

VLIV TEPLoty A VLHKOSTI NA PRŮBĚH DESIKACE SOMATICKÝCH EMBRYÍ SMRKU

Zuzana Vondráková, Kateřina Eliášová, Alena Trávníčková,
Pavčina Bečvářová a Milena Cvikrová



Institute of Experimental Botany AS CR, Rozvojová 263, 165 02 Prague 6, Czech Republic
E-mail: vondrakova@ueb.cas.cz

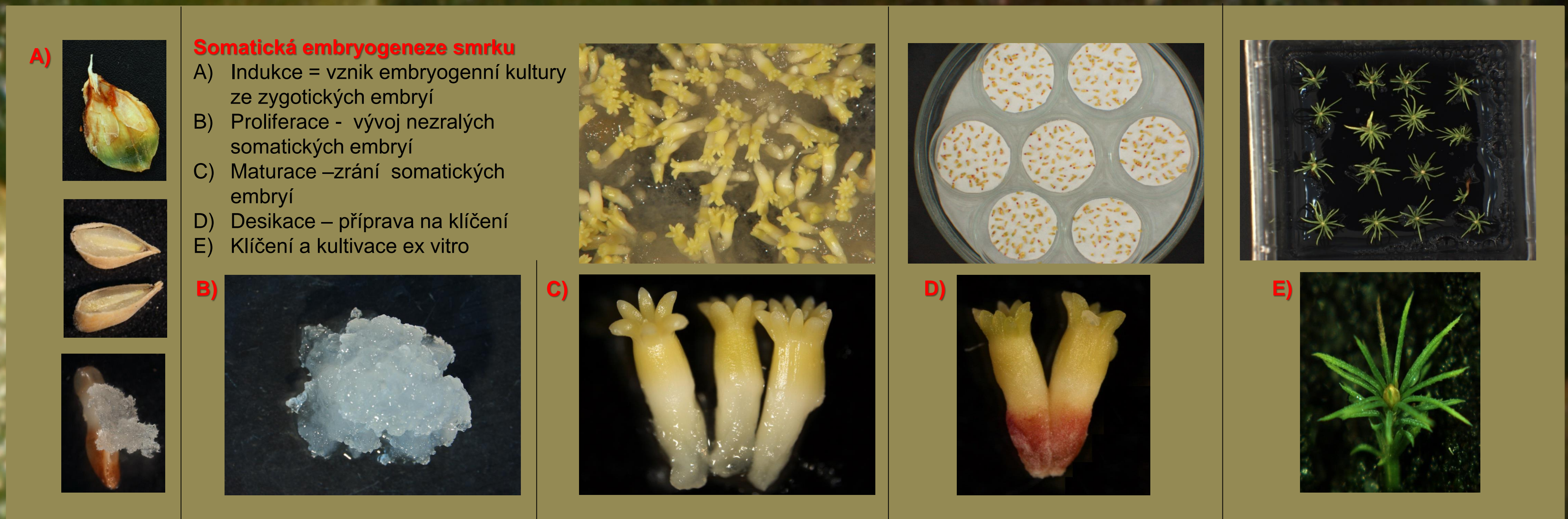
Úvod

Abiotické stresy indukují jak změny morfologie rostlin, tak změny na úrovni fyziologických a biochemických procesů. Zvýšená produkce a akumulace reaktivních forem kyslíku (reactive oxygen species – ROS) je první odpovědí rostlin na environmentální stres. Vysoké hladiny ROS působí jako primární elicitor, který spouští obrannou reakci rostliny. Zvýšená hladina ROS však může být současně původcem oxidativního poškození enzymových komplexů a struktury DNA a proto je detoxifikace ROS pro rostlinu velmi důležitá. Mezi vysoce efektivními antioxidanty se řadí polyaminy (především putrescin (Put), spermidin (Spd) a spermin (Spm)). Jejich biologická aktivita je podmíněna interakcí s negativně nabitými molekulami nukleových kyselin, fosfolipidů, proteinů apod., které jsou těmito vazbami chráněny před oxidativním poškozením. Klíčové postavení ve stresové odpovědi rostlin zaujímá též kyselina abscisová (ABA), která ovlivňuje metabolické změny související s aktivací biosyntetických cest.

