

Wykorzystanie metod biotechnologicznych w badaniach ekotypów *Biscutella laevigata* L.

Alina WISZNIEWSKA^{1*}, Ewa MUSZYŃSKA², Barbara TOKARZ³, Ewa HANUS-FAJERSKA⁴

^{1,3,4}Katedra Botaniki, Fizjologii i Ochrony Roślin, Wydział Biotechnologii i Ogrodnictwa, Uniwersytet Rolniczy im. H. Kollątaja, al. 29 Listopada 54, 31-425 Kraków

²Katedra Botaniki, Instytut Biologii, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

Wprowadzenie

W ostatnich latach w laboratoriach badawczych rozwijane się nowe kierunki badań o charakterze aplikacyjnym, których wyniki stają się użyteczne w wielu dziedzinach życia (Weber i in. 2006, Erpen-Dalla Corte i in. 2019, Xu i in. 2020). W odniesieniu do tak zwanej zielonej technologii udoskonalane są nowe metody biotechnologiczne (Da Silva 2004, Van Esse i in. 2020) z wykorzystaniem hodowli materiału roślinnego *in vitro* (łac. dosłownie *w szkle*) (Muszyńska i in. 2018, Nelofer i in. 2018, Hanus-Fajerska i in. 2019, Muszyńska i in. 2019). Wymaga to namnażania komórek, tkanek lub organów roślin bądź prowadzenia kultur protoplastów (komórek pozbawionych ściany komórkowej) z zastosowaniem odpowiednich procedur (Jayaraman i in. 2016). Namnażanie materiału może odbywać się na drodze regeneracji pośredniej, gdy na fragmencie tkanki tworzy się kalus (tkanka merystematyczna powstająca w miejscu zranienia fragmentu rośliny), na którym dopiero odbywa się dalszy rozwój i powstawanie organów. Alternatywną drogą jest tak zwana regeneracja bezpośrednia, kiedy organogeneza (tworzenie pędów/korzeni) odbywa się wprost z tkanek eksplantatu (fragment

rośliny wyłożony na pożywkę hodowlaną), lub na drodze somatycznej embriogenezy, gdy zarodki powstają z tkanek somatycznych (czyli innych niż linii płciowej) (Muszyńska i Hanus-Fajerska 2017, Park i in. 2017, Ramírez-Mosqueda i Iglesias-Andreu 2015, Wiszniewska i in. 2017). Uzyskane w laboratorium rośliny następnie są poddane aklimatyzacji do warunków *ex vitro* (poza naczyniami hodowlanymi). Biotechnologia pozwala również na krioprezerwację (długotrwałe przechowywanie w ujemnych temperaturach) zasobów genowych (Harding 2004, Engelmann 2004).

Z uwagi na zdolność żywych komórek roślinnych do totipotencji (różnicowania się w dowolny rodzaj komórek w odpowiednich warunkach) (Jayaraman i in. 2016, Fehér 2019), stosowanie mikropropagacji umożliwia znaczne podwyższenie współczynnika namnażania w porównaniu do możliwości osiągniętych w trakcie rozmnażania się roślin w warunkach naturalnych (Wiszniewska i in. 2017). Zalecane jest, aby namnażanie w kulturach *in vitro*, a także w szklarni, stosować zwłaszcza wtedy, gdy nasiona zbierane w terenie mają obniżoną żywotność, siłę kiełkowania lub gdy siewki mają niskie szanse na przeżycie. Zwykle takie problemy wynikają z zaburzeń w przebiegu rozmnażania płciowego, w linii męskiej i/lub żeńskiej. W takiej sytuacji opracowane metody mikrorozmnażania mogą pozwolić

