA 1997).

Wyniki otrzymane z selekcji roślin odpornych na CuSO_4 wskazują, że w miarę przetrzymywania nasion w wodzie zmniejsza się ilość odpornych roślin. Może to być spowodowane wytworzonymi warunkami beztlenowymi, które uruchamiały produkcję etylenu. Zwiększona ilość etylenu drastycznie hamuje oddychanie. W takich warunkach wykazano akumulację w tkankach toksycznych produktów, wynikającą z zaburzeń metabolicznych (STARCK i IN. 1995).

W niniejszej pracy zaobserwowano, że wcześniejsze traktowanie nasion ABA przez okres 48 h u odmiany 'Górczański' i 'Lisek' oraz przez 72 h u odmiany 'Kana' wpłynęło na zwiększenie procentu odpornych roślin. SPOLLEN i IN. (2000) podają, że ograniczenie produkcji etylenu może być powszechną funkcją ABA. Z kolei GHASSEMIAN i IN. (2000) oraz BEAUDION i IN. (2000) wykazali, że etylen jest antagonistyczny do ABA podczas rozwoju nasion. Otrzymane przez tych autorów wyniki świadczą, że etylen nie wzmacnia kiełkowania, ale w części znosi indukowaną przez ABA inhibicję kiełkowania nasion. Wymienieni autorzy wskazują też, że etylen sam nie reguluje kiełkowania, ale działa poprzez współdziałanie z ABA.

W przeprowadzonym doświadczeniu zauważono, że nasiona traktowane ABA kiełkowały później niż nasiona nie traktowane tym regulatorem wzrostu. Stwierdzono także, że u odmian 'Górczański' i 'Kana' najwięcej nasion skiełkowało po 24 h działania ABA, u odmiany 'Lisek' zaś – po 48 h działania tego regulatora. Najmniej nasion skiełkowało po 72 h działania ABA u odmian 'Kana' i 'Lisek' oraz po 96 h traktowania ABA u odmiany 'Górczański'. W przypadku roślin nie traktowanych ABA najwięcej nasion skiełkowało, gdy zostały wyłożone na pożywkę w stanie suchym, a najmniej, gdy były uprzednio moczone w wodzie przez 48 h.

W prowadzonej selekcji rzepaku ozimego odpornego na siarczan kadmu zauważono, że najwięcej odpornych siewek wykształciła odmiana 'Kana' z nasion moczonych przez

72 h w wodzie przed wyłożeniem na pożywkę selekcyjną. Odmiany 'Górczański' i 'Lisek' odznaczały się największym procentem odpornych roślin po 96 h działania wody (odmiana 'Górczański' okazała się bardziej odporna niż odmiana 'Lisek'). Więcej odpornych roślin uzyskano w przypadku selekcji rzepaku ozimego na siarczan miedzi niż na siarczan kadmu. Według GRODZIŃSKIEJ i IN. (1997) nawet małe stężenia kadmu wywołują różnego typu zaburzenia rozwojowe, zahamowanie wzrostu pędów i korzeni, a także powolne zamieranie rośliny. Na podstawie wyników uzyskanych w prezentowanej pracy oraz na podstawie ustaleń innych autorów można wnioskować, że kadm jest pierwiastkiem silnie toksycznym dla roślin.

Przewodnym celem niniejszych badań była ocena odporności odmian rzepaku ozimego oraz ich ewentualnego wykorzystania na terenach rekultywowanych. Rzepak, jako roślina mająca dużą zdolność pochłaniania i kumulowania substancji toksycznych, mógłby być w przyszłości wykorzystany do oczyszczania terenów skażonych i uwalniania środowiska glebowego od metali ciężkich. Niewątpliwie biologiczne metody remediacji zanieczyszczonych środowisk mają szansę stać się jedną z podstawowych technik usuwania związków toksycznych z gleby. Zaletą fitoremediacji jest możliwość pełnego usunięcia zanieczyszczeń bez konieczności zdejmowania wierzchniej warstwy gleby i budowy specjalnych urządzeń do prowadzenia procesu oczyszczania (KON-DZIELSKI i IN. 1996).

Uzyskane w doświadczeniu w drodze hodowli *in vitro* rośliny odporne dobrze aklimatyzowały się w warunkach szklarniowych. Istnieją zatem podstawy, aby sądzić, że odporność zostanie zachowana również przy testach polowych. Jednoznaczna odpowiedź byłaby z pewnością cykl badań polowych i laboratoryjnych przeprowadzony z materiałem roślinnym uzyskanym w drodze selekcji.

Wnioski

1. Sól kadmu okazała się bardziej toksyczna aniżeli sól miedzi. Stopień wrażliwości na zastosowane w eksperymencie sole zależał od badanego genotypu.

2. Stan fizjologiczny wykładanych nasion testowanych odmian rzepaku ozimego miał istotne znaczenie w selekcji roślin odpornych. Najwięcej roślin odpornych otrzymano na pożywce z CuSO_4 z nasion uprzednio nie moczonych w wodzie u odmiany 'Górczański'.

3. Kwas abscysynowy (ABA) spowodował zwiększoną odporność siewek na CuSO_4 u odmiany 'Górczański'. W przypadku selekcji odmian rzepaku ozimego prowadzonej na siarczan kadmu ABA nie wpłynął na zwiększenie odporności roślin na tę sól.

4. Egzogenny ABA inhibował kiełkowanie nasion oraz wpływał na skrócenie siewek testowanych odmian.

Literatura

ALLOWAY B.J., AYRES D.C., 1999. Chemiczne podstawy zanieczyszczenia środowiska. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa.

