

OPIS ZADAŃ REALIZOWANYCH W 2017 r.

1. Temat badawczy 1

Kontrola indukcji androgenezy i poziomu albinizmu w warunkach *in vitro* po zastosowaniu stresu wysokiej temperatury.

Cel

Celem tematu była kontrola indukcji androgenezy i poziomu albinizmu w warunkach *in vitro* po zastosowaniu stresu wysokiej temperatury, dla udowodnienia lub odrzucenia hipotezy, że alternatywna aplikacja stresów innych niż chłód może przyczynić się do zwiększenia wydajności formowania struktur androgenicznych i regeneracji zielonych pędów.

Wnioski

1. Zależność genotypowa jest czynnikiem krytycznym w procesie androgenezy i determinuje regenerację roślin zielonych/albinotycznych.
2. Czynnikiem modyfikującym proces androgenezy może być termin zbioru kłosów warunkowany zarówno na poziomie środowiskowym, jak i genotypowym - wcześniejszy zbiór gwarantuje lepsze parametry androgenezy.
3. Stres chłodu jest pozytywnym regulatorem przeprogramowania rozwoju mikrospor z gametofitycznego do sporofitycznego i regeneracji roślin zielonych, stres wysokiej temperatury indukuje androgenezę, ale jest czynnikiem negatywnym regeneracji roślin zielonych (taki system stanowi model badawczy procesu biogenezy chloroplastów).
4. Jakość struktur androgenicznych jest punktem wyjścia do regeneracji, jednak mechanizmy regeneracji muszą być odpowiednio ukierunkowane przez odpowiednie warunki hodowli.
5. Ze względu potwierdzoną skrajność odpowiedzi (wyniki uzyskane w 2015 i 2016 roku potwierdzone zostały w sezonie 2017), możliwe jest wytypowanie genotypów, spełniających kryteria dla eksperymentalnego systemu modelowego.
6. Indukcja odpowiedzi androgenicznych w przypadku pszenicy jest ograniczona, celowe będzie przeanalizowanie wpływu innych czynników indukcji procesu androgenezy (tj. zmiana pożywki, stresu wywołanego światłem o określonym wysokim natężeniu).

2. Temat badawczy 2

Porównanie cytologiczne i morfologiczne genotypów uzyskanych w Temacie 1, ze szczególnym uwzględnieniem wczesnych etapów powstawania mikrospor, indukcji kalusa i regeneracji pędów.

Cel

Celem tematu było porównanie cytologiczne i morfologiczne tkanek z kultur androgenicznych uzyskanych w Temacie 1, ze szczególnym uwzględnieniem wczesnych etapów powstawania mikrospor, indukcji kalusa i regeneracji pędów (Temat 2), dla udowodnienia lub odrzucenia hipotezy, że rozwój plastydów może być modyfikowany na najwcześniejszych etapach androgenezy przez aplikację odpowiednich czynników abiotycznych.

Wnioski

1. Mikrospory przed indukcją androgenezy były żywotne niezależnie od zastosowanego rodzaju stresu.
2. Po okresie chłodu, dla genotypów podatnych na proces androgenezy izolowano większy procent mikrospor w stadium późnej mikrospory jednojądrowej. Stwierdzono również obecność mikrospor we wczesnym stadium jednojądrowym, a także dwukomórkowe ziarna pyłku. Obecność nieznacznie młodszych mikrospor lub zdecydowanie późniejszych faz rozwojowych charakteryzowała genotypy słabiej indukujące struktury androgeniczne.
3. Po trzech tygodniach chłodu (4°C) obserwowano typowe stadium mikrospor 'star-like', które charakteryzuje się dużą wakuolą w centrum mikrospory i przecinającymi ją pasmami cytoplazmy, oraz obecność mikrospor po symetrycznym podziale jądra komórkowego, ale bez założenia ściany komórkowej.
4. Dla genotypów pszenicy traktowanych stresem wysokiej temperatury (32°C) oraz w warunkach kontrolnych (20°C) obserwowano dwukomórkowe ziarna pyłku, których

obecność wskazywała na brak przeprogramowania rozwoju gametofitycznego w kierunku sporofitycznego (indukcji androgenyzy).

5. Różnicowanie faz rozwojowych mikrospor w pojedynczym kłosie podczas stresu chłodu może być czynnikiem, który decyduje o większej efektywności procesu androgenyzy.
6. W mikrosporach sporadycznie obserwowano drobne ziarnistości mogące zawierać proplastydy lub będące amyloplastami. Analiza mikroskopowa nie potwierdziła jednoznacznie występowania chloroplastów.

3. Temat badawczy 3

Określenie w jakim stopniu następuje formowanie ultrastruktury chloroplastów na poziomie mikrospor oraz indukcji struktur androgenicznych.

Cel

Celem tematu było określenie w jakim stopniu następuje formowanie ultrastruktury chloroplastów na poziomie mikrospor oraz indukcji struktur androgenicznych (Temat 3), dla scharakteryzowania mechanizmów, które mogą deregulować rozwój plastydów (Temat 2) i powodować albinizm regenerantów (Temat 1).

