

# RESPONSE OF SUSPENSION CULTURE BY-2 ON PRESENCE OF ORGANIC POLLUTANT

Solnická P., Klemš M., Havel L.

Department of Plant Biology, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xsolnic0@mendelu.cz

---

## ABSTRACT

We studied effect of organic pollutant (fluoranthene (FLT) 0, 0.5, 5 and 15  $\mu\text{M}$ ) on the physiological processes, viability and growth of BY-2 tobacco cells suspension culture. With increasing concentration of FLT in medium, viability and the number of cells decreased (up to three times on the medium with 15  $\mu\text{M}$  of FLT). Production of ethane and  $\text{CO}_2$  increased especially in exponential growth phase on the highest concentration of FLT. In contrary, production of ethylene at 15  $\mu\text{M}$  FLT decreased. Peak of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) concentration in control cells forewent the ethylene peak. FLT affected significantly the content of abscisic acid.

**Key words:** BY-2, fluoranthene

**Acknowledgments:** GAČR (522/09/0239), IGA 19/2009

## ÚVOD

Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAHs) patří mezi významné kontaminanty životního prostředí. Výskyt PAH je kromě přírodních zdrojů (přírodní požáry, erupce sopek) dán především nedokonalým spalováním hmoty. Díky velkému rozšíření těchto látek dochází k pronikání do potravního řetězce. Jsou to látky vysoce škodlivé na lidské zdraví především svými potenciálními toxickými, karcinogenními, mutagenními a teratogenními účinky. Doposud byl účinek PAHs studován na celých rostlinách, kde se zjistilo, že mají vliv na všechna stádia ontogeneze. Pro studium na buněčné úrovni byla vybrána suspenzní kultura tabáku (BY-2) a fluoranten (FLT), jako indikátor výskytu ostatních PAHs. BY-2 je velmi populární biologický objekt pro studium přenosu signálů různého druhu v rostlinných buňkách. Pro tyto účely má linie BY-2 vysokou růstovou rychlost a viabilitu. Za standardních podmínek je fenotypově stabilní, tvoří vícebuněčné řetězky, které spontánně nedisociují na jednotlivé buňky. Tabáková buněčná suspenze BY-2 je závislá na přítomnosti 2,4-D v kultivačním médiu (Nagata 1999). Pomocí FLT v různých koncentracích, které jsou blízké koncentracím vyskytujících se v prostředí, byl studován vliv na růst, viabilitu, morfogenezi fyziologické parametry buněčné suspenze kultury tabáku.

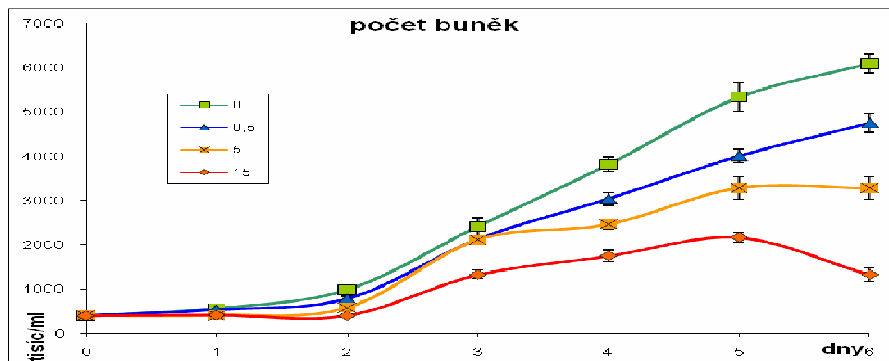
## MATERIÁL A METODIKA

Suspenzní kultura byla kultivována při laboratorních podmínkách na LS (Linsmayer and Skoog (1964)) médiu s přidavkem 1  $\mu\text{M}$  2,4-D (dichlorfenoxyoctová kyselina) a polycyklického aromatického uhlovodíku (fluoranten) v koncentracích 0, 0,5, 5, 15  $\mu\text{M}$ . Během šestidenní kultivace byly denně pozorovány tyto parametry: počet, viabilita a morfologie buněk, sušina, produkce etylénu, etanu,  $\text{CO}_2$  a ACC, obsah ABA, proteinů a GST.

