



UNIWERSYTET ŚLĄSKI
INSTYTUT BIOLOGII, BIOTECHNOLOGII
I OCHRONY ŚRODOWISKA

Molekularne aspekty procesu embriogenezy w kulturze izolowanych mikrospor pszenicy (*Triticum aestivum*)

Okres realizacji: 1 stycznia – 31 grudnia 2025
(czwarty rok realizacji projektu)

Kierownik projektu: dr Monika Gajeczka-Lesik (monika.gajeczka@us.edu.pl)

Wykonawcy: dr Beata Chmielewska

mgr Katarzyna Konopka

Justyna Zbieszczczyk

Realizowane tematy badawcze:

Temat badawczy 1: Określenie ekspresji genów wybranych na podstawie dostępnych danych literaturowych, istotnych w procesie indukcji embriogenezy mikrospor dla 2 odmian pszenicy jarej i 2 odmian pszenicy ozimej charakteryzujących się maksymalnie różnym poziomem indukcji embriogenezy mikrospor

Temat badawczy 2: Zbadanie korelacji między ekspresją genów związanych z syntezą skrobi a częstotliwością regeneracji roślin albinotycznych, na podstawie analizy 10 odmian pszenicy jarej i ozimej o zróżnicowanej częstotliwości regeneracji roślin zielonych (etap I)

Cele projektu w roku 2025:

	Osiągnięto cel:
1. Określenie profili ekspresji 20 genów wybranych na podstawie danych literaturowych podczas rozwoju ziaren pyłku <i>in vivo</i> i kultury <i>in vitro</i>	Tak
2. Określenie korelacji między względnymi poziomami analizowanych genów a efektywnością indukcji embriogenezy mikrospor	Tak
3. Przygotowanie biblioteki cDNA z 10 odmian pszenicy jarej i ozimej charakteryzujących się zróżnicowaną częstotliwością regeneracji roślin albinotycznych, obejmujących 3 stadia rozwoju ziaren pyłku <i>in vivo</i>	Tak
4. Zaprojektowanie starterów do analizy ekspresji genów związanych z syntezą skrobi	Tak

Materiał i metody – temat badawczy 1

Materiał: Kłosa pszenicy zawierające mikrospory w stadium wczesno-średnim lub średnio-późnym do późnego odmian jarych Smuga i Eforia oraz odmian ozimych MHR Jutrzenka i KWS Carusum

Metody:

- Izolacja mikrospor w stadium wczesno-średnim lub średnio-późnym do późnego
- Inicjacja kultury izolowanych mikrospor
- Izolacja RNA z mikrospor w stadium wczesno-średnim, średnio-późnym do późnego, traktowanych wstępnie mikrospor niską temperaturą. 2. dniu kultury, 21. dniu kultury
- Odwrotna transkrypcja
- Analiza ekspresji 20 genów wybranych na podstawie literatury
- Określenie korelacji ekspresji genów w efektywnością embriogenezy

Odpowiedź badanych odmian w poszczególnych dniach indukcji kultury *in vitro* izolowanych mikrospor