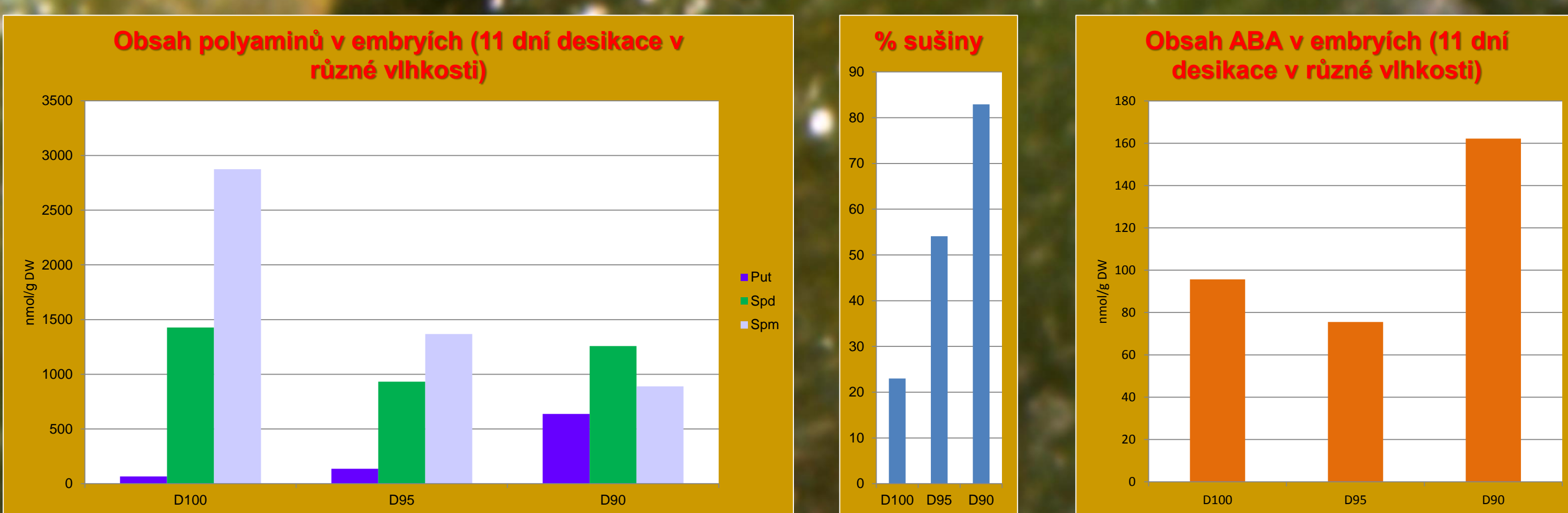
Cílem práce bylo ověření vztahu mezi mírou abiotického stresu (vyvolaného vlivem zvýšené teploty a snížené vlhkosti) a změnami obsahu endogenních polyaminů a kyseliny abscisové.