* Autor korespondujący

na wprowadzenie uzyskanych w laboratoriach roślin w celu podtrzymania populacji zagrożonych gatunków. Dotyczy to w szczególności roślin o niezbalansowanych genomach – (auto)poliploidów, mieszańców, ale także roślin rosnących w stresowych warunkach, w tym, zasiedlających gleby o wysokich zawartościach metali ciężkich w glebie, takich jak na przykład gleby galmanowe czy serpentynitowe. Zarówno niezbalansowanie genetyczne, jak i negatywny wpływ metali wywołujący genotoksyczność prowadzą w obu przypadkach do obserwowanych zakłóceń w przebiegu mikro- i makrosporogenezy oraz w powstawaniu gametofitu męskiego i żeńskiego, zarodka i bielma (Izmailow i in. 2015, Bothe i Słomka 2017). Istotny wydaje się również wpływ przemian środowiska związany z działalnością człowieka – szeroko pojęta działalność gospodarcza oraz przemysłowa, powiększanie powierzchni zajmowanych przez uprawy rolnicze oraz ekspansja miast na tereny otwarte. Ta silna presja na środowisko naturalne wywołująca jego przekształcenia, zagraża istnieniu niektórych populacji roślin co może spowodować nieodwracalną utratę wyjątkowych pul (zasobów) genów lokalnych populacji (Pościć i in. 2013, Babst-Kostecka i in. 2014, Wierzbicka i in. 2016). Techniki kultur *in vitro* mogą zatem odgrywać kluczową rolę w zachowaniu i zwiększaniu liczebności, w poprawianiu wzrostu rzadkich, wartościowych genotypów, czego dobrym przykładem są galmanowe populacje *Biscutella laevigata* L. (pleszczotka górską) (Wierzbicka i in. 2017, Bemowska-Kałużna i in. – Rozdział 5 i 6, niniejszy tom). Z tej przyczyny istotne wydaje się tworzenie protokołów wydajnej mikropropagacji tego gatunku. Opracowane metody mogą znaleźć zastosowanie także w prowadzeniu ekologicznie uzasadnionej remediacji, określanej również mianem wspomaganej sukcesji. Przy użyciu rodzimych taksonów zaadaptowanych do lokalnych siedlisk (np. gatunków gleb zanieczyszczonych metalami) możliwe jest względnie szybkie przywrócenie wartości przyrodniczych, nawet terenom skrajnie zdezastrowanym (Ciarkowska i Hanus-Fajerska 2008, Suchkova i in. 2014, Muszyńska i Hanus-Fajerska 2017, Muszyńska i in. 2017, Hanus-Fajerska i in. 2019). Prowadzenie tego typu remediacji wymaga jednak opracowania wydajnych sposobów produkcji w kulturach *in vitro*, w krótkim czasie, dużej

ilości wyrównanego materiału roślinnego gotowego do sadzenia.

Zdolności regeneracyjne ekotypu galmanowego *B. laevigata* w kulturach *in vitro*: mikrorozmnażanie i aklimatyzacja roślin do warunków *ex vitro*

Możliwość zwiększenia współczynnika rozmnażania wegetatywnego *B. laevigata* w warunkach *in vitro* poprzez organogenezę bezpośrednią została jednoznacznie wykazana przez Hanus-Fajerską i współautorów (2012). W serii następujących po sobie eksperymentów, realizowanych przez zespół autorek tego rozdziału, w laboratorium Katedry Botaniki, Fizjologii i Ochrony Roślin Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie (UR), szczegółowo opracowano warunki inicjacji i prowadzenia kultury pędowej różnych metalofitów, w tym galmanowego ekotypu pleszczotki górskiej (Ryc. 1). Materiałem wyjściowym stosowanym do założenia sterylnych kultur były nasiona zebrane w terenie pod koniec czerwca 2010 roku z osobników populacji galmanowej rejonu olkuskiego (Ryc. 2A). Zdolność kiełkowania nasion w warunkach *in vitro* wynosiła około 70% (Muszyńska i Hanus-Fajerska 2012). Sterylne siewki stanowiły materiał wyjściowy, tak zwane eksplantaty pierwotne, który wykorzystano w opracowaniu protokołu rozmnażania wegetatywnego *in vitro* badanego ekotypu. Protokół ten obejmował etapy przedstawione schematycznie na Rycinie 1, czyli: ustabilizowanie kultury pędowej z apikalnych fragmentów siewek uzyskanych z nasion, wydajną regenerację przybyszowych rozet liściowych na zmodyfikowanej pożywce MS (Murashige i Skoog 1962) (Ryc. 2B), fazę ich ukorzeniania na pożywce MS bez regulatorów wzrostu oraz o zredukowanym składzie makro- i mikropierwiastków (Ryc. 2C), a następnie skuteczną aklimatyzację roślin do warunków *ex vitro*. Namnożone w kulturach *in vitro* rośliny z powodzeniem uprawiano w warunkach szklarniowych (Ryc. 2D) oraz na poletkach doświadczalnych, opisywanych w Rozdziale 7 niniejszego tomu, wraz z innymi gatunkami tolerującymi metale ciężkie (Ryc. 2E) (Hanus-Fajerska i in. 2012, Muszyńska i in. 2017).

