

TOLERANTNOST GENOTIPOVA PŠENICE PREMA OLOVU U KULTURI *IN VITRO*

ŠESEK, S., KONDIĆ ANKICA¹

IZVOD: Ispitivan je uticaj pet koncentracija olova (10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} i 10^{-3} M) na porast kalusa i sadržaj suve materije u kalusnom tkivu. Za izolaciju zrelih embriona korišćene su dve sorte ozime pšenice (*Triticum aestivum* L.), Balkan i Proteinka. Embrioni su gajeni na modifikovanoj MS (Murashige and Skoog, 1962) hranljivoj podlozi, kojoj je dodato olovo u obliku $Pb(NO_3)_2$. Kontrolna grupa kalusa je gajena na podlozi, koja nije sadžala olovo. Za vreme kultivacije, praćen je porast kalusnog tkiva, da bi se 30 dana nakon izolacije pristupilo merenju sveže mase kalusa, kao i sadržaju suve materije.

Rezultati su pokazali da su postojale značajne razlike između genotipova, u pogledu njihove reakcije na pojedine koncentracije olova. Najviša koncentracija (10^{-3} M) olova je imala značajan uticaj na smanjenje sveže mase kalusa. Ovo smanjenje je kod sorte Balkan iznosilo 43%, a kod sorte Proteinka 22%, u odnosu na kontrolu. Najviša koncentracija olova, takođe je imala značajan uticaj na sadržaj suve materije u kalusnom tkivu. Tako je kod sorte Balkan došlo do značajnog povećanja sadžaja suve materije (23% u odnosu na kontrolu), dok kod sorte Proteinka povećanje (8,6% u odnosu na kontrolu) nije bilo značajno. Efekat nižih koncentracija olova, koje su ispitivane u ovom eksperimentu, bio je slabije izražen, mada su doze 10^{-6} M kod sorte Balkan i 10^{-7} M kod sorte Proteinka, imale stimulatívno dejstvo na porast kalusnog tkiva.

Ključne reči: pšenica, olovo, tolerantnost, kultura embriona

UVOD: Čovekovu okolinu zagađuje veliki broj organskih i neorganskih jedinjenja, među kojima važno mesto zauzimaju i teški metali. Istraživanja koja su otpočela 60-tih godina pokazala su da zemljišta u različitim delovima sveta, posebno u urbanim i industrijskim područjima, sadrže veoma visoke koncentracije teških metala. Mada u većini poljoprivrednih zemljišta nivo teških metala još uvek nije tako visok da prouzrokuje akutne probleme toksičnosti, ipak povećane koncentracije teških metala u hrani mogu značajno uticati na zdravlje ljudi. Poseban problem predstavljaju metali, koji se preko hrane akumuliraju u organizmu čoveka, kao na primer kadmijum i olovo.

Kontaminacija zemljišta olovom je antropogenog porekla i glavni izvori su: rudnici i topionice, primena otpadnih muljeva, izduvni gasovi vozila i olovo-arsenat ($PbAsO_4$), koji se primenjuje u voćnjacima za suzbijanje insekata (Bogdanović i sar., 1997).

Olovo, koje spada u grupu neesencijalnih teških metala, direktno ili indirektno utiče na čitav niz fizioloških procesa u biljkama. Poznato je da olovo inhibira rastenje ćelija, što se tumači stimulacijom oksidacije aoksina. Takođe je uočeno da olovo pri nižim koncentracijama utiče i na proces deobe ćelija, a pri većim koncentracijama ili u obliku trialkil-Pb, ispoljava mutageno dejstvo u procesu deobe ćelija (Kastori i sar, 1997)

Značajne razlike, koje postoje u reakciji pojedinih vrsta i genotipova na prisustvo visokih koncentracija teških metala u životnoj sredini, pružaju mogućnost da se oplemenjivanjem stvore sorte i hibridi, koji se odlikuju većom tolerantnošću prema metalima i što je još značajnije, manjom akumulacijom teških metala, čime bi se smanjilo njihovo unošenje u lanac ishrane (Kastori i sar, 1997). U poslednje vreme, sve više se koriste *in vitro* metode za testiranje

Originalni naučni rad (Original scientific paper)

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

tolerantnosti genotipova prema teškim metalima (Meredith, 1978; Smith et al., 1983; Parrot and Bouton, 1990; Karsai et al., 1994).

U okviru ovog rada ispitan je uticaj olova na porast kalusa pšenice, kao i na sadržaj suve materije u njima, kako bi se ispitala mogućnost korišćenja *in vitro* kulture embriona za identifikaciju genotipova pšenice, tolerantnih prema ovom metalu.

Materijal i metode

Za izolaciju zrelih embriona korišćene su visokoprinosne sorte ozime pšenice (*Triticum aestivum* L.) Balkan i Proteinka.