Materiál

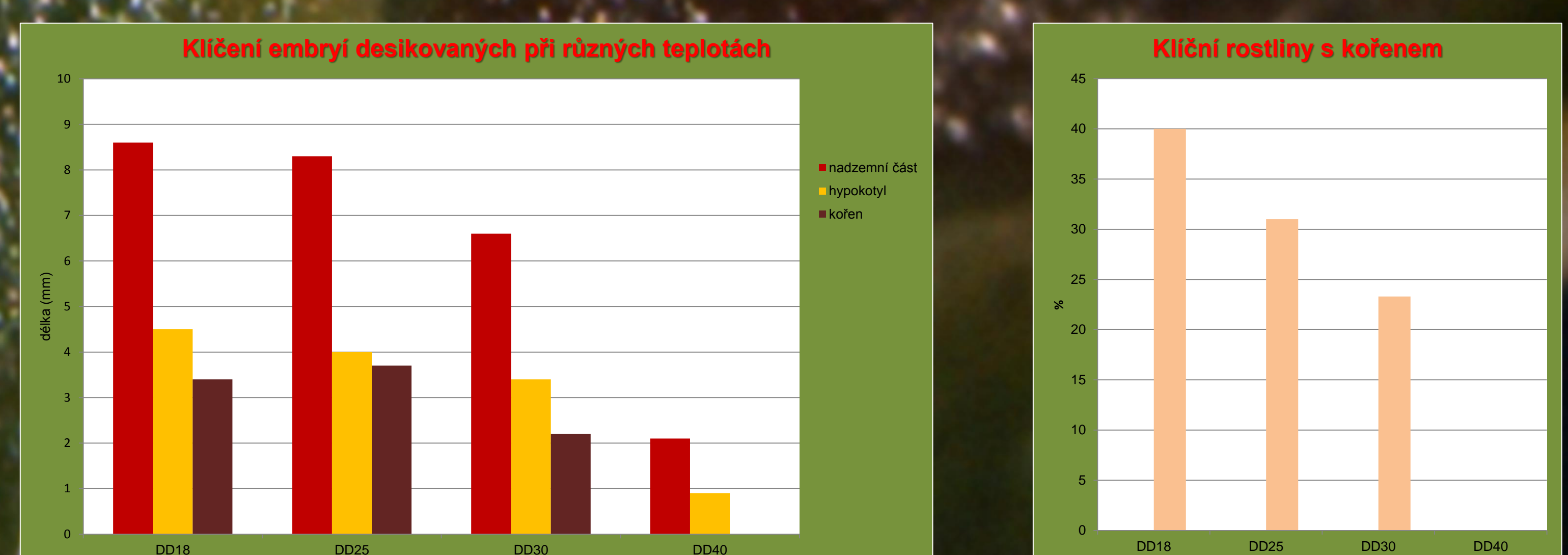
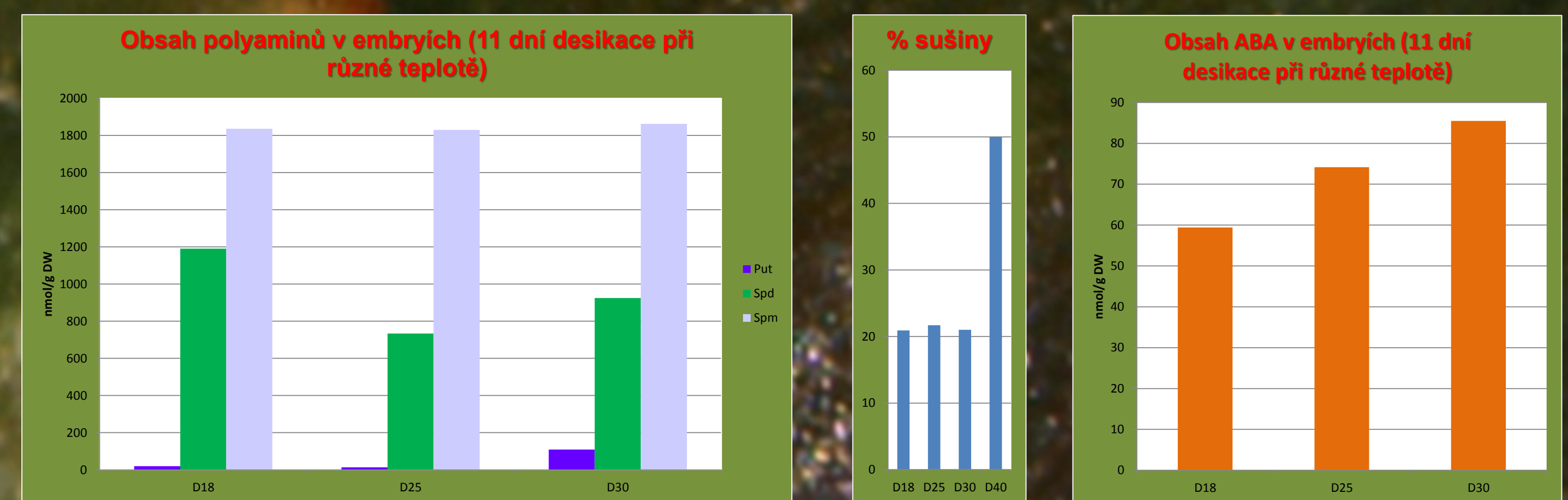
K testování stresového působení využíváme somatická embrya smrku (*Picea abies*). Vliv stresu zasušením nebo zvýšenou teplotou aplikujeme v průběhu desikace. V tomto kroku somatické embryogeneze se zralá embrya před klíčením kultivují bez živného média; dochází u nich k částečnému snížení obsahu vody a dokončují se biochemické procesy nezbytné pro úspěšné klíčení. Průběh desikace významně ovlivňují vnější podmínky, především vlhkost a teplota.



