

Dace Grauda¹, Ludmila Sarnavska², Andra Miķelsone¹, Isaak Rasha¹

¹-Instytut Biologii, Uniwersytet Łotewski, ²-Latvian Institute of Humic Substances (Łotewski Instytut Substancji Humusowych)

Wprowadzenie

Kultury kalusa stanowią idealny system do wykrywania wpływu różnych substancji biologicznie aktywnych na wzrost i rozwój komórek (zamknięty system, w którym wszystkie warunki wzrastania są pod kontrolą). Zostały one wykorzystane do określenia wpływu różnych substancji: fitohormonów, przeciwutleniaczy, wyciągów roślinnych, aminokwasów, AgNO₃ i innych. Kultury kalusa mogą być bardzo użyteczne w badaniu aktywności biologicznej substancji humusowych, powszechnie znanych jako materiał przyspieszający wzrost roślin oraz zwiększający odporność na biotyki i stres biotyczny.

Cel badania

Identyfikacja wpływu substancji humusowych obecnych w preparacie Humate Green Ok opracowanym przez Łotewski Instytut Substancji Humusowych na kultury kalusa somatycznego lnu.

Materiały oraz Metody

Początkowe kultury uzyskano z nasion lnu. Zastosowano dwuetapową sterylizację.

- 1) wstępne zastosowanie roztworu KMnO₄ w wodzie (stężenia i ciążłość zależne są od rozmiarów nasion);
- 2) sterylizacja końcowa w 50% roztworze środka dezynfekującego przez 20 minut.

Wysterylizowane nasiona doprowadzono do kiełkowania na podłożu Murashige'a i Skooga z dodatkiem 10 mg/l AgNO₃.

Kultury kalusa

Jako nośnik wywołujący wzrost kalusa wykorzystano podłoże Murashige'a i Skooga tylko z dodatkiem 1mg/l kwasu 2,4-dichlorofenoksyoctowego (2,4-D) lub podłoże Murashige'a i Skooga z dodatkiem 1mg/l kwasu 2,4-dichlorofenoksyoctowego (2,4D) i 1mg/l 6-benzyloaminopuryny (BAP).

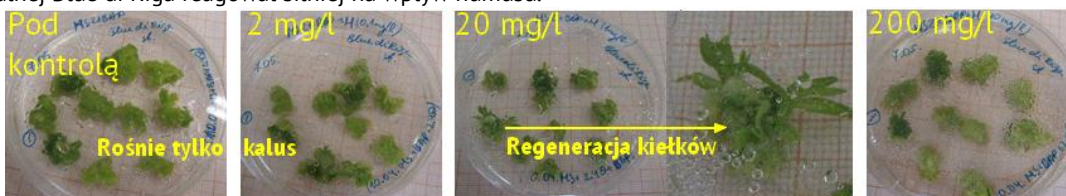
Jako eksplanty wykorzystano różne części (fragmety liści i łodygi) sadzonek lnu z początkowych kultur dwóch odmian („Lirina” – odmiana lnu oleistego i „Blu di Riga” - odmiana łotewska).



W celu wykrycia aktywności humusowej kalus zaszczepiono na podłożu Murashige'a i Skooga z dodatkiem 2 mg/l 6-benzyloaminopuryny (BAP) (pod kontrolą) albo na podłożu Murashige'a i Skooga z dodatkiem 2 mg/l 6-benzyloaminopuryny (BAP), o różnych stężeniach (2 mg/l, 20 mg/l, 200 mg/l) humusu. Zaszczepiono 320 próbek kalusa (20 na każdym nośniku). Kalus poddano badaniu po trzech tygodniach wzrostu i rozwoju.

Wyniki

Badany humus charakteryzuje się dość wysoką aktywnością fitohormonalną – po dwóch tygodniach hodowli na podłożu ze stężeniem humusu wyższym niż 20 mg/l zaobserwowano regenerację kielzków (ponad 10 na kalus). Kalus odmiany lokalnej Blue di Riga reagował silniej na wpływ humusu.



Uprawa komórek kalusa i ich wzrost na nośnikach uzupełnionych humusem

Wniosek

W wykorzystanym systemie in vitro kalusa lnu substancje humusowe w stężeniach od 20 mg/l wykazały raczej wysoką aktywność auksyny stymulującą szybkie formowanie korzeni. Użyty humus jest doskonały do zwiększania zdolności regeneracji kultur kalusa somatycznego lnu i prawdopodobnie, w optymalnych stężeniach, może zostać użyty jako zamiennik syntetycznej auksyny w kulturach tkanek roślinnych różnych gatunków roślin.

W związku z udowodnioną aktywnością biologiczną, badane substancje humusowe mogą być potencjalnie wykorzystywane jako regulatory wzrostu roślin, co powinno stanowić przedmiot dodatkowych badań.