Vazdušno suva zrela zrna pšenice su potopana u destilovanu vodu, u trajanju od 4 sata. Nakon toga izvršena je sterilizacija materijala, po proceduri opisanoj u ranijim radovima (Šesek i Kondić, 1997; Kondić i sar., 1998). Izolovani embrioni su inokulisani na modifikovanu MS (Murashige and Skoog, 1962) hranljivu podlogu, kojoj je dodato olovo u pet različitih koncentracija (10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} i 10^{-3} M). Olovo je dodavano u obliku $Pb(NO_3)_2$. Kontrolna grupa embriona je inokulisana na MS podlogu, koja nije sadržala olovo.

Nakon mesec dana gajenja na ovim podlogama, utvrđena je sveža masa kalusa, kao i sadržaj suve materije u njima.

Rezultati su statistički obrađeni metodom analize varijanse, a značajnost razlika

između pojedinih tretmana je utvrđivana pomoću LSD testa.

Rezultati i diskusija

Utvrđena je značajna razlika između ispitivanih genotipova, u pogledu njihove reakcije na pojedine koncentracije olova u podlozi. Pri najvišoj koncentraciji Pb (10^{-3} M), kod sorte Balkan sveža masa kalusa je bila manja za 42% u odnosu na kontrolu, a kod sorte Proteinka za 22%. Kod sorte Balkan, koncentracija od 10^{-6} M Pb je imala stimulativan uticaj na porast sveže mase kalusa, dok ostale koncentracije nisu izazvale značajne promene, u odnosu na kontrolu. Međutim, kod sorte Proteinka, koncentracija od 10^{-4} M je imala inhibitoran, dok je koncentracija od 10^{-5} imala stimulativan efekat na porast kalusa (Tab. 1).

Uticaj olova na sadržaj suve materije u kalusima, takođe, je bio specifičan. Pri najnižim koncentracijama (10^{-7} i 10^{-6} M) Pb, kalusi sorte Balkan su sadržali 6,51% i 6,53% suve materije, što je za 13% manje u odnosu na kontrolu. Pri najvišoj koncentraciji (10^{-3} M) sadržaj suve materije u kalusima ove sorte je bio 9,2%, odnosno za 23% viši nego u kontrolnoj grupi. Za razliku od sorte Balkan, kod sorte Proteinka, olovo nije izazvalo značajne promene u sadržaju suve materije, ni pri jednoj od ispitivanih koncentracija (tab. 1).

Tab. 1. Uticaj različitih koncentracija olova na svežu masu i sadržaj suve materije u kalusima pšenice.

Tab. 1. Effect of different lead concentrations to fresh weight and dry matter content in wheat calluses.

Koncentracija Concentration	Balkan		Proteinka	
	Sveža masa Fresh weight	Suva materija Dry matter content	Sveža masa Fresh weight	Suva materija Dry matter content
(M)	(mg)	(%)	(mg)	(%)
Kontrola	107,0	7,47	101,92	9,26
I (10^{-7})	94,0	6,51-	89,8-	8,88
II (10^{-6})	134,0++	6,53-	93,6	9,64
III (10^{-5})	103,0	8,07	167,8++	9,48
IV (10^{-4})	110,0	7,47	82,9-	9,45
V (10^{-3})	61,3--	9,20++	79,7	10,06
LSD 0,05	13,98	0,9364	13,98	0,9364
0,01	19,33	1,2950	19,33	1,2950

Rezultati, dobijeni u ovom eksperimentu, su pokazali da visoke koncentracije teških metala deluju inhibitorno na porast kalusa. Prema rezultatima koje su saopštili Kastori i sar. (1997) do usporavanja porasta biljaka, pri višim koncentracijama

teških metala, dolazi iz razloga što oni deluju inhibitorno kako na deobu, tako i na izduživanje ćelija.

Pored inhibitornog dejstva visokih koncentracija, uočeno je da niže doze ispitivanih metala imaju stimulativan efekat na

porast kalusa, što je u saglasnosti sa rezultatima Petrović i Kastori (1994), Ernst (1996), Šesek i Kondić (1999).

Do prividnog povećanja sadržaja suve materije u kalusima pšenice, koje je zabeleženo pri najvišoj koncentraciji olova, najverovatnije, nije došlo usled povećanja sinteze organske materije, već iz razloga što su ovi kalusi bili znatno manji i dehidrirani, što je prouzrokovalo značajne promene u odnosu sveža masa kalusa - suva materija. U prilog tome govore i rezultati Kastori et al. (1996) koji su pokazali da u prisustvu većih koncentracija olova, kod mladih biljaka suncokreta dolazi do povećanja vodnog deficita.

Naši rezultati su pokazali da je sorta Proteinka bila tolerantnija prema prisustvu olova u hranljivoj podlozi, odnosno da su između dva ispitivana genotipa postojale značajne razlike u pogledu tolerantnosti. Time je pokazano da se na kalusima pšenice, dobijenim u *in vitro* kulturi zrelog embriona, može uspešno vršiti testiranje tolerantnosti prema teškim metalima, kojom prilikom je u najviše mogućoj meri eliminisan uticaj spoljašnje sredine. Do sličnog zaključka su došli Karsai et al. (1994).