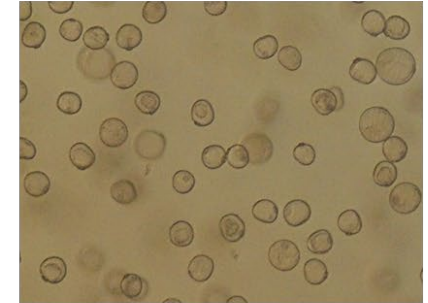
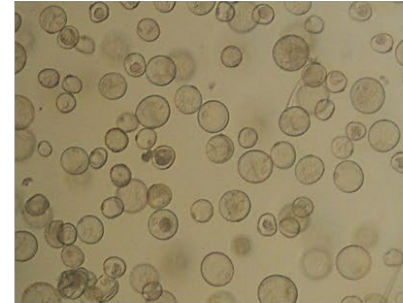
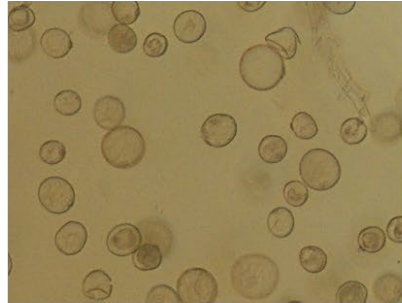
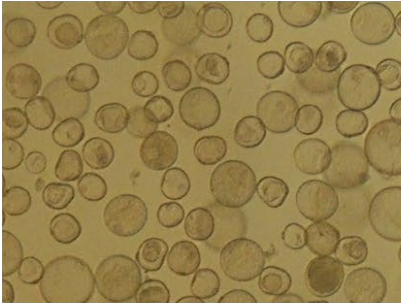
Smuga

Euforia

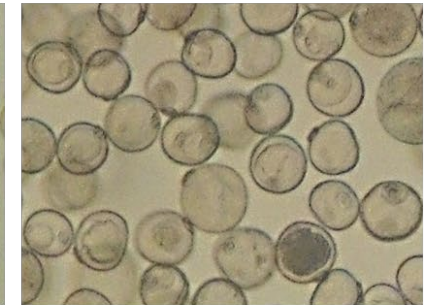
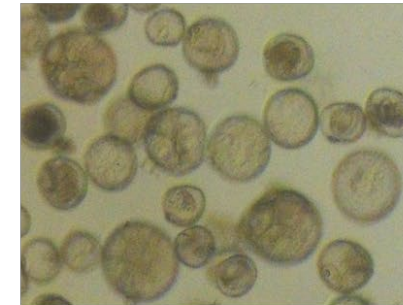
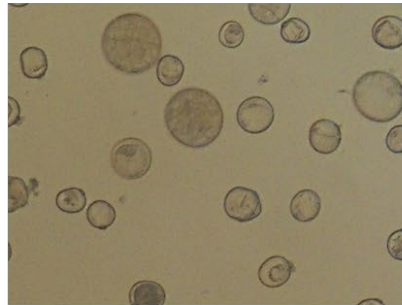
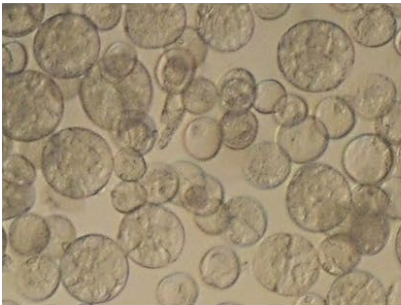
MHR Jutrzenka

KWS Carusum

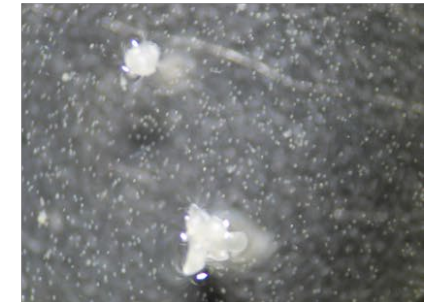
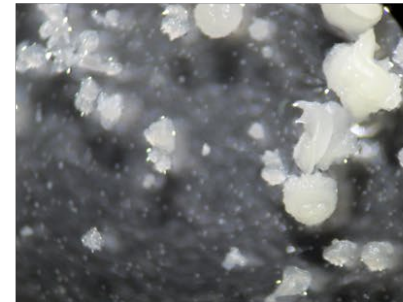
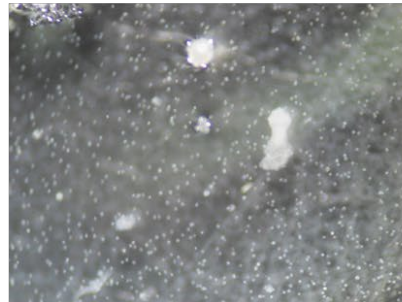
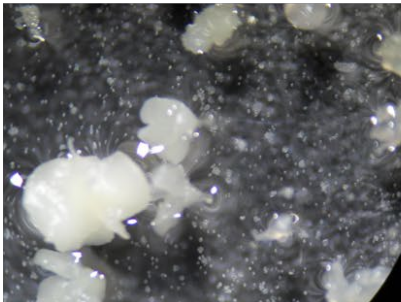
2dC