Przeprowadzono również badania, które miały na celu poprawę wydajności mikrorozmnazania pleszczotki górskiej. Zastosowano pożywki wzbogacone o różnego typu związki organiczne, takie jak ekstrakt z ananasa, woda kokosowa oraz pożywka kondycjonowana po kulturze zielenicy *Desmodesmus subspicatus* (Chodat) E. Hegewald & A. W. F. Schmidt (Hanus-Fajerska i in. 2012). Pożywka kondycjonowana to płyn hodowlany, w którym wcześniej rosły inne komórki lub tkanki, najczęściej roślinne lub pochodzące od mikroorganizmów. Podczas wzrostu komórki i tkanki nie tylko zużywają składniki odżywcze, ale także mogą wydzielać określone substancje. W niniejszym przypadku pożywka po kulturze zielenicy zawierała związki wydzielane przez komórki glonów podczas kultury, wykazujące aktywność autoindukcyjną, zwiększającą tempo podziałów komórkowych (Grabski i Tukaj 2008). Uzyskane wyniki namnażania *B. laevigata* przedstawiono na Rycinie 3. Wszystkie pożywki okazały się korzystne dla roślin pleszczotki górskiej i zwiększały wydajność ich rozmnażania, chociaż istotny statystycznie wzrost w liczbie zregenerowanych rozet liściowych stwierdzono jedynie w przypadku ekstraktu z ananasa (Hanus-Fajerska i in. 2012).

Tolerancja na metale ciężkie

Kultury *in vitro* można wykorzystać do stworzenia układów modelowych w celu oceny morfogenicznych, fizjologicznych i biochemicznych reakcji roślin w zróżnicowanych warunkach wzrostu (Reinert i Bajaj 2013). Ich niewątpliwą zaletą jest możliwość oceny wpływu na organy, tkanki i komórki roślinne pojedynczych stresorów i czynników środowiskowych, a także ich kombinacji, oraz to, że natężenie tych stresorów i czynników może być ściśle i w łatwy sposób kontrolowane przez eksperymentatora. Związki chemiczne, takie jak inhibitory wzrostu, toksyny bądź mutageny mogą być dodawane do pożywki w pożądanym stężeniu.

Kultury *B. laevigata* zostały użyte jako układ modelowy do oceny reakcji roślin na różne kombinacje soli kadmu (CdCl_2) i ołowiu ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$). Selekcję *in vitro* przeprowadzono przy użyciu pożywki namnożeniowej (służącej do mikropropagacji) z dodatkiem soli metali w różnych stężeniach

($0,5 \mu\text{M CdCl}_2$ i $0,1 \text{ mM Pb}(\text{NO}_3)_2$, oraz $5,0 \mu\text{M CdCl}_2$ i $0,5 \text{ mM Pb}(\text{NO}_3)_2$), zaś kontrolę stanowiła ta sama pożywka namnożeniowa, ale pozbawiona jonów metali ciężkich (Muszyńska i in. 2017). W przeprowadzonym eksperymencie, uzyskano mikroroślinki z prawidłowo wykształconym systemem korzeniowym w obu kombinacjach metali. Mikropropagacja na pożywce wzbogaconej w wyższe stężenie metali okazała się nieco bardziej wydajna niż na pożywce kontrolnej, chociaż zaobserwowany wzrost wartości współczynnika mikropropagacji (MC) był statystycznie nieistotny (Tabela 1). Dodatkowo, zregenerowane na pożywkach z dodatkiem metali ciężkich pędy były żywotne, nie wykazywały chlorotycznych i nekrotycznych zmian, chociaż ich średnica była niższa o około 25% w porównaniu z kontrolą. Pomimo tego, świeża i sucha masa rozet traktowanych kadmem i ołowiem osiągnęła wyższą wartość niż w kulturach kontrolnych, co może sugerować tworzenie większej liczby drobniejszych lub/i grubszych liści. Liczba, długość, zawartość suchej masy korzeni w najwyższym stężeniu spadała, tylko świeża masa korzeni pozostała bez zmian (Tabela 1). Biorąc pod uwagę bardzo wysokie dawki obu testowanych pierwiastków, które choć nie pozostały obojętne dla biologii *B. laevigata*, potwierdziły jej wysoki poziom tolerancji na jony kadmu i ołowiu w podłożu. Wykazano również, że w kulturach *in vitro* można uzyskać linie pleszczotki górskiej o szczególnych predyspozycjach do wzrostu i rozwoju na podłożach silnie zanieczyszczonych metalami ciężkimi (Muszyńska i in. 2017).