## VÝSLEDKY A DISKUZE

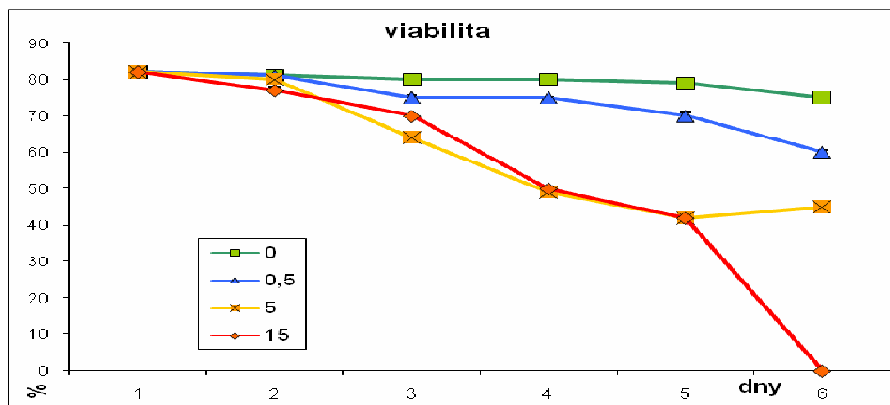
FLT v médiu významně ovlivnil morfogenezi buněk. S rostoucí koncentrací FLT docházelo k inhibici dělení buněk, snížení obsahu vody v buňkách. Vlivem vzrůstající koncentrace FLT v médiu docházelo ke snížení počtu buněk (obr. 1) až 3násobně během kultivace a to na médiu s přidavkem 15  $\mu\text{M}$  FLT.

Obr. 1 Počet buněk pod vlivem FLT



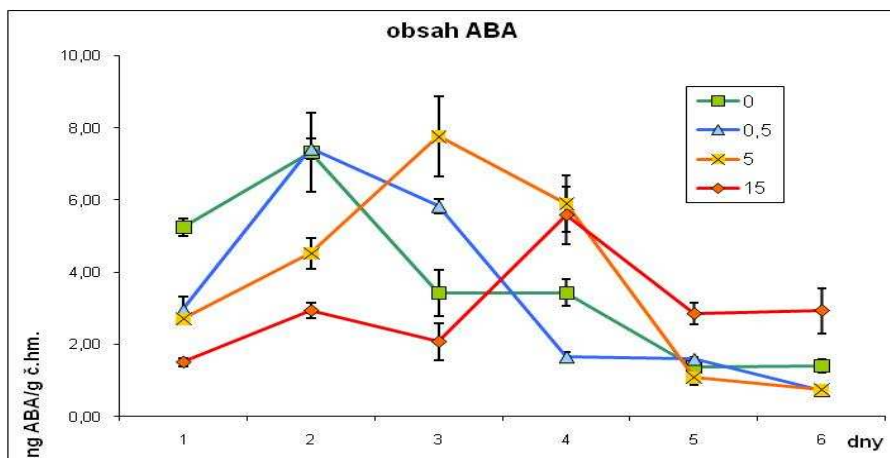
S rostoucí koncentrací se snížila i viabilita buněk (obr. 2). Produkce etanu a CO<sub>2</sub> se zvyšovala zejména v exponenciální fázi růstu u nejvyšší koncentrace FLT.

Obr. 2 Viabilita buněk



Naproti tomu produkce etylénu byla u 15 μM FLT snížena. Pík koncentrace kyseliny 1-aminocyklopropan-1-karboxylové (ACC) v buňkách kontrolní varianty předcházela pík etylénu. V souvislosti s opožděným dělením buněk u vysoké koncentrace FLT byl i pík ABA opožděn (3. a 4. den kultivace).

Obr. 3 Obsah ABA v buňkách BY-2



Obsah kyseliny abscisové (ABA) byl velmi malý (1-8 ng/g čerstvé hmotnosti) avšak FLT ovlivnil pík koncentrace ABA u vyšších koncentrací. Stejně jako pozdější nástup dělení buněk, tak i pík obsahu ABA byl posunut vzhledem ke koncentraci FLT.

## **ZÁVĚR**

Fluoranten ovlivňuje nejen celistvé rostliny, ale i buňky. BY-2 reaguje velmi citlivě na přítomnost organického polutantu. Dle předpokladu bylo dokázáno, že FLT významně ovlivňuje morfologii, viabilitu i fyziologické parametry buněčné suspenzní kultury BY-2.

## **LITERATURA**

Linsmayer, E., M., Skoog, F. (1964):*Physiol. Plant.* 18:100-127.

Nagata, T., Kumagai, F. (1999):*Meth. Cell Sci.* 21:123-127.