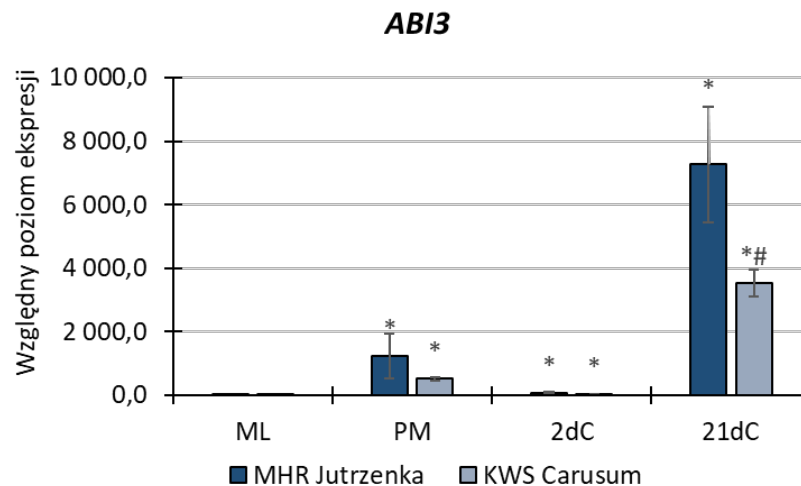
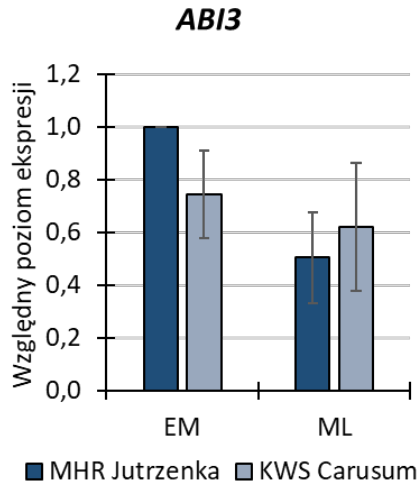
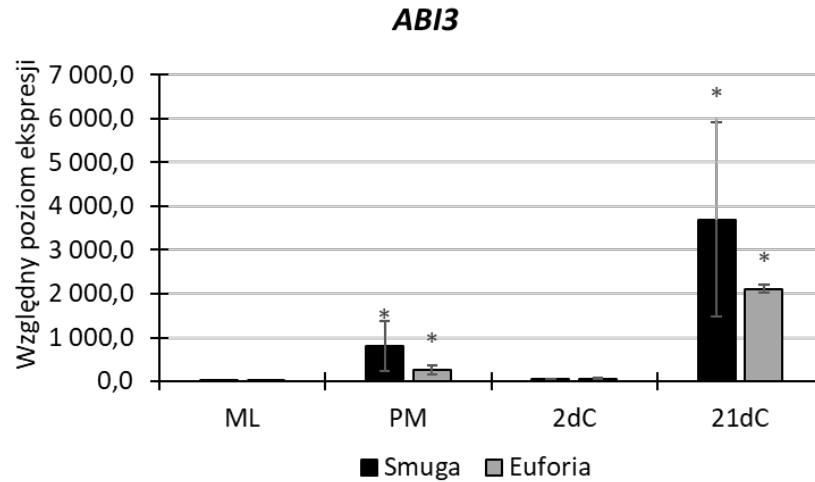
