

2. Streszczenie

Somatyczna embriogeneza (SE), będąca procesem formowania zarodków z komórek wegetatywnych, jest przejawem niezwyklej plastyczności organizmów roślinnych, która fascynuje badaczy od ponad 60 lat. Pomimo ogromnego postępu jaki w tym czasie osiągnięto, kwestia jak pojedyncza komórka somatyczna zmienia swój program rozwojowy by stać się kompletną rośliną do tej pory nie została dostatecznie wyjaśniona. Opracowany w 2015 r. system eksperymentalny SE u paproci *Cyathea delgadii*, dzięki jednokomórkowemu pochodzeniu zarodków indukowanych na pożywkach bez użycia roślinnych regulatorów wzrostu, otworzył drogę do prowadzenia badań nad etapem indukcji i wczesnej ekspresji tego procesu. Celem dysertacji było poznanie i opisanie uwarunkowań związanych z nabywaniem embriogenicznego potencjału przez eksplantaty *C. delgadii* na poziomie struktury i ultrastruktury komórek, fizjologicznych zależności oraz symplastowej komunikacji. Obiektem prowadzonych eksperymentów była jedyna jak dotąd paproć, dla której opisano zdolność rozmnażania na drodze SE. Analizom poddano eksplantaty ogonków liściowych i międzywęźli pochodzące z etiolowanych sporofitów *C. delgadii* oraz ogonków pobieranych z nieetiolowanych roślin.

Wykorzystując wysokosprawną chromatografię cieczową wykazano, że warunki świetlne, w których rozwijają się donorowe rośliny wpływają znacząco na poziom i równowagę endogennych hormonów i cukrów. Udowodniono, że kwas abscysynowy (ABA) jest głównym hormonem hamującym SE, a nagły wzrost stężenia endogennej sacharozy jest sygnałem indukującym zmianę programu rozwojowego somatycznych komórek. Stosując inhibitory transportu i biosyntezy hormonów wykazano, że substancje te w stężeniach hamujących SE istotnie zmieniają poziom endogennego kwasu indolilo-3-octowego (IAA) i/lub ABA i/lub CK. Ich zastosowanie skutkuje także zmianą w koncentracji endogennych cukrów, zwłaszcza kluczowej dla indukcji tego procesu sacharozy. Eksperymenty przeprowadzone z wykorzystaniem niskocząsteczkowych fluorochromów transportu symplastowego wykazały ograniczenie w łączności symplastu w eksplantacie tuż przed wystąpieniem podziałów dających początek somatycznym zarodkom. Zmianom w ciągłości cytoplazmy towarzyszyła jej przebudowa w komórkach epidermy i kory obserwowana z użyciem różnych technik mikroskopowych. Rozwój somatycznego zarodka był również związany z ograniczeniem przemieszczania fluorochromów pomiędzy jego komórkami a eksplantatem, jak również w obrębie ciała zarodka. Analizując szereg czynników kultury mogących wpływać na przebieg i efektywność SE, stwierdzono, że w zależności od typu eksplantatu użytego do inicjacji kultury, somatyczne zarodki *C. delgadii* powstają na drodze jedno- (na eksplantacie ogonka) lub wielokomórkowej (na eksplantacie międzywęźla). Poprzez krótkotrwałe traktowanie międzywęźli roztworami sacharozy można wielokrotnie podnieść efektywność SE, co jest związane ze zmianą drogi różnicowania zarodków z wielo- w jednokomórkową.

Wieloaspektowe badania dostarczyły nowej, kompleksowej wiedzy w zakresie przemian towarzyszących przejściu komórki somatycznej eksplantatu w stan embriogeniczny oraz związanych z wczesnym etapem różnicowania ciała zarodka paproci.