Zaključak

Dobijeni rezultati su pokazali da visoka koncentracija olova (10^{-3} M) u podlozi ima inhibitorni efekat na porast kalusnog tkiva, kao i značajan uticaj na sadržaj suve materije u kalusima. S druge strane, niske koncentracije olova (10^{-5} i 10^{-6} M) su imale stimulatívni efekat na porast kalusa pšenice. Pored toga, postojale su značajne razlike između genotipova u pogledu tolerantnosti prema prisustvu olova u hranljivom supstratu: tako je sorta Proteinka ispoljila značajno viši nivo tolerantnosti prema olovu, u poređenju sa sortom Balkan.

LITERATURA

- BOGDANOVIĆ, DARINKA, UBAVIĆ, M., HADŽIĆ, V. (1997): Teški metali u zemljištu. U: R. Kastori (Ed.), Teški metali u životnoj sredini, Feljton, Novi Sad, 95-152.
- ERNST, W. H. O. (1996): Phytotoxicity of heavy metals. In: Fertilizers and Environment. Rodriguez-Barrueco, C. ed., Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, 423-430.
- KARSAI, I., BED, Z., KOVCS, G., BARNAB, S. B. (1994): The effect of *in vivo* and *in vitro* aluminium treatment on anther culture response of triticale x wheat hybrids. J. Genet. & Breed., 48, 353-358.
- KASTORI, R., PETROVIĆ, N., PETROVIĆ, M. (1996): Effect of lead on water relations, proline content and nitrate reductase activity in sunflower plants. Acta Agronomica Hungarica, 44, 21-28.
- KASTORI, R., PETROVIĆ, N., ARSENIJEVIĆ-MAKSIMOVIĆ, I. (1997): Teški metali i biljke. U: R. Kastori (Ed.), Teški metali u životnoj sredini, Feljton, Novi Sad, 195-257.
- KONDIĆ, ANKICA, ŠESEK, S., PEKARIĆ-NAĐ, NEDA (1998): Uticaj pulzirajućeg elektromagnetnog polja na dinamiku porasta kalusa zigotnog embriona pšenice. Savremena poljoprivreda, 46 (3-4), 37-41.
- MEREDITH, C. R. (1978): Response of cultured tomato cells to aluminium. Plant Sci. Letters., 12, 17-24.
- MURASHIGE, T., SKOOG, F. (1962): A revised medium for rapid growth on bioassay with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15, 473-497.
- PARROT, W. A., BOUTON, J. H. (1990): Aluminium tolerance in alfalfa as expressed in tissue culture. Crop. Sci., 30, 387-389.
- PETROVIĆ, N., KASTORI, R. (1994): Uptake, distribution and translocation of nickel (^{63}Ni) in wheat. J. Food Physics, 1, 71-73.
- SMITH, R. H., BHASKARAN, S., SCHERTZ, K. (1983): *In vitro* selection for aluminium tolerant sorghum plants. Plant Physiol., 72, 142.
- ŠESEK, S., KONDIĆ, ANKICA (1997): Primena kalusne kulture u selekciji genotipova pšenice tolerantnih na visoke koncentracije soli (NaCl). Selekcija i semenarstvo, 4(1-2), 55-59.
- ŠESEK, S., KONDIĆ, ANKICA (1999): Effect of lead and cadmium on callus growth and dry matter content in zygotic embryo culture. Zbornik Matice srpske za prirodne nauke/Proceedings for Natural Sciences, Matice Srpska, Novi Sad, 97, 57-62.

TOLERANCE OF WHEAT GENOTYPES TO LEAD IN *IN VITRO* CULTURE

ŠESEK S., KONDIĆ ANKICA

SUMMARY

We studied the effects of five lead concentrations (10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} and 10^{-3} M) on callus growth and dry matter content in the callus tissue. Two winter wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars, Balkan and Proteinka, were used to isolate mature embryos. The embryos were grown on a modified MS (Murashige and Skoog, 1962) nutrient medium to which lead in the form of $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ was added. Calluses from the control group were grown on a lead-free medium. During cultivation, the growth of callus tissue was observed until, 30 days after isolation, fresh callus weight and dry matter content were measured.

The results showed that there were significant differences between the genotypes with regard to their response to certain lead concentrations. The highest concentration (10^{-3} M) significantly decreased fresh callus weight relative to the control - by 43% in Balkan and 22% in Proteinka. At the same lead concentration, the callus tissue dry matter content of Balkan increased significantly (23% relative to the control), while the increase of the same parameter in Proteinka was not significant (8.6% relative to the control). The lower lead concentrations had a less pronounced effect, although the 10^{-6} M dose had a stimulatory effect on callus tissue growth in Balkan, while the 10^{-7} M one had the same effect in Proteinka.

Key words: wheat, lead, tolerance, embryo culture