

MAGDALENA SZECHYŃSKA-HEBDA¹

NATALIA HORDYŃSKA¹

MARIA PILARSKA¹

IRENEUSZ ŚLESIAK¹

MARIA WĘDZONY¹

JOANNA TROCZYŃSKA²

ZOFIA BANASZAK²

¹ Instytut Fizjologii Roślin im. F. Górskiego PAN, Kraków

² DANKO Hodowla Roślin Sp. z o.o.

Kierownik Tematu: dr hab. Magdalena Szechyńska-Hebda Instytut Fizjologii Roślin im. F. Górskiego PAN
ul. Niezapominajek 21, 30-239 Kraków, tel. 12 4251833, e-mail: m.szechynska@ifr-pan.edu.pl

Prace zostały wykonane w ramach badań podstawowych na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej na podstawie decyzji Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi nr HOR.hn.802.15.2018, Zadanie 80.

Alternatywne czynniki redukujące zjawisko albinizmu roślin regenerowanych z androgenicznych kultur pszenicy i pszenżyta

Alternative factors reducing albinism of plants regenerated from androgenic cultures of wheat and triticale

Słowa kluczowe: albinizm, androgeniza, *in vitro*, pszenica, pszenżyto

Zjawisko albinizmu roślin regenerowanych z androgenicznych kultur pylnikowych stanowi istotny problem ograniczający wykorzystanie androgenyzy w hodowli zbóż. Doniesienia naukowe wskazują, że poziom albinizmu zależy od genotypu oraz rodzaju i natężenia stresu stosowanego w celu indukcji androgenyzy. W przedstawionych badaniach analizowane są możliwości zastosowania alternatywnych stresów indukujących proces androgenyzy pszenicy i pszenżyta, które umożliwiają ograniczenie zjawiska albinizmu w kulturach *in vitro*. Cel badawczy ukierunkowany został na poznanie mechanizmów blokady biogenezy chloroplastów oraz ich regulacji przez stosowane alternatywne czynniki stresowe. Badania prowadzone są dla genotypów scharakteryzowanych wcześniej jako podatne na zjawisko albinizmu *vs* genotypy regenerujące wysoki procent roślin zielonych.

Uzyskane w roku 2018 wyniki wskazują, że zależność genotypowa jest czynnikiem krytycznym w procesie androgenyzy i determinuje regenerację roślin zielonych/albinotycznych. Jednak, czynnikiem modyfikującym proces androgenyzy może być termin zbioru kłosów, temperatura podczas wzrostu roślin donorowych, wczesność faz osiągniętych na poszczególnych etapach rozwoju roślin. Chłodne zimy, szybszy termin wysiewu, lub wcześniejsze genotypy, wpływają następczo na zwiększenie efektywności procesu androgenyzy. Dane te wskazują na znaczenie fotosyntezy i sygnałów stresowych zależnych od procesu fotosyntezy w procesach indukcji przeprogramowania rozwoju gematofitycznego w sporofityczny. Jednoznacznie skorelowano wyższy poziom stresu oksydacyjnego podczas stosowania niższej temperatury z lepszą efektywnością regeneracji roślin zielonych. Uzasadnione jest zatem stosowanie stresu chłodu jako pozytywnego regulatora przeprogramowania rozwoju mikrospor i regeneracji roślin zielonych w procesie androgenyzy. Podczas doświadczeń stwierdzono również, że dodatkowo zastosowany stres wysokiego natężenia światła może podwyższyć parametry regeneracji, jednak dotyczy to wyłącznie genotypów podatnych na proces androgenyzy. W genotypach opornych po zastosowaniu dodatkowego stresu wysokiego natężenia światła obserwowano zjawisko szybszego dojrzewania ziaren pyłku, zamiast przeprogramowania mikrospor.

