

UDK: 631.524; 633.11

KORIŠĆENJE KALUSNE KULTURE ZA ISPITIVANJE TOLERANTNOSTI GENOTIPOVA PŠENICE PREMA SUŠI

KONDIĆ ANKICA, ŠESEK S.¹

IZVOD: Ispitivana je tolerantnost prema suši u *in vitro* uslovima, kod dve sorte ozime pšenice (*T. aestivum* L.), Košuta i Renesansa. Tolerantnost je testirana na modifikovanoj MS (Murashige and Skoog, 1962) hranljivoj podlozi, kojoj je dodat pohetilen glikol (PEG) u tri različite koncentracije: 10%, 20% i 30%. Kontrolna grupa kalusa je gajena na podlozi bez PEG-a. Nakon četiri meseca gajenja na ovim podlogama utvrđena je sveža masa i sadržaj suve materije u kalusnom tkivu.

Utvrđene su značajne razlike u pogledu reakcije genotipova na različite koncentracije PEG-a. Najviša koncentracija (30% PEG-a) je bila letalna za izolovane embrione, tako da pri ovoj koncentraciji, ni kod jednog genotipa nije došlo do formiranja kalusa. Pri koncentracijama od 10 i 20% PEG-a došlo je do naglog smanjenja vrednosti sveže mase kalusa, kod oba genotipa. Tako je pri najnižoj koncentraciji (10% PEG) kod sorte Košuta sveža masa smanjena za 90% u odnosu na kontrolu, a kod sorte Renesansa za 93%.

Usled dehidracije kalusa u prisustvu PEG-a, sa povećanjem njegove koncentracije u podlozi, došlo je i do povećanja sadržaja suve materije u kalusima kod oba genotipa. Kod sorte Košuta sadržaj suve materije je povećan sa 8,7% (kontrola) na 24,9% (20% PEG), dok je kod sorte Renesansa povećan sa 8,6% (kontrola) na 39,7% (20% PEG).

Ključne reči: suša, tolerantnost, pšenica, kultura embriona

UVOD: Abiotički stresovi, poput suše, zaslanjenosti zemljišta, visokih i niskih temperatura, predstavljaju glavne limitirajuće faktore sredine, koji utiču na razviće biljaka i njihovu produktivnost. S obzirom na to da je vodni stres bio jedan od prvih izazova sa kojima su se biljke srele, od samog početka njihovog nastajanja kopnenih površina, tokom više od 400 miliona godina evolucije, biljke su razvile različite strategije za prilagođavanje uslovima vodnog deficita. Razne morfološke i fiziološke adaptacije, kao što su zadebljala voštana kutikula, C4 metabolizam, redukovana lisna površina, sposobnost maksimalnog iskorišćavanja vode tokom čitavog života biljke, mogu da umanje trenutne i ponekad katastrofalne posledice suše.

Jedna od najčešćih reakcija kod svih organizama izloženih vodnom deficitu je produkcija i/ili akumulacija različitih osmolita. To su osmotski aktivna, neutralna organska jedinjenja kao što su šećeri, neke aminokiseline itd. Snižavanjem vodnog potencijala, akumulacija ovih osmolita omogućuje usvajanje dodatnih količina vode iz okruženja, čime se ublažavaju posledice dejstva nedostatka vode unutar samog organizma (Taylor, 1996). Nakupljanje

osmolita se vrši tokom dugotrajnog vodnog deficita i pretpostavlja se da oni pomažu stabilizaciju terciarne strukture proteina (Low, 1985).

Dugotrajni nedostatak vode uvek dovodi do značajnog smanjenja produktivnosti, što je posebno značajno kod gajenih biljaka (Bohnert et al., 1995). Upravo iz tog razlog, poslednjih decenija uloženi su veliki naponi u stvaranju tolerantnih genotipova, kako pšenice, tako i drugih gajenih biljaka, u cilju postizanja što viših prinosa i u stresnim uslovima gajenja. Konvencionalnim oplemenjivanjem, kao i primenom *in vitro* metoda (Wang et al., 1999) i genetičkog inženjeringa (McCue and Hanson, 1990) u istraživanjima tolerantnosti biljaka prema suši, pokušavaju se stvoriti novi genotipovi, koji bi imali visoku produktivnost i u stresnim uslovima gajenja.