Stres suchem v průběhu desikace (AFO)



Teplotní stres v průběhu desikace (OP22)



- desikace v 90% vlhkosti způsobuje inhibici růstu nadzemní části klíčící rostliny a stimulaci růstu kořenů. Klíčící rostliny z embryí desikovaných v 95% a 100% vlhkosti se výrazně neliší
- stres sušením se projevuje zvýšením hladiny putrescinu a snížením hladiny spermidinu v desikovaných embryích; dochází ke změně poměru Put/Spd
- hladina ABA je zvýšena v embryích desikovaných v 90% vlhkosti – vystavených největšímu stresu
- obsah sušiny v embryích je úměrný vlhkosti při desikaci

- desikace embryí při vyšší teplotě způsobuje inhibici růstu nadzemní části klíčících rostlin i zakládání kořenů (Teplota 40°C je likvidační.)
- stres zvýšenou teplotou se projevuje zvýšením hladiny putrescinu a mírným snížením hladiny spermidinu v desikovaných embryích; dochází ke změně poměru Put/Spd
- hladina ABA je zvýšena v embryích desikovaných při vyšší teplotě
- Obsah sušiny je srovnatelný v embryích desikovaných při teplotách 18, 25 a 30°C; embrya zlikvidovaná nejvyšší teplotou nerostou, zasychlají – mají nejvyšší obsah sušiny

Závěry:

- Míru stresu lze charakterizovat pomocí změn hladiny ABA; její zvýšení je úměrné síle abiotického stresu, kterému byla embrya vystavena
- Zvyšování hladiny putrescinu odpovídá míře stresu, kterému byla embrya vystavena; stejně jako změny v poměru Put/Spd
- Při hodnocení míry stresu je nutné započítat také dynamiku odpovědi na stres a schopnost/rychlost se se stresovými podmínkami vyrovnat

Metodika

Embryogenní kultura smrku, genotyp AFO byla získána z laboratoře AFOCEL z Francie a byla použita pro testování vlivu sucha. Vliv teploty byl zjišťován na genotypu OP22, který byl odvozen na ÚEB ze semen smrku z Průhonice. Stresové podmínky byly aplikovány v první polovině desikace (11 dní). Kultivace a příprava materiálu je detailně popsána v článku: Gemperlová, L., Fischerová, L., Cvikrová, M., Malá, J., Vondráková, Z., Martincová, O., Vágnér, M.: Polyamine profiles and biosynthesis in somatic embryo development and comparison of germinating somatic and zygotic embryos of Norway spruce, *Tree Physiology* 29(10): 1287-1298, 2009. Regulace vlhkosti v desikaci byla provedena podle článku: Roberts, D.R., Sutton, B.C.S., Flinn, B.S.: Synchronous and high frequency germination of interior spruce somatic embryos following partial drying at high relative humidity, *Can. J. Bot.* 68: 1086-1090, 1990.

Extrakce a HPLC analýzy benzylovaných polyaminů je popsána v článku: Slocum, R.D., Flores, H.E., Galston, A.W., Weinstein, L.H.: Improved method for HPLC analysis of polyamines, agmatine and aromatic monoamines in plant tissue, *Plant Physiology* 89: 512-517, 1989; extrakce ABA v článku: Kosová, K., Prášil, I.T., Vítámvás, P., Dobrev, P., Motyka, V., Floková, K., Novák, O., Turetková, V., Rolčík, J., Pešek, B., Trávníčková, A., Gaudinová, A., Galiba, G., Janda, T., Vlasáková, E., Prášilová, P., Vaňková, R.: Complex phytohormone responses during the cold acclimation of two wheat cultivars differing in cold tolerance, winter Samanta and spring Sandra, *J Plant Physiol.* 169:567-576, 2012.