

THE INFLUENCE OF CD AND ZN ON FLAX (*LINUM USITATISSIMUM* L.) GROWTH IN *IN VITRO* CONDITIONS

VLIV CD A ZN NA RŮST LNU (*LINUM USITATISSIMUM* L.) V PODMÍNKÁCH *IN VITRO*

Blažek O.¹, Tejklová E.², Griga M.², Zimolka J.¹

¹Ústav Pěstování a šlechtění rostlin, Agronomická fakulta, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika.

²AGRITEC, výzkum, šlechtění a služby s.r.o., Zemědělská 16, 787 01 Šumperk, Česká republika.

E-mail: blazek@mendelu.cz , griga@agritec.cz

ABSTRACT

The effect of heavy metals (Cd, Zn) on flax growth in *in vitro* conditions were studied. The vitality of callus and the stems growth among 20 (19 for Zn) cultivars of flax/linseed in the presence of 0,05 mM.l⁻¹ Cd(NO₃)₂.4H₂O and 2 mM.l⁻¹ ZnSO₄.7H₂O in MS medium were observed. The experiment showed intervarietal differences. (All values were compared with the control) The range of the cultivars' vitality are 20-116% (Cd) and 27-94% (Zn), the range of plants with stems are 22-126% (Cd) and 5-42% (Zn), the range of stems number per plant are 20-197% (Cd) and 3-33% (Zn), and the range of stems length are 41-143% (Cd), 13-280% (Zn).

Keywords: flax, linseed, Cd, Zn, *in vitro*, tolerance

ABSTRAKT

Byl studován vliv těžkých kovů (Cd, Zn) na růst lnu v podmínkách *in vitro*. Byla sledována vitalita kalusu a růst prýtů za přítomnosti 0,05 mM.l⁻¹ Cd(NO₃)₂.4H₂O a 2 mM.l⁻¹ ZnSO₄.7H₂O v MS médiu u 20 (19 pro Zn) odrůd přadného a olejného lnu (přadný len: bonet, diana, electra, escalina, ilona, jitka, jordán, laura, marina, merkur, raisa, super, tábor, texa, venica, viking, viola a olejný len: atalante, flanders, lola). Odrůdy vykazovaly velké meziodrudové rozdíly. Byla hodnocena vitalita rostlin, počet rostlin s prýty, počet a velikost prýtů na rostlinách a bylo provedeno srovnání růstu s kontrolou. Vitalita odrůd se pohybovala v rozmezí 20-116% u Cd, u Zn to bylo 27-94%. Počet rostlin s prýty s Cd byl 22-126%, u Zn 5-42%. Počet prýtů na rostlinu se pohyboval v rozmezí 20-197% u Cd a 3-33% u Zn. Délka prýtů byla v rozmezí 41-143% u Cd a 13-280% u Zn.

Klíčová slova: len, Cd, Zn, *in vitro*, tolerance

ÚVOD

Len patří mezi perspektivní druhy rostlin, které lze využít pro dekontaminaci půdy znečištěné činností člověka. Výhody pěstování lnu oproti jiným kulturním rostlinám jsou v hromadění relativně vysokého množství těžkých kovů v rostlinách a jejich nepotravinářské využití. Další významnou výhodou je nízká akumulace zdraví škodlivých látek v semeni, což umožňuje potravinářské využití této rostlinné části. Při použití semen v potravinářství se však musí sledovat přípustné limity cizorodých látek³.

V současné době probíhá screening rostlin převážně na úrovni druhu. Získané informace o schopnosti rostlin akumulovat dané polutanty lze použít jako hledisko následného výběru vhodných kandidátů. V rámci druhu je nutné testovat rostliny na úrovni odrůd, jelikož existuje odrůdová difference^{1,2}. Právě tímto screeningem můžeme získat nejvhodnější rostliny v rámci druhu, které se budou vyznačovat vhodnými vlastnostmi z hlediska příjmu polutantů a jejich tolerancí.

Cílem experimentu bylo testování v ČR registrovaných odrůd lnu setého na toleranci k těžkým kovům v podmínkách in vitro.