Wnioski

1. Oporność na proces androgenyzy związany jest z ograniczonym potencjałem tkanek kalusa do podziałów komórkowych. Większość komórek genotypów opornych (w tym głównie pszenicy) jest silnie zwakuolizowana i indukuje PCD.
2. Obecność prostych strukturalnie proplastydów bez wewnętrznych membran i centralnego obszaru nukleiodopodobnego, lub amyloplastów o mniejszym stopniu wykształcenia ziarna skrobi jest pozytywnie skorelowana z powstawaniem centrów regeneracji i regeneracją zielonych pędów.
3. Deregulacja syntezy skrobi i tłuszczów, prowadząca do powstania licznych i bardzo rozbudowanych ziarn skrobi (amyloplastów) oraz zwiększonej liczbą oleosomów jest wskaźnikiem ograniczenia efektywności androgenyzy.
4. Na problemy z formowaniem membran wewnętrznych i różnicowaniem proplastydów wskazuje obecność: pęcherzyków (analogiczne jak w plastydach przedgranowych), plastoglobuli na terenie stromy (są raczej elementami charakterystycznymi dla chloroplastów i chromoplastów globularnych), napęczniałych tylakoidów i talerzykowatych proplastydów.

4. Temat badawczy 4

Ocena efektywności funkcjonowania plastydów na podstawie analizy profili barwników fotosyntetycznych.

Cel

Celem tematu była ocena efektywności funkcjonowania plastydów na podstawie analizy barwników fotosyntetycznych (Temat 4), dla określenia typu zaburzeń powodujących modyfikację ultrastruktury plastydów (Temat 3), a w konsekwencji zaburzeń rozwoju plastydów (Temat 2) i zjawiska albinizmu (Temat 1).

Wnioski

1. Podatność na proces androgenyzy związany jest z zwiększonym stężeniem całkowitym barwników fotosyntetycznych oraz niższą procentową zawartością chlorofilu *a* w pylnikach, kłosach i roślinach zregenerowanych. W kalusie wyższe stężenie chlorofilu *a* skorelowana jest z ilością centrów regeneracji.
2. Zbalansowanie syntezy poszczególnych barwników może stanowić punkt wyjścia dla prawidłowego ich wbudowania w membrany fotosyntetyczne.
3. Zregenerowane rośliny albinotyczne zawierają 100 razy mniej barwników fotosyntetycznych, w tym w sposób szczególny ograniczona jest synteza wiolaksantyny, zeaksantyny i luteiny i chlorofilu *b* w genotypach opornych na proces androgenyzy.

5. Temat badawczy 5

Porównanie stanu energetycznego komórek na podstawie analizy: cukrów i zmian efektów cieplnych komórek.

Cel

Celem tematu było porównanie stanu energetycznego komórek na podstawie analizy: cukrów i zmian efektów cieplnych komórek (Temat 5), dla udowodnienia lub odrzucenia hipotezy, że zjawisko albinizmu (Temat 1) jest rezultatem niezbalansowanego zapotrzebowania energetycznego komórek lub braku odpowiednich sygnałów rozwojowych.

Wnioski

1. Stężenie cukrów różniło się w zależności od genotypu, stresu indukującego proces androgenezy i etapu androgenezy. Największą zawartość całkowitą cukrów stwierdzono dla genotypów podatnych na proces androgenezy, a mniejszą dla genotypów opornych na proces androgenezy.
2. W okresie trzech tygodni chłodzenia kłosów zawartość cukrów w pylnikach drastycznie spada. Po stresie wysokiej temperatury stężenie bezwzględne cukrów w pylnikach było niższe prawie dwudziestokrotnie w porównaniu do pylników traktowanych chłodem.
3. Większa aktywność metaboliczna tkanek genotypów podatnych na proces androgenezy, jest związana z większymi przemianami energetycznymi, jako efekt intensywnie zachodzących procesów fizjologicznych.
4. Podatność na proces androgenezy związany jest z znacznie szybszym uruchamianiem procesów oddychania i fotosyntezy.
5. Szybkość procesów metabolicznych i elastyczność ich dostosowania w warunkach stresu przeprogramowania rozwoju mikrospor jest czynnikiem determinującym kierunek ich rozwoju, a w późniejszych etapach procesu androgenezy, czynnikiem wspomagającym indukcję struktur androgenicznych i regenerację roślin zielonych.

		Genotypy podatne (G3, G1)	Genotypy oporne (G2, G4)
kłoszenie rozwój mikrospor w kłosie		wczesne nierównocenny	późniejsze równocenny
zahamowanie rozwoju mikrospor przeważająca faza rozwoju mikrospor	Indukcja 4 °C	wolniejsze, nierównomierne star-like po symetrycznym podziale jądra	szybsze, równomierne wczesne stadium jednojądrowe późne stadium jednojądrowe
plastidy		proste strukturalnie pro-plastidy	olbrzymie amyloplasty
albinizm		drobne amyloplasty <50%	100%
synteza barwników fotosyntetycznych i cukrów metabolizm (fotosynteza/oddychanie)		sprawna szybkie reakcje, większa elastyczność	ograniczona wolne reakcje
dojrzewanie mikrospor przeważająca faza rozwoju mikrospor	Indukcja 32 °C	nierównomierne późne stadium jednojądrowe ziarna pyłku	równomierne ziarna pyłku
plastidy		średnie amyloplasty	olbrzymie amyloplasty
albinizm		100%	100%

Schematyczne podsumowanie wyników analiz w poszczególnych tematach badawczych.