Wśród przykładów badań, które w wygodny sposób można prowadzić z wykorzystaniem kultur *in vitro*, jest ocena genotoksycznego działania zanieczyszczeń. W kulturze *in vitro* ekotypu galmanowego pleszczotki górskiej oceniano poziom genotoksyczności kadmu oraz efektywność minimalizacji skutków jego działania poprzez aplikację egzogenicznych (dostarczanych zewnętrznie przez eksperymentatora) roślinnych regulatorów wzrostu. Siewki uzyskane z nasion ekotypu galmanowego zostały namnożone w kulturze pędowej (tak jak opisano powyżej) na zoptymalizowanej pożywce proliferacyjnej (Hanus-Fajerska i in. 2012), a następnie uzyskane pędy przybyszowe przeniesiono na pożywki zawierające kadm ($16 \mu\text{M CdCl}_2$) oraz na pożywki

z kadmem i fitohormonami: kwasem jasmonowym lub kwasem giberelinowym. Po dwóch tygodniach kultury przeprowadzono test kometowy na jądrach komórkowych wyizolowanych z liści pędów przybyszowych. Test kometowy polega na poddaniu wyizolowanego jądra komórkowego działaniu prądu elektrycznego, podczas którego następuje przemieszczanie się materiału genetycznego w żelu agarozowym. Im wyższy stopień zdegradowania DNA, tym szybciej migrują jego fragmenty, co w rezultacie daje obraz jądra przypominający kometę. Głową tej komety stanowi niezdegradowany materiał genetyczny, natomiast ogon tworzą krótsze fragmenty, powstałe w wyniku działania czynnika toksycznego. U pleszczotki górskiej, w teście tym, stwierdzono podwyższony poziom uszkodzeń DNA w komórkach liści traktowanych kadmem w stosunku do warunków kontrolnych, co wiąże się ze stosunkowo wysoką genotoksycznością tego metalu. Stwierdzono również, że aplikacja obu fitohormonów zmniejszyła genotoksyczność kadmu, skutkując mniejszą liczbą uszkodzonych jąder komórkowych.

Kultury kalusa, zawiesin, protoplastów i korzeni *B. laevigata*

Wśród technik *in vitro* roślin, szerokie zastosowanie znajdują kultury kalusa, zawiesin komórkowych i protoplastów. Tkanka kalusowa (przyranna) w naturalnych warunkach powstaje w wyniku uszkodzenia mechanicznego tkanek roślinnych. W warunkach *in vitro* wykorzystując odpowiedni skład pożywki można zainicjować kalus z fragmentów różnych organów i tkanek rośliny (Cardoza 2016, Shahzad i in. 2017). Tkanka ta zbudowana jest z komórek o różnej wielkości i kształcie, posiadających zdolność do przekształcenia się w komórki merystematyczne, czyli takie, które mogą się dzielić, prowadząc do wytwarzania nowych organów (pędów, korzeni) i/lub zarodków somatycznych. Kalus, ze względu na luźno ułożone i łatwo rozdzielające się komórki, wykorzystywany jest do inicjacji kultur zawiesinowych komórek (Cardoza 2016). Kultury protoplastów zakładane są z tzw. nagich komórek roślinnych, pozbawionych ściany komórkowej. Podczas gdy kultury zawiesin są mieszaniną pojedynczych

komórek i agregatów komórkowych, kultury protoplastów to jedyna technika, w której uzyskuje się wyłącznie pojedyncze komórki (Eriksson 2018). Kultury kalusa, zawiesin bądź protoplastów wykorzystuje się w badaniach podstawowych do analizy procesów: różnicowania się komórek, pierwotnego i wtórnego metabolizmu komórek, odpowiedzi na stres na poziomie komórkowym. Ponadto, poza zastosowaniem aplikacyjnym w hodowli roślin, kultury te wykorzystuje się z powodzeniem w tzw. selekcji *in vitro* (Rai i in. 2011) pozwalającej na wytypowanie tkanek/komórek odpornych (bądź tolerancyjnych) na specyficzne warunki środowiskowe, w tym podwyższone stężenia metali ciężkich w pożywce (Ashrafzadeh i Leung 2015).