METODIKA

V podmínkách in vitro bylo testováno 20 (19 bez odrůdy bonet u Zn) odrůd lnu setého (*Linum usitatissimum* L.) (odrůdy přadného lnu: bonet, diana, electra, escalina, ilona, jitka, jordán, laura, marina, merkur, raisa, super, tábor, texa, venica, viking, viola a olejného lnu: atalante, flanders, lola) na toleranci ke kadmiu a zinku.

Rostliny byly pěstovány na modifikovaném MS médiu⁴ s přidavkem kadmia ($0.05 \text{ mM.l}^{-1} \text{ Cd(NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) a zinku ($2 \text{ mM.l}^{-1} \text{ ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$).

Kultivační cyklus, který trval 63 dní se sestával z několika částí. Nejprve byl proveden sterilní výsev semen. Ta byla sterilizována 1 minutu v 96% etanolu, po omytí destilovanou vodou po dobu 30 minut v 5% chloraminu B, následně opět omyta vodou a vyseta na filtrační papír do sklenic v počtu 5-10 semen na sklenici, od každé odrůdy bylo použito 16 sklenic. Za konstantních podmínek (21°C , 3000 lux, 16 hod světlo a 8 hod tma) rostly rostliny 7 dnů. Poté byly jejich hypokotylы nařezány na 5 mm segmenty, které byly následně přeneseny na MS LI médium (NAA $0,005 \text{ }\mu\text{M}$ a $1 \text{ }\mu\text{M}$ BAP). Do sklenice se dávalo 5 segmentů hypokotylu, pro jednotlivé odrůdy celkově 20-50 segmentů v závislosti na počtu opakování. Po dalších 7 dnech byly segmenty přeneseny na MS L médium (NAA $0,005 \text{ }\mu\text{M}$ a BAP $0,05 \text{ }\mu\text{M}$). Po 21 dnech byly narostlé rostliny zbaveny kořenu a prýtů a přeneseny na MS L médium s

přítomností kadmia nebo zinku a na kontrolní médium. Po dalších 21 dnech se provedlo hodnocení rostlin. Sledován byl počet vitálních a nekrotických rostlin, počet prýtu a délka prýtů.

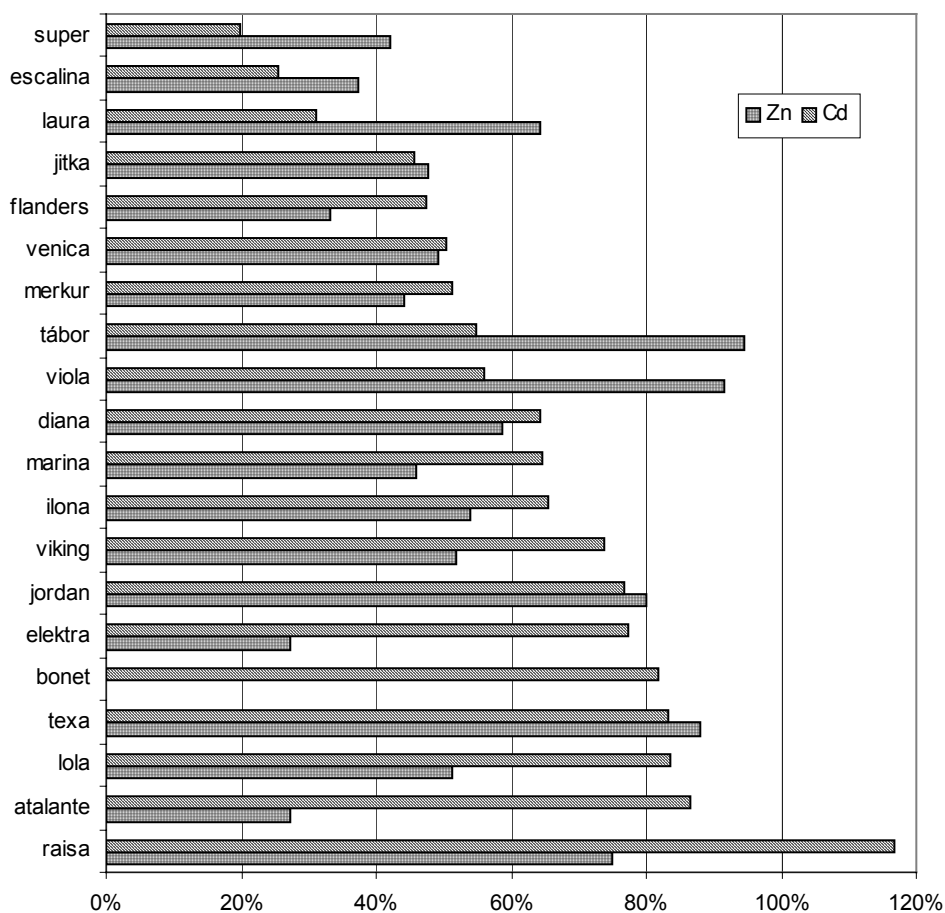
Nameřené hodnoty u jednotlivých odrůd pro Cd a Zn byly porovnány s kontrolou a vyjádřeny v procentech růstu oproti kontrole.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Použitá koncentrace Cd a Zn nebyla srovnatelná z hlediska toxicity na rostliny. Koncentrace Cd byla pro rostlinu méně toxická nežli koncentrace Zn, což se také projevilo na růstu. Především růst kořenů byl při 2 mM.l⁻¹ koncentraci Zn u většiny odrůd zcela potlačen, proto hodnoty ani nebyly prezentovány.

