

OPIS ZADAŃ REALIZOWANYCH W 2015r

1. Temat badawczy 1

Określenie efektywności chłodu w indukcji androgenozy i ograniczeniu zjawiska albinizmu.

Cel

Jednym z istotnych ograniczeń wydajności androgenozy jest zjawisko albinizmu, tj. tworzenia rośliny bez wykształconych chloroplastów, niezdolnej do prowadzenia procesu fotosyntezy i wegetacji poza warunkami hodowli *in vitro*. Wnioskowany projekt zakłada zweryfikowanie hipotezy, że rozwój proplastydów może być modyfikowany przez aplikację stresu chłodu w sposób genotypowo zależny. W obecnym roku porównany został procentowy udział regeneracji roślin zielonych i albinotycznych pomiędzy wybranymi do badań genotypami. W wyniku przeprowadzonych analiz wybrano genotypy skrajne z potencjałem do regeneracji roślin zielonych lub albinotycznych. Genotypy te stanowiąc będą w kolejnych latach model do fizjologicznych, cytologicznych i biochemicznych badań szczegółowych. W kolejnych latach będzie również niezbędne zweryfikowanie osiągniętego rezultatu i określenie, czy genotypowe zależności nie podlegają zmienności sezonowej lub czy nie są obciążone błędem eksperymentalnym. Zaplanowane oryginalnie analizy przewidują powtórzenie takich eksperymentów.

Wnioski

1. Zależność genotypowa odpowiedzi androgenicznych i produkcji zielonych/albinotycznych roślin jest czynnikiem krytycznym.
2. Istnieje ścisła zależność pomiędzy efektywnością indukcji na poszczególnych etapach androgenozy a terminem wysiewu roślin, a dalej terminu zbioru poszczególnych kłosów.
3. Ze względu na skrajność odpowiedzi, wśród badanych genotypów możliwe było wytypowanie odmian/linii, które spełniały kryteria dla eksperymentalnego systemu modelowego. Pomimo potrzeby powtórzenia analiz w kolejnych latach dla wyeliminowania potencjalnego błędu sezonowości, czy przypadkowej zmienności warunków laboratoryjnych, bieżące wyniki wskazują na różnice, które przekraczają wartości błędu.
4. Indukcja odpowiedzi androgenicznych przez stres chłodu jest efektywna jedynie w przypadku pszenżyta. Dla pszenicy w żadnym przypadku nie uzyskano zadawalającej regeneracji, która opłacalna byłaby względem poniesionych kosztów i nakładu pracy. W tym przypadku celowe będzie kontynuowanie dalszych badań i przeanalizowanie wpływu drugiego czynnika abiotycznego tj. stresu wysokiej temperatury, który został zaplanowany do przetestowania w kolejnych latach. Zastosowanie tego stresu jest mocno uzasadnione przesłankami literaturowymi, pochodzącymi głównie z naukowych ośrodków zagranicznych. Również ze względu na uzyskanie wyników w kolejnych zadaniach (poniżej) wskazujących na rolę procesu fotosyntezy i indukcji sygnałów stresowych z chloroplastów zbadany zostanie trzeci czynnik stresu abiotycznego tj. światło o określonym wysokim natężeniu.

2 Temat badawczy 2

Cytologiczna charakterystyka plastydów.

Cel

W konsultacji z polskimi hodowcami i z danych literaturowych wynika, że niedojrzałe kłosa często przechowywane są w temperaturze 4 °C w ciemności nawet 3-4 tygodnie, aż do momentu izolacji mikrospor. Inkubacja chłodowa hamuje procesy życiowe, podziały komórkowe, rozwój kłosów, ale jednocześnie powoduje przeprogramowanie odpowiednich procesów rozwojowych. O ile jednak w takich warunkach faza jasna fotosyntezy tkanek asymilujących ulega całkowitemu zahamowaniu, o tyle procesy rozwojowe nie są zredukowane całkowicie. Dlatego celem tematu jest zweryfikowanie hipotezy, czy brak dopływu produktów fotosyntezy może powodować eliminację plastydów, nie tylko w wyniku priorytetowego rozwoju gametofitowego, ale również niezbalansowanego zapotrzebowania energetycznego. Wykonane zostało porównanie cytologiczne tkanek poszczególnych