Cilj ovog rada je bio da se, u strogo kontrolisanim uslovima, u kulturi *in vitro* ispita tolerantnost genotipova pšenice prema suši.

Materijal i metode

Dve visokoprinodne sorte ozime pšenice (*Triticum aestivum* L.) Košuta i Renesansa, korišćene su kao materijal za izolaciju zrelih embriona.

Stručni rad (Professional paper)

¹ Mr ANKICA KONDIĆ, istraživač saradnik, dr STANISLAV ŠESEK, viši naučni saradnik, Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad

Priprema i sterilizacija materijala je vršena po proceduri opisanoj u ranijim radovima (Šesek, 1988; Kondić i sar., 1998).

Izloženi zreli embrioni su gajeni na modifikovanoj MS (Murashige and Skoog, 1962) hranljivoj podlozi. Polietilen glikol (PEG) je dodavan ovoj podlozi u tri različite koncentracije (10, 20 i 30%), u cilju izazivanja različitog stepena vodnog, odnosno osmotskog stresa. Kontrolna grupa kalusa je gajena na podlozi bez PEG-a.

Nakon četiri meseca gajenja na ovim podlogama, utvrđena je sveža masa kalusa i sadržaj suve materije u njima.

Rezultati i diskusija

Rezultati su pokazali da su sve ispitivane koncentracije PEG-a imale veoma inhibitoran uticaj na porast kalusa, kod oba genotipa. Najviša koncentracija od 30% PEG-a je bila letalna, odnosno pri ovoj koncentraciji uopšte nije došlo do formiranja kalusnog tkiva (tab. 1).

Tab. 1. Sveža masa i sadržaj suve materije u kalusima pšenice, pri različitim koncentracijama polietilen glikola (PEG).
Tab. 1. Fresh weight and dry matter content in wheat calluses on different polyethylene glycol (PEG) concentrations.

Genotip Genotype	Koncentracija Concentration (%)	Sveža masa kalusa Callus fresh weight		Sadržaj suve materije Dry matter content
		(mg)	(%)	
Košuta	Kontrola	230,2	100,0	8,7
	10	22,7	10,0	15,4
	20	4,1	2,1	24,9
	30	-	-	-
Renesansa	Kontrola	288,6	100,0	8,6
	10	21,7	7,5	11,1
	20	7,0	2,4	39,7
	30	0	-	-

Pri najnižoj koncentraciji PEG-a (10%) sveža masa kalusa kod sorte Košuta je iznosila 22,7 mg, odnosno svega 10% u odnosu na masu kontrolne grupe kalusa. Slični rezultati su dobijeni i kod sorte Renesansa, gde je sveža masa kalusa, pri istoj koncentraciji PEG-a, bila 21,7mg, odnosno 7,5% u odnosu na kontrolu. Sa daljim povećanjem vodnog stresa, odnosno koncentracije PEG-a, došlo je do još veće inhibicije porasta kalusnog tkiva. Tako je pri koncentraciji od 20% PEG-a, sveža masa kalusa bila 4,1 mg kod sorte Košuta, a kod sorte Renesansa 7,0 mg (tab. 1).

Usled dehidracije kalusa, izazvane prisustvom PEG-a u podlozi, došlo je do povećanja sadržaja suve materije u kalusima pšenice, kod oba genotipa (tab. 1). Tako je sadržaj suve materije, pri koncentraciji od 20% PEG-a, kod sorte Košuta povećan za 16,2% u odnosu na kontrolu, dok je kod sorte Renesansa ovo povećanje iznosilo 31,1%.