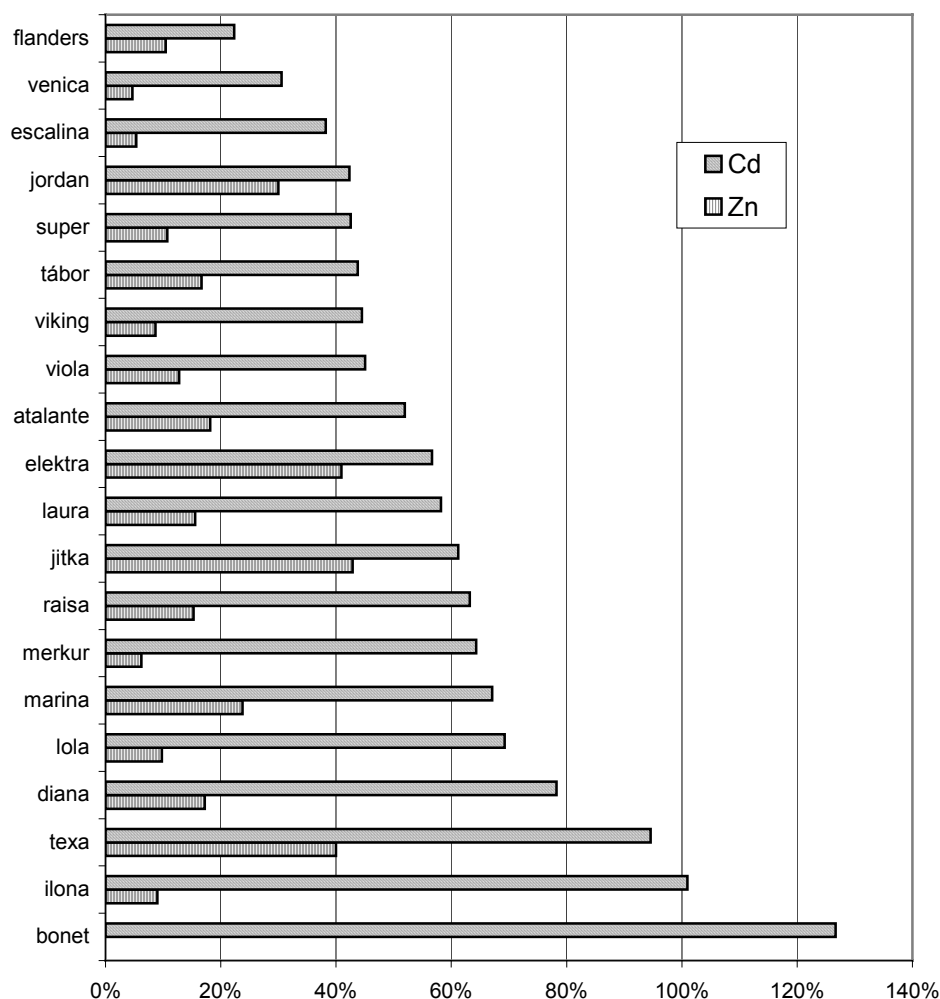
Vztah mezi vitalitou rostlin a přítomností Cd nebo Zn v médiu je znázorněn v *Tab. 1*.

