

## SUMMARY

The studies concerning drought and salinity stress response of *Carex muskingumensis* in tissue culture aimed at development of the method of micropropagation, the evaluation of growth and development of shoots in the presence of stress inducing substances and the physiological and genetic response of the obtained plants to the treatments applied. Efficiency of disinfection depended on the type of explant and disinfection protocol used. It was possible to initiate regenerating tissue culture of the species when crown buds, nodes or shoot tips are used and disinfected in 0.25% of AgNO<sub>3</sub> for 20 minutes and then placed on the MS medium supplemented with nanosilver particles. However, crown buds are more difficult to disinfect. Three cytokinins were tested: KIN, BA and 2iP in concentrations of 1, 2.5 or 5 mg·dm<sup>-3</sup>. It was proved that BA and KIN shows better response for shoot multiplication than 2iP. The shoots obtained in the multiplication stage formed roots *in vitro* on the MS medium supplemented with 1 - 2.5 mg·dm<sup>-3</sup> IBA. *Ex vitro* acclimatization of rooted shoots in peat and perlite (1:1) mixture allows to obtain 100% efficiency of survival rate. Drought stress was induced by the addition of PEG from 0.5 to 8%. The survival rate of shoots was not affected by PEG, however the regeneration was lower. The presence of PEG above 1% increased oxidative stress, what was indicated with higher content of hydrogen peroxide and activity of quaiacol peroxidase. The degradation of cell membranes were not affected by PEG, as indicated by TBARS values. Salinity stress tested was induced by the addition of NaCl in concentrations of 1.5 - 3%. NaCl used in concentration above 1% had a negative effect on growth and development of shoots *in vitro*, caused degradation of pigments and increased stress of plants indicated by the content of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, activity of guaiacol peroxidase and TBARS enzymes. The genetic expression of the shoots under the stress was also tested. The highest stability of expression characterized genes eIF4A, ADP and TBP. The application of PEG did not cause significant changes on the level of genes APX and CAT transcripts. Treatment the plants with NaCl caused inhibition of CAT or GPX genes expression.

**Keywords:** Muskingum sedge, disinfection, multiplication, antioxidative enzymes, assimilative pigments, gene expression

## STRESZCZENIE

Badania dotyczące reakcji *Carex muskingumensis* na stres wywołany suszą lub zasoleniem w kulturach tkankowych miały na celu opracowanie metody mikrorozmnażania gatunku, zbadania wpływu substancji wywołujących stress na wzrost i rozwój pędów, oraz określenie fizjologicznej i genetycznej reakcji roślin *in vitro* na zastosowane traktowanie.

Mikrorozmnażanie roślin obejmowało wszystkie etapy. Dezynfekcja materiału roślinnego zależała od rodzaju eksplantatu i zastosowanej metody odkażania. Stwierdzono, że zastosowanie  $\text{AgNO}_3$  w stężeniu 0,25% przez 20 minut, a następnie wyłożenie eksplantatów na pożywkę MS uzupełnioną nanocząsteczkami srebra, pozwala na uzyskanie największego współczynnika regeneracji czystych kultur. Do założenia kultur wykorzystano pąki z podstawy pędów, węzły oraz wierzchołkowe fragmenty pędów i zaobserwowano, że fragmenty pochodzące z części podziemnych (podstawy pędów), były znacznie trudniejsze do odkażenia niż pozostałe dwa rodzaje eksplantatów. Uzyskane w procesie inicjacji pędy wykorzystano do dalszych doświadczeń. Przebadano wpływ trzech cytokinin: KIN, BA i 2iP w stężeniach 1; 2,5 i 5  $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  na wzrost i rozwój pędów. Stwierdzono, że BA i KIN korzystniej wpłynęły na rozmnażanie pędów niż 2iP. Pędy uzyskane w fazie multiplikacji tworzyły korzenie na pożywce MS uzupełnionej 1 – 2,5  $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  IBA. Ukorzenione pędy sadzono do podłoża złożonego z torfu i perlitu (1:1) i uzyskano 100% zaaklimatyzowanych roślin.

W kolejnym etapie rośliny poddano stresowi suszy, który został wywołany przy pomocy dodatku PEG w stężeniach 0,5 do 8% do pożywki. Stwierdzono, że PEG nie miało wpływu na przeżywalność pędów, jednak ich zdolności regeneracyjne były słabsze. Obecność PEG w pożywce w stężeniu większym niż 1% zwiększyła stres oksydacyjny, co było wyrażone poprzez większą zawartość nadtlenu wodoru oraz zwiększoną aktywność peroksydazy gwajakolowej. Nie stwierdzono degradacji błon komórkowych. Zasolenie wywołano poprzez dodanie do pożywki NaCl w stężeniach 1,5 – 3%. Stwierdzono, że NaCl użyty w stężeniu powyżej 1% miał negatywny wpływ na rozwój pędów *in vitro*, powodował degradację barwników asymilacyjnych i zwiększał stres kultywowanych roślin, co było widoczne poprzez zwiększoną zawartość nadtlenu wodoru w liściach, zwiększoną aktywność peroksydazy gwajakolowej oraz enzymów TBARS.

Ekspresja genów oznaczana w zielonych częściach pędów, które uprawiane były pod wpływem wywołanego stresu także została zbadana. Największą stabilnością

charakteryzowały się geny eIF4A, ADP i TBP. Zastosowanie PEG nie spowodowało istotnych zmian na poziomie transkrypcji genów APX i CAT, natomiast traktowanie roślin NaCl zmniejszyło ekspresję genów CAT i GPX.

**Słowa kluczowe:** turzyca muskegońska, dezynfekcja, namnażanie, enzymy antyoksydacyjne, barwniki asymilacyjne, ekspresja genów