genotypów z uwzględnieniem obecności plastydów (proplastydy, chloroplasty, amyloplasty) podczas indukcji procesu androgenyzy po zastosowaniu standardowo stosowanego chłodu. Analiza plastydów przeprowadzona była w mikrosporach, oraz kalusie/strukturach androgenicznych i regeneratach. Określone zostało, który etap androgenyzy jest krytyczny dla prawidłowego formowania chloroplastów oraz znaczenie zaawansowania rozwoju mikrospor.

Wnioski

1. Zróżnicowanie wieku mikrospor w obrębie kłosa może być wskaźnikiem, informującym o prawidłowym przebiegu przyszłego procesu androgenyzy.
2. Wstępna analiza mikroskopowa nie potwierdziła występowania chloroplastów/proplastydów w mikrosporach.
3. Indukcja struktur androgenicznych i regeneracji były w niewielkim stopniu skorelowana, podobnie jak procentowy udział zregenerowanych roślin albinotycznych względem całkowitej liczby zregenerowanych roślin.
4. U roślin zakwalifikowanych wizualnie jako albinotyczne obecne są plastydy, ale nie namnażają się w komórkach mięszki liścia w sposób typowy, upośledzona jest w nich synteza chlorofilu i aparatu fotosyntetycznego.

3 Temat badawczy 5

Określenie stanu energetycznego komórek.

Cel

Indukcja przeprogramowania rozwoju mikrospor najczęściej przebiega w ciemności i w chłodzie. W takich warunkach niemożliwe jest prowadzenie procesu fotosyntezy, a zgromadzone substancje zapasowe liści są wycofywane i stopniowo rozkładane. Zaopatrzenie wewnętrznych tkanek w składniki odżywcze zależy zatem od efektywności fotosyntezy przed indukcją oraz szybkości degeneracji tkanek zielonych podczas indukcji. Również kolejny etap - pierwsza faza po wyłożeniu pylników na pożywkę do uzyskania struktur podobnych do zarodka odbywa się w ciemności w obecności cukru w podłożu (5-6 tygodni). W warunkach takich rozwój chloroplastów nie może przebiegać prawidłowo. Przekształcanie plastydów w chloroplasty teoretycznie możliwe jest dopiero w dalszych fazach androgenyzy: na pożywce regeneracyjnej, która prowadzona jest na świetle. Dlatego temat badawczy 5 skoncentrowany jest na określeniu w jakim stopniu następuje degeneracja chloroplastów i chlorofilu zarówno na poziomie rośliny donorowej, jak i pylników oraz regenerantów. Określona została wstępnie efektywność balansowania zapotrzebowania energetycznego tkanek i komórek na poziomie pierwszego parametru tj. procesu fotosyntezy (parametry fluorescencji chlorofilu *a*).

Wnioski

1. Czynniki stresowe niezbędne są do regeneracji roślin zielonych w procesie androgenyzy.
2. Wyższy poziom stresu w liściach flagowych i mikrosporach po inkubacji chłodowej charakteryzuje genotypy zdolne do regeneracji wyższej liczby roślin zielonych zarówno dla pszenicy jak i pszenżyta.
 - 2.1 hipoteza 1: szybsza degradacja i wycofywanie asymilatów liścia flagowego bezpośrednio przed terminem izolacji pylników związana jest z lepszym zaopatrzeniem pylników/mikrospor w składniki odżywcze
 - 2.2 hipoteza 2: odpowiedni poziom stresu indukuje mechanizmy regulacji rozwoju mikrospor.
3. Dla pylników stwierdzono tendencję odwrotną
 - 3.1 hipoteza 3: lepsza kondycja metaboliczna tkanek pylników niezbędna jest dla zapewnienia odpowiedniego odżywiania mikrospor.