Tab. 1: Vitalita rostlin (poměr mezi vitalitou na kontaminovaném médiu a kontrolou vyjádřen v %), rostliny byly srovnány podle reakce na Cd



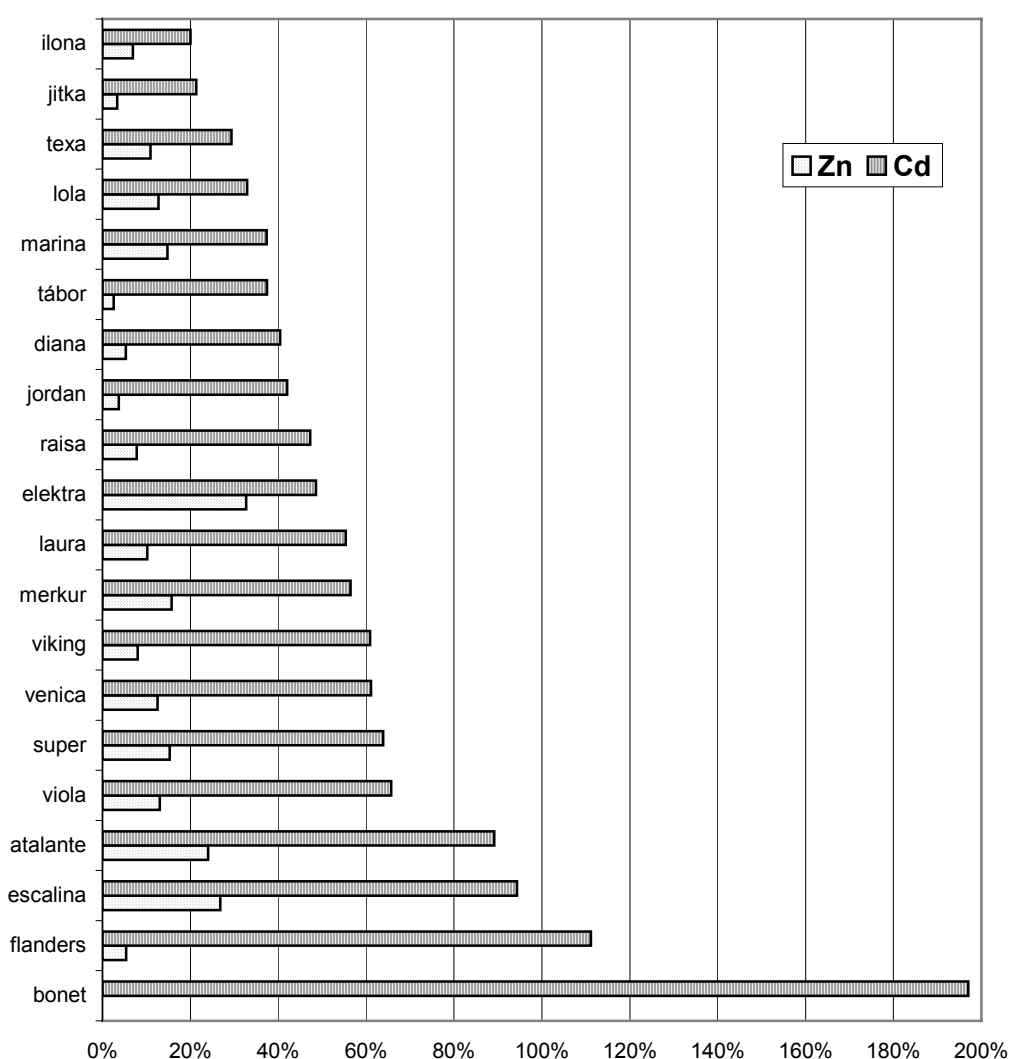
Tabulka ukazuje výrazné meziodrůhové rozdíly v toleranci. U Cd se odrůdové rozpětí pohybovalo od 20-116% vitality oproti kontrole, u Zn to bylo 27-94% vitality kontroly. Toto široké rozpětí ukazuje na velkou meziodrůhovou variabilitu pro toleranci k těžkým kovům. Zatímco některé odrůdy (atalante, electra) vykazovali velmi vysokou toleranci k Cd kolem 80% (pro danou koncentraci Cd), pro toleranci k Zn se jeví jako nejhorší s necelými 30%, jiné odrůdy (texa, jordan) jeví podobnou toleranci k oběma prvkům. Velmi vysokou toleranci (nad 75%) k Cd mají odrůdy raisa, atalante, lola, texa, bonet, electra, jordan, vysokou toleranci k Zn pak odrůdy tábor, viola, texa, jordan, raisa (ve srovnání k ostatním odrůdám).

