

Porovnání vlivu kademnatých iontů na raná somatická embrya jedle a smrku

COMPARISON OF INFLUENCE OF CADMIUM(II) IONS ON EARLY SOMATIC EMBRYOS OF SPRUCE AND FIR

Olga Kryštořová, Petr Majzlík, Josef Zehnález, Ladislav Havel, Vojtěch Adam, René Kizek – Mendelova univerzita v Brně

Kultivace *in vitro* umožňuje produkovat v krátkém časovém období na relativně malém prostoru velké množství rostlin z explantátů, které byly odebrány z elitních stromů nebo z hybridů získaných kontrolovaným opylením, případně z geneticky modifikovaných kultur. Jednou z takových metod je právě somatická embryogeneze. Studium vlivu různých stresových faktorů na embryonální kulturu umožňuje zkoumat její reakce na geneticky stejnorodém materiálu v relativně přesně vymezených podmínkách *in vitro*. Proto jsme se v naší práci zabývali vlivem kademnatých iontů na raná somatická embrya smrku a jedle, u kterých jsme svou pozornost zaměřili především na růst, obsah akumulovaného kadmia a metabolické znaky včetně aktivity enzymu glutathion-S-transferázy.

Materiál a metody

Použitým rostlinným materiálem byly kultury raných somatických embryí (RSE) smrku ztepilého (*Picea abies*), linie 2/32 a kříženec jedle bělokoré (*Abies alba* Mill.) a jedle alžírské (*Abies numidica* De Lan.), linie AN 72. Obě kultury byly vystaveny působení kademnatých iontů (0, 50, 250 a 500 μM) po dobu jedenácti dní.

Výsledky a diskuze

Je známo, že těžké kovy ovlivňují nejen růst rostlin, ale také metabolické procesy v nich. Proto jsme se v našich experimentech zaměřili na stanovení některých metabolických ukazatelů. Prvním sledovaným ukazatelem bylo stanovení celkového množství proteinů u RSE. Ze získaných výsledků vyplývá, že i přes prokazatelně inhibiční vliv kademnatých iontů na tvorbu proteinů u jednotlivých aplikovaných koncentrací, dochází po dobu trvání experimentu k postupnému nárůstu jejich obsahu. Nejvyšší koncentrace proteinů u variant RSE ovlivněných kademnatými ionty byly naměřeny u koncentrací 50 μM a nejnižší u koncentrací 500 μM . Zjištěná inhibice syntézy proteinů u variant ovlivněných kademnatými ionty v porovnání s kontrolou činí o 0,2–0,5 mg proteinu na 1 mg embryí méně. Thiolové sloučeniny jsou známé svou schopností vytvářet s těžkými kovy komplexy a ty ukládat v rostlinných vakuolách a zneškodnit je tak. Proto druhým sledovaným parametrem byl celkový obsah -SH skupin. Analýzou byly zjištěny první rozdíly v reakci vybraných experimentálních rostlin (RSE smrku a jedle) na kademnaté ionty. RSE smrku vykazovaly po celý experiment nárůst koncentrace -SH skupin, přičemž koncentrace -SH skupin vzrůstala se vzrůstající koncentrací působícího kovu. V porovnání s kontrolou byly stanoveny rozdíly až 1 mmol na mg embryí. Oproti tomu u RSE jedle byl stanoven oproti kontrole pokles koncentrace -SH skupin po celou dobu experimentu, přičemž stanovené koncentrace u variant vystavených působení kademnatých iontů byly podobné (okolo 3 mmol

na 1 mg embryí). Třetím sledovaným spektrometrickým parametrem byla aktivita glutathion-S-transferázy (GST) jako enzymu, který velmi úzce souvisí s metabolismem thiolových sloučenin, především redukovaným glutathionem, který je prekurzorem pro řadu dalších biologicky aktivních látek včetně kov-vázajících vyšších peptidů – fytochelatinů. V porovnání s kontrolou byl u RSE smrku sledován nárůst aktivity, po celou dobu experimentu u všech variant vystavených působení kademnatých iontů. Z výsledků je patrné, čím vyšší byla koncentrace působícího kovu, tím vyšší byla aktivita GST. Tento rozdíl se pohyboval v rozmezí 0,04–0,06 nmol. min⁻¹ na 1 mg embryí. U RSE jedle byl také pozorován v porovnání s kontrolou u variant vystavených působení kademnatých iontů nárůst enzymové aktivity GST, ovšem nejvyšší aktivity byly stanoveny u koncentrace 250 mM ve 4. a 7. dnu experimentu, kde byla aktivita vyšší o 0,11–0,13 nmol.min⁻¹ na 1 mg embryí. Kromě růstových charakteristik a vlivu kademnatých iontů na metabolisme rostlin, jsme se dále zaměřili na sledování schopnosti embryí přijímat kadmium. Proto jsme v průběhu experimentu stanovili obsah kadmia pomocí elektrochemické metody v RSE smrku a jedle. U obou experimentálních rostlin byl potvrzen nejen příjem kovu RSE, ale také v případě RSE smrku vzrůstající obsah kovu v čase. Také bylo zjištěno, že čím vyšší koncentraci kademnatých iontů na RSE působila, tím více kovu v nich bylo stanoveno. Ze získaných výsledků bylo zjištěno, že RSE smrku i jedle jsou schopny přijmout až 1/4 kovu, kterému jsou vystaveny.

Poděkování: Tato práce byla podpořena grantem REMEDTECH GA ČR 522/07/0692, IGA MENDELU TP 1/2010 a GA ČR 204/09/H002.

Kryštořová O., Majzlík P., Zehnález J., Havel L., Adam V., Kizek R.: Comparison of influence of cadmium(II) ions on early somatic embryos of spruce and fir

In this eleven-days-long study, we have investigated the influence of cadmium(II) ions (0, 50, 250 and 500 μM) on early somatic embryos of spruce and fir. We have paid our attention mainly to growth, content of accumulated cadmium and metabolomic characters including the activity glutathione-S-transferase. It follows from the comparing of the results obtained that fir hybrid showed positive features in the growth characteristics, while spruce shown better metabolomic indicators. Early somatic embryos of spruce had the greater ability of uptaking cadmium(II) ions.

Key words: spruce, fir, early somatic embryos, metabolome, cadmium.

Kontaktní adresa – Contact address:

prof. RNDr. Ladislav Havel, CSc., Mendelova univerzita v Brně, Ústav biologie rostlin, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika, e-mail: lhavel@mendelu.cz