- BEAUDION N., SERIZET C., GOSTI F., GIRAUDATA J., 2000. Interactions between abscisic acid and ethylene signaling cascades. *Plant Cell* 12: 1103-1116.
- GHASSEMIAN M., NAMBARA E., CUTLER S., KAWAIDEB H., MCCOURTA P., 2000. Regulation of abscisic acid signaling by the ethylene response pathway in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 12: 1117-1126.
- GRODZIŃSKA K., SZAREK-ŁUKASZEWSKA G., GODZIK B., BRANIEWSKI S., BUDZIAKOWSKA E., CHRZANOWSKA E., PAWŁOWSKA B., ZIELARKA T., 1997. Ocena skażenia środowiska Polski metalami ciężkimi przy użyciu mchów jako biowskaźników. PIÓŚ, Warszawa.
- JASIEWICZ C., ANTKIEWICZ J., 2000. Ekstrakcje metali ciężkich przez rośliny z gleb zanieczyszczonych metalami ciężkimi. *Cz. II Ślązowiec pensylwański. Zesz. Probl. Post. Nauk. Roln.* 472: 323-330.
- KABATA-PENDIAS A., PENDIAS H., 1979. Pierwiastki śladowe w środowisku biologicznym. PWN, Warszawa.
- KABATA-PENDIAS A., PENDIAS H., 1999. Biogeochemia pierwiastków śladowych. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa.
- KONDIŹLSKI I., BUCZKOWSKI R., SZYMAŃSKI T., 1996. Biologiczne metody remediacji wód i gleb zanieczyszczonych metalami ciężkimi. *Ekol. Tech.* 5/6: 23-27.
- KUBIK M., 1997. Regulatory wzrostu i rozwoju roślin. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa.
- MARCHWIŃSKA E., KUCHARSKI R., 1983. Zawartość mikroelementów w wybranych warzywach w zależności od poziomu zanieczyszczenia powietrza. *Zesz. Probl. Post. Nauk. Roln.* 242: 660-663.
- PAGES M., ALBA M.M., ARENAS C., BUSK P.K., 1994. Abscisic acid and water stress responsive genes in maize. *Genet. Pol.* 35: 15-24.
- SPIAK Z., 1996. Aktualny stan badań nad zagadnieniem nadmiaru metali ciężkich w glebach i roślinach. *Zesz. Probl. Post. Nauk. Roln.* 434: 769-775.
- SPOLEEN W.G., LENOBLE M.E., SAMUELS T.D., SHARP R.E., 2000. Abscisic acid accumulation maintains maize primary root elongation and low water potentials by restricting ethylene production. *Plant Physiol.* 122: 967-976.
- STARCK Z., CHOLUJ D., NIEMYSKA B., 1995. Fizjologiczne reakcje roślin na niekorzystne czynniki środowiska. Wyd. SGGW, Warszawa.
- SZWEYKOWSKA A., 1997. Fizjologia roślin. Wyd. Nauk. UAM, Poznań.
- ZENTKELER M., 1984. Hodowla komórek i tkanek roślinnych. PWN, Warszawa.

SELECTION OF PLANTS TOLERANT TO HIGHER CONTENT OF HEAVY METALS SALTS (Cu AND Cd) IN SUBSTRATE IN CHOSEN CULTIVARS OF OILSEED RAPE

Summary. The aim of this study was to select *in vitro* winter oilseed rape plants suitable for cultivation in soils with elevated concentrations of heavy metals and to estimate the extent to which abscisic acid and the physiological state of seeds may affect the resistance to heavy metal salts. The research material consisted of three winter oilseed rape cultivars: 'Górczański', 'Lisek' and 'Kana'. Seeds were put in the medium Murashige and Skoog (MS) and MS medium with the addition of copper sulfate at concentrations of 0.5 μM and cadmium salts at a concentration of 5.0 μM in different physiological conditions: dry, soaked for 24, 48, 72 h in water, soaked for 24, 48, 72 h in water with the addition of ABA. Resistant plants were transferred to pots with soil and further cultivation was carried out under greenhouse conditions. Cadmium salt was more toxic than the copper salt. The degree of sensitivity to the salts used in the experiment depended on the

Wojciechowski A., Niemann J., Springer B., Cichocka K., 2012. Selekcja roślin tolerujących zwiększoną zawartość soli metali ciężkich (Cu i Cd) w podłożu u wybranych odmian rzepaku. *Nauka Przyr. Technol.* 6, 1, #7.

tested genotype. Physiological state of seeds of the tested winter oilseed rape cultivars was important in the selection of resistant plants. The most resistant plants were obtained on medium with CuSO_4 from seeds previously not soaked in water in the cultivar 'Górczański'. Abscisic acid (ABA) resulted in increased resistance of seedlings in the cultivar 'Górczański' on medium with CuSO_4 . In the case of selection of winter oilseed rape cultivars conducted on cadmium sulfate ABA did not affect the increase in plant resistance to this salt.

Key words: *in vitro* selection, resistance to stress, phytoremediation

Adres do korespondencji – Corresponding address:

Andrzej Wojciechowski, Katedra Genetyki i Hodowli Roślin, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wojska Polskiego 71 C, 60-625 Poznań, Poland, e-mail: ajwoj@up.poznan.pl

Zaakceptowano do druku – Accepted for print:

22.07.2011

Do cytowania – For citation:

*Wojciechowski A., Niemann J., Springer B., Cichocka K., 2012. Selekcja roślin tolerujących zwiększoną zawartość soli metali ciężkich (Cu i Cd) w podłożu u wybranych odmian rzepaku. *Nauka Przyr. Technol.* 6, 1, #7.*