Tab.2: Počet rostlin s prýty (poměr mezi vitalitou na kontaminovaném médiu a kontrolou vyjádřena v %), rostliny byly srovnány podle reakce na Cd



Vliv přítomnosti Cd a Zn na počet rostlin s prýty, ukazuje *Tab. 2*. Graf ukazuje opět výrazné meziodrůdové rozdíly, pro Cd bylo rozmezí hodnot u jednotlivých odrůd 22-126%, pro Zn 5-42%. Diana, texa, ilona a bonet projevily velmi vysokou (nad 75% kontroly) schopnost vytvářet prýty v podmínkách s přítomností Cd. Zn měl vyšší inhibiční vliv na růst prýtu a u žádné odrůdy nedosahoval růst ani 50% kontroly. Odrůdy texa, jitka a electra vytvářeli nejvíce prýtu o více než 75% oproti nejlépe rostoucí odrůdě jitka.

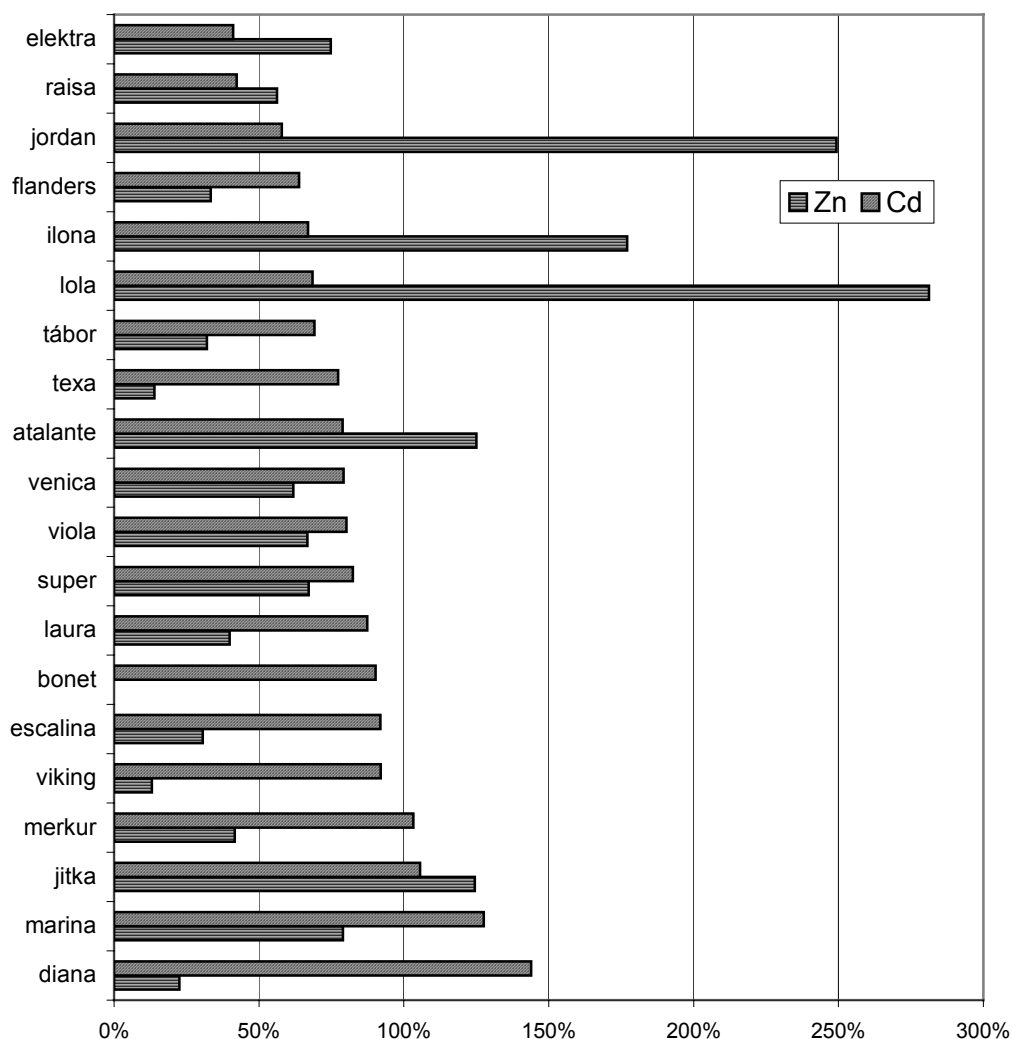
Tab. 3: Počet prýtů na rostlinu (poměr mezi vitalitou na kontaminovaném médiu a kontrolou vyjádřena v %), rostliny byly srovnány podle reakce na Cd