Materiałem roślinnym do indukcji kalusa i izolacji protoplastów były ustabilizowane kultury pędowe galmanowego ekotypu pleszczotki górskiej (Ryc. 4A). Kalus zainicjowano z w pełni rozwiniętych liści (Ryc. 4B). Fragmenty liści wykładano na 10 różnych pożywek MS wzbogaconych o różne regulatory wzrostu i dodatki (Tabela 2).

Po 4 tygodniach kultury, tkanka kalusowa pojawiała się na eksplantatach wyłożonych na niektóre pożywki (Ryc. 4C, E, F). Powstający kalus miał zieloną bądź żółto-zieloną barwę, początkowo zbitą i ziarnistą strukturę, która po kolejnym pasażu (przeniesieniu na nową pożywkę) stawała się luźniejsza i gruzelkowata (Ryc. 4I, J). Skład pozostałych pożywek nie zainicjował kalusowania eksplantatów, natomiast doprowadził do intensywnej organogenezy (wytwarzania pędów i korzeni) oraz pierwszych stadiów somatycznej embriogenezy (wytwarzania zarodków somatycznych) (Ryc. 4D, G, H, K, L). Wzrost tkanki kalusowej na wszystkich pożywkach był bardzo intensywny. Masa kalusa ulegała podwojeniu po drugim pasażu (Ryc. 4M). Dodatkowo na kalusie obserwowano powstawanie pąków przybyszowych, których liczba po drugim pasażu na większości pożywek również ulegała podwojeniu (Ryc. 4N).

W przypadku kultur protoplastów, podobnie jak w przypadku kultury kalusa, materiałem wyjściowym były liście roślin ekotypu galmanowego pleszczotki górskiej hodowanych w warunkach *in vitro* (Ryc. 5A). Fragmenty blaszki liściowej, z których usuwano dolną skórkę, były inkubowane przez około 5 godzin w mieszaninach enzymatycznych

rozkładających ścianę komórkową (Tabela 3) (Ryc. 5B, C). Ocena wydajności izolacji protoplastów (liczba protoplastów uwolnionych z 1 g tkanki) oraz ich żywotności (procent żywych protoplastów) pozwoliły na wybór najbardziej optymalnego składu mieszaniny enzymatycznej (En3) (Ryc. 5D–G). Wyizolowane i oczyszczone protoplasty umieszczano w płynnych pożywkach: B5A (Wiszniewska i Piwowarczyk 2014), K8p (Kao i Michayluk 1975) i MS z modyfikacjami (Hanus-Fajerska i in. 2012). Protoplasty mają znacznie większe wymagania wzrostowe niż komórki. Ich wrażliwość wynika z braku ścian komórkowych. Ponadto, na skutek zabiegów eksperymentalnych, błony plazmatyczne tracą selektywność i stają się nieszczelne, co może powodować także ubytek metabolitów (Eriksson 2018). Dlatego odpowiedni dobór pożywki do kultury protoplastów jest niezwykle trudnym etapem w opracowaniu protokołów hodowli nowych gatunków roślin. Obserwacje żywotności i zmian w morfologii protoplastów pleszczotki górskiej prowadzone w kolejnych dniach kultury pozwoliły na wybór spośród zastosowanych pożywek pożywki MS z modyfikacjami (Hanus-Fajerska i in. 2012), jako podstawowej do dalszych badań nad procesami regeneracji ściany komórkowej i różnicowania komórek (Tabela 4).

Obserwacje wykazały również, że w kulturach *in vitro* galmanowego ekotypu *B. laevigata* następuje wysoce efektywne tworzenie się korzeni przybyszowych, których komórki łatwo się odróżnicowują i regenerują w pąki i pędy. Umożliwia to założenie tzw. kultury korzeni, stanowiącej model to badań biochemii i fizjologii korzeni pod wpływem stresu związanego z ekspozycją na metale ciężkie. Wyniki wstępnych doświadczeń pokazały, że obecność jonów kadmu w pożywce stymuluje ukorzenianie ekotypu galmanowego pleszczotki górskiej. Kultury korzeni tego gatunku mogą być wykorzystane do uzyskania i analizy składu mieszaniny związków organicznych wydzielanych przez korzenie pod wpływem stresu wywołanego przez metale. Te wydzieliny korzeniowe, zwiększające lub ograniczające pobieranie metali ciężkich z ryzosfery, a także oddziałujące na mikroorganizmy glebowe, są uznawane za istotny element odpowiedzi roślin na zanieczyszczenie podłoża metalami ciężkimi (Malik i in. 2016).