Wiele tych procesów regulowanych jest przez odpowiednie zbalansowanie ROS i systemu antyoksydacyjnego. Wpływ ROS na funkcjonowanie fotosystemów chloroplastowych i ich rola w przekazie sygnałów komórkowych i międzykomórkowych zostały potwierdzone eksperymentalnie (Szechyńska-Hebda i in., 2010). Egzogenna aplikacja H_2O_2 oraz zablokowanie enzymu rozkładającego H_2O_2 (CAT) zwiększała ilość regenerantów zielonych, podczas gdy zablokowanie SOD, enzymu rozkładającego anionorodnik ponadtlenkowy i produkującego jednocześnie H_2O_2 , ograniczała regenerację. Inhibitor CAT powodował natomiast częściową blokadę rozwoju chloroplastów i albinizm (Szechyńska-Hebda i in., 2012). Wskazano również, że chloroplasty i retorsygnaly pełnią rolę w PCD i zbalansowanie systemu antyoksydacyjnego jest kluczowym czynnikiem w tym procesie (Wituszyńska i in., 2014). Brak odpowiednich sygnałów rozwojowych na poziomie plastydów/chloroplastów może prowadzić zatem do autoeliminacji mikrospor zdolnych do przeprogramowania rozwoju w kierunku sporofitycznym (indukcja PCD). Faktycznie, zastosowanie światła o wysokim natężeniu spowodowało szereg zmian metabolicznych, z których przynajmniej część może być specyficzna i wpływać następczo na przeprogramowanie mikrospor podczas chłodzenia i na efektywność procesu androgenyzy. Specyficzne wydają się być między innymi zmiany aktywności peroksydaz — enzymów antyoksydacyjnych, które pełnią rolę ochronną w warunkach stresu oksydacyjnego (m.in. indukowanego w warunkach niskiej temperatury). Genotypy, które scharakteryzowane zostały jako podatne na proces androgenyzy miały prawie czterokrotnie wyższe wartości aktywności puli peroksydaz na każdym etapie procesu androgenyzy. Natomiast, zmiany aktywności SOD były priorytetowo zależne od warunków środowiska; a nie specyfiki procesu androgenyzy. Zmiany aktywności CAT były genotypowo zależne; znacznie wyższe wartości obserwowano dla genotypów pszenżyta. W roślinach albinotycznych

reakcje stresowe były osłabione, między innymi w wyniku upośledzonego aparatu fotosyntetycznego i osłabionego procesu fotosyntezy. Zawartość białek fotosyntetycznych w regenerowanych roślinach albinosów była poniżej poziomu detekcji. Synteza białek PsbO, Lhcb2, D2 była szczególnie ograniczona.

WNIOSKI

1. Zależność genotypowa jest czynnikiem krytycznym w procesie androgenezy.
2. Stres chłodu jest pozytywnym regulatorem procesu androgenezy, a dodatkowo zastosowany stres wysokiego natężenia światła może podwyższyć parametry regeneracji, jednak dotyczy to wyłącznie genotypów podatnych na androgenezę.
3. Czynnikiem modyfikującym proces androgenezy może być względnie wyższy poziom stresu oksydacyjnego i zbalansowanie enzymatycznego systemu antyoksydacyjnego.
4. Obniżona synteza białek fotosyntetycznych PsbO, Lhcb2, D2 jest ograniczeniem w formowaniu prawidłowych struktur chloroplastowych i przekazywaniu odpowiednich sygnałów komórkowych.

LITERATURA

- Szechyńska-Hebda M., Kruk J., Gorecka M., Karpinska B., Karpinski S. 2010. Evidence for light wavelength-specific photoelectrophysiological signaling and memory of excess light episodes in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 22: 2201 — 2218.
- Szechyńska-Hebda M., Skrzypek E., Dąbrowska G., Wędzony M., van Lammeren A. 2012. The effect of endogenous hydrogen peroxide induced by cold treatment in the improvement of tissue regeneration efficiency, *Acta Physiol Plant.* 34: 547 — 560.
- Wituszyńska W., Slesak I., Vanderauwera S., Szechyńska-Hebda M., Kornas A., Van Der Kelen K., Muhlenbock P., Karpinska B., Mackowski S., Van Breusegem F., Karpinski S. 2013. LESION SIMULATING DISEASE1, ENHANCED DISEASE SUSCEPTIBILITY1, and PHYTOALEXIN DEFICIENT4 conditionally regulate cellular signaling homeostasis, photosynthesis, water use efficiency, and seed yield in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 161: 1795 — 1805.