Nije uočena značajna razlika između genotipova u pogledu njihove tolerantnosti prema deficitu vode, iz razloga što ispitivane koncentracije nisu bile selektivne, odnosno izazvale su inhibiciju porasta

kalusa veću od 50%. Buduća istraživanja bi trebalo vršiti sa nižim koncentracijama PEG-a (do 10%) u cilju iznalaženja upravo te selektivne doze, koja bi mogla poslužiti za utvrđivanje razlike između genotipova u pogledu tolerantnosti prema suši.

Zaključak

Dobijeni rezultati su pokazali da je nedostatak vode u podlozi, izazvan prisustvom PEG-a, imao veoma inhibitoran uticaj na porast kalusa pšenice. I pri najnižoj koncentraciji, od 10% PEG-a, sveža masa kalusa je smanjena za preko 90%. Nisu utvrđene značajne razlike između genotipova u pogledu njihove tolerantnosti prema suši, jer ispitivane koncentracije nisu imale selektivni karakter.

LITERATURA

- BOHNERT, H. J., NELSON, D. E., JENSEN, R. G. (1995): Adaptations to environmental stress. *Plant Cell*, 7, 1099-1111
- KONDIĆ, ANKICA, ŠESEK, S., PEKARIĆ-NAD, NEDA (1998): Uticaj pulzirajućeg elektromagnetskog polja na dinamiku porasta kalusa zigotnog embriona pšenice. *Savremena poljoprivreda*, 46 (3-4), 37-41.
- LOW, P. S. (1985): Molecular basis of the biological compatibility of nature's osmolytes. In: *Transport Processes, Iono- and Osmoregulation*, R. Gillies and M. Gillies-Baillien (Eds.), Berlin: Springer Verlag, 469-477
- McCUE, K. F., HANSON, A. D. (1990): Drought and salt tolerance: Towards understanding and application. *Trends Biotech.*, 8, 358-362
- MURASHIGE, T., SKOOG, F. (1962): A revised medium for rapid growth on bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15, 473-497.
- ŠESEK, S. (1988): Uticaj genotipa i stadijuma razvijenosti embriona pšenice na regeneraciju

biljaka u kulturi *in vitro*. Savremena poljoprivreda, 36(3-4), 133-142
TAYLOR, C. B. (1996): Proline and water deficit: Ups, Downs, Ins, and Outs. Plant Cell, 8, 1221-1224
WANG, W. X., TZFIRA, T., LEVIN, N., SHOSEYOV, O., ALTMAN, A. (1999): Plant tolerance to water

and salt stress: the expression pattern of a water stress responsive protein (BspA) in transgenic aspen plants. In: Proceed. of the IXth International Congress of the IAPT/CB, Jerusalem, Israel, 14-19 June, 1998, 561-565

USING CALLUS CULTURE TO STUDY THE DROUGHT TOLERANCE OF WHEAT GENOTYPES

by

KONDIĆ ANKICA, ŠESEK S.

SUMMARY

In this paper, we studied the drought tolerance under *in vitro* conditions of two winter wheat (*T. aestivum* L.) cultivars, Košuta and Renesansa. The tolerance was tested on a modified MS (Murashige and Skoog, 1962) nutrient medium to which polyethylene glycol (PEG) was added at three different concentrations: 10%, 20% and 30%. Calluses from the control group were grown on a medium without PEG. After four months of growing on these media, fresh weight and dry matter content in the callus tissue were determined.

We found significant differences in genotype response to different PEG concentrations. The highest concentration (30%) was lethal to the isolated embryos, so at this concentration no calluses formed in any of the genotypes. At 10 and 20% PEG, there was a significant decrease in the fresh callus weight in both genotypes. Thus, at the lowest concentration (10% PEG), the fresh weight decreased by 90% in Košuta and by 93% in Renesansa relative to the control.

Due to callus dehydration in the presence of PEG, the dry matter content in the calluses of both genotypes increased with increasing PEG concentrations in the medium. In Košuta, the dry matter content increased from 8.7% (control) to 24.9% (20% PEG), while in Renesansa it increased from 8.6% (control) to 39.7% (20% PEG).

Key words: drought, tolerance, wheat, embryo culture