Počet prýtů na rostlině a jejich velikost jsou uvedeny v *Tab. 3., 4.* Počet prýtů se pohybuje v rozmezí 20-197% u Cd a 3-33% u Zn oproti kontrole. Především u Cd jsou tyto rozdíly značné, u odrůdy bonet mělo kadmium dokonce stimulační efekt, velmi dobrou

toleranci mají i odrůdy flanders, escalina a atalante, a na Zn odrůdy escalina, atalante a electra. Délka prýtu byla v rozmezí 41-143% u Cd a 13-280% u Zn. Některé odrůdy (jordan, ilona a lola), které vytvořily dlouhé prýty u Zn (177-281% růstu kontroly), byl jejich počet velmi malý (4-13 % růstu kontroly). U Cd takové rozdíly nebyly zjištěny.

Tab. 4. Délka prýtů na rostlině (poměr mezi vitalitou na kontaminovaném médiu a kontrolou vyjádřena v %), rostliny byly srovnány podle reakce na Cd



ZÁVĚR

Z provedeného experimentu vyplývá, že existují meziodrůdové rozdíly v toleranci k Cd a Zn, jak ukazují přiložené tabulky a komentář k nim. Při výběru vhodných rostlin využitelných pro pěstování na kontaminovaných lokalitách je třeba orientovat se nejen na rostlinné druhy, ale i jednotlivé odrůdy. To umožní pěstovat nejvhodnější rostliny, které se

budou našim optimálním požadavkům nejvíce přibližovat (budou tolerantní ke kontaminaci, budou mít vysokou akumulační schopnost k polutantům a budou je akumulovat v takových částech, aby došlo k dekontaminaci půdy a na druhou stranu se tyto látky nedostali do potravního řetězce).

Použitá koncentrace Zn nebyla srovnatelná s koncentrací Cd, proto nelze provést objektivní posouzení vztahu mezi oběma prvky a jednotlivými odrůdami.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

Chakravarty, B., Srivastava, S., 1997: Effect of cadmium and zinc interaction on metal uptake and regeneration of tolerant plants in linseed. *Agric. Ecosyst. Environm.*, 61: 45-50.

Chakravarty, B., Srivastava, S., 1997: Effects of genotype and explant during *in vitro* response to cadmium stress and variation in protein and proline contents in linseed. *Ann. Bot.*, 79: 487-491

Griga, M., Bjelkova, M., Tejklova, E., Blazek, O. (2003) „Achievements and Prospects of Phytoremediation in Europe“ Final workshop and Committee Meeting COST Action 837 Book of Abstracts, Vienna: 24.

Tejklova, E., 1992: Long-term cultivation of bud clumps and regeneration of flax (*Linum usitatissimum* L.) plants *in vitro*. *Plant. Prod.*, 38: 1009-1022

Příspěvek vznikl za podpory MSMT G4 No.166