

Zadanie 6.10. Otrzymywanie populacji roślin warzywnych odpornych na szkodliwe czynniki abiotyczne z zastosowaniem kultur pynnikowych i kultur mikrospor

Kierownik zadania: prof. dr hab. K. Górecka

Wykonawcy: mgr W. Kiszczak, mgr U. Kowalska, mgr A. Kapuścińska, mgr M. Burian, D. Prochaska, dr D. Krzyżanowska

Rośliny zregenerowane z zarodków androgenetycznych na pożywkach ze zwiększonymi zawartościami miedzi (1; 10; 100 μML^{-1} w postaci $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$) i cynku (70; 700, 7000 μML^{-1} w formie $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$) zaadaptowano w mikropaleczeniach w podłożu kontrolnym. Następnie przesadzano je do podłoża ze zwiększonymi stężeniami miedzi i cynku oraz kontrolnego na bazie piasku, torfu i nawozu makro Scot. Na 1 l podłoża z wyższą zawartością $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ dodano 500 mg tego związku. Do podłoża z podwyższoną koncentracją $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ dodano 552 mg tego związku. W fazie 4-5 liści właściwych rośliny marchwi przesadzono do doniczek o średnicy 16 cm i wysokości 13 cm i zadołowano w polu na tym samym poziomie co poletko. W 1 l podłoża znajdowało 396 mg $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ dla roślin ze zwiększoną zawartością tego związku, natomiast dawkę 4400 mg $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ /l podłoża dodano dla roślin z pożywek o wyższej koncentracji siarczanu cynku. Z roślin rosnących w szklarni i w polu przeprowadzono analizy zawartości fenoli rozpuszczalnych metodą spektrofotometryczną. Ploidalność roślin zbadano z użyciem cytometru przepływowego CAII (Partec GmbH, Münster, Germany). W celu zbadania homozygotyczności tych roślin analizowano dwa izoenzymy PGI (fosfoglukozoizomeraza E.C. 5.3.1.9) oraz AAT (aminotransferaza asparaginianowa E.C. 2.6.1.1).

Spośród roślin uzyskanych z pożywki z 10-krotnie wyższego stężenia $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ zaadaptowało się 38,5% roślin. Lepsze wyniki adaptacji 55,2% uzyskano w przypadku roślin z pożywki ze 100 razy zwiększoną koncentracją miedzi w pożywce (Cu-2). W kontroli odnotowano 68,8% procent zaadaptowanych roślin. 10 razy wyższa dawka $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ (Zn-1) w pożywce dwukrotnie zmniejszyła procent zaadaptowanych roślin w mikropaleczeniach (34,6), a 100-krotnie zwiększona zawartość siarczanu cynku trzykrotnie obniżyła adaptację (21,4) w odniesieniu do kontroli.

W podłożu z podwyższoną zawartością cynku 500 mg $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ wszystkie posadzone rośliny w warunkach szklarniowych zaadaptowały się w 100%. Rośliny z pożywki (Cu-1) z 10-krotnie wyższą koncentracją miedzi przeżyły przeniesienie do podłoża z podwyższoną zawartością $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ w 85,7%, a z pożywki ze 100-krotnie wyższą zawartością miedzi w 92,3%. Najwyższy procent przeżywalności roślin marchwi w polu zaobserwowano w glebie z 4400 mg $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ w przeliczeniu na 1 l i glebie z 396 mg $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$, gdy zostały zregenerowane na pożywce (Cu-2) ze 100-krotnie wyższym poziomem siarczanu miedzi (100%). Badania cytometryczne wykazały, że wszystkie zaadaptowane i przeanalizowane rośliny miały podwojony garnitur chromosomowy. Analiza izoenzymatyczna pod względem izoenzymu PGI wykazała, że wszystkie rośliny marchwi pochodzące z pożywek z podwyższonymi stężeniami siarczanu miedzi i cynku były w 100% homozygotyczne. Pod względem izoenzymu AAT tylko rośliny z wyższymi koncentracjami cynku wykazywały w 100% homozygotyczność. Rośliny na pożywce z 10-krotnie wyższym poziomem siarczanu miedzi były w 75% homozygotami. Na 100-krotnie wyższym stężeniu w 50% były homozygotami, a w kontroli znajdowało się 37% homozygot AAT. W celu uzyskania silnych roślin korzenie marchwi, zostały wykopane z pola tuż przed przymrozkami i przeniesione do chłodni, aby przeszły proces jaryzacji. Po 3 miesiącach chłodzenia rośliny zostaną posadzone w szklarni i doprowadzone do kwitnienia, a następnie uzyskania nasion. Stwierdzono, że na akumulację związków fenolowych w liściach marchwi wpływa zarówno rodzaj zaaplikowanego metalu, jak i warunki hodowli. W warunkach szklarniowych siarczan Zn indukuje wyższą akumulację związków fenolowych niż w liściach kontrolnych, natomiast pod wpływem siarczanu Cu następuje obniżenie zawartości tych związków. W warunkach polowych zarówno Cu, jak i Zn stymulują akumulację fenoli.