Inne narzędzia biotechnologiczne stosowane w badaniach biologii

B. laevigata

Techniki biologii i genetyki molekularnej, a wśród nich zastosowanie markerów molekularnych (znaczników genetycznych), mogą przyczynić się do znacznego poszerzenia wiedzy na temat biologii pleszczotki górskiej. Znacznikiem genetycznym nazywamy cząsteczki związków biochemicznych, które pozwalają odróżnić od siebie dwa stany fizjologiczne czy dwa osobniki. Aktualnie za markery molekularne uważane są głównie polimorficzne sekwencje DNA, czyli takie fragmenty materiału genetycznego (np. geny lub sekwencje niekodujące), które występują w dwóch lub większej liczbie łatwych do rozróżnienia wersji. Kilkanaście lat temu także wskaźniki biochemiczne, takie jak różne warianty białek enzymatycznych (tzw. alloenzymy), były wykorzystywane do oceny zmienności między populacjami roślin (Tremetsberger i in. 2002). Obecnie różne typy markerów molekularnych ułatwiają badania struktury genetycznej i różnicowania pomiędzy metalolubnymi populacjami/ekotypami wielu gatunków roślin, pozwalając na szersze zrozumienie ich ekologicznej genetyki (Wójcik i in. 2013, Bothe i Słomka 2017). U *B. laevigata* polimorfizm sekwencji mikrosatelitarnych (krótkich, tandemowych powtórzeń o długości 1–6 nukleotydów budujących DNA), wykorzystano w celu poznania strategii adaptacyjnych licznych populacji zasiedlających różne stanowiska (Babst-Kostecka i in. 2014, Wąsowicz i in. 2014). W tym aspekcie szczególnie interesujące są mechanizmy adaptacyjne umożliwiające fakultatywnym metalofitom niezaburzony wzrost i rozwój na glebach o podwyższonej zawartości metali ciężkich (Bothe i Słomka 2017).

Analizy oparte na markerach molekularnych, uzupełnione oznaczeniami biochemicznymi i fizjologicznymi, wykorzystywano do określenia stopnia różnicowania populacji pleszczotki górskiej pod względem ich tolerancji na metale ciężkie (Pościć i in. 2015). Innym polem badawczym, w którym zastosowano markery molekularne, było wyodrębnienie cech warunkujących odpowiedź na reakcje stresowe wśród różnych metalolubnych populacji. W celu poznania tych reakcji

u pleszczotki górskiej, Pościć i in. (2015) przeprowadzili analizę opartą na markerach AFLP (ang. *amplified fragment length polymorphism*, polimorfizm długości powielonych fragmentów), umożliwiającą identyfikację mutacji punktowych lub zmian długości powtórzonych sekwencji nukleotydowych w DNA, natomiast Geiser i in. (2016) porównali poziom aktywności poszczególnych genów, czyli stopień ich odkodowania i uruchomienia syntezy odpowiednich produktów białkowych. Autorzy ci uznali, że podwojenie genomu spowodowało wzrost liczby i ekspresji genów związanych z odpowiedzią na stres, umożliwiając pleszczotce górskiej przetrwanie np. w warunkach niedoboru wody.

Podsumowanie

Ekotyp galmanowy *B. laevigata* jest dobrym obiektem do badań w kulturach *in vitro*. Wysoka zdolność do regeneracji *in vitro* i aklimatyzacji

sprawiają, że prowadzenie badań podstawowych i aplikacyjnych na tym gatunku z wykorzystaniem kultur tkankowych jest stosunkowo łatwe. W szczególności zaprezentowano metody kultur służące zachowaniu genotypu galmanowego *B. laevigata* oraz badaniu poziomów tolerancji na kadm i ołów. Jak skrótkowo pokazano, metody biotechnologiczne można również wykorzystać w badaniach strategii adaptacyjnych gatunku i jego reakcji na stresy abiotyczne. Nowo uzyskana wiedza może być w przyszłości wdrażana w programach hodowlanych roślin uprawnych w celu uzyskania odmian o podwyższonej tolerancji na metale ciężkie. Tak uzyskane odmiany będą mogły być z stosowane w fitoremediacji terenów zanieczyszczonych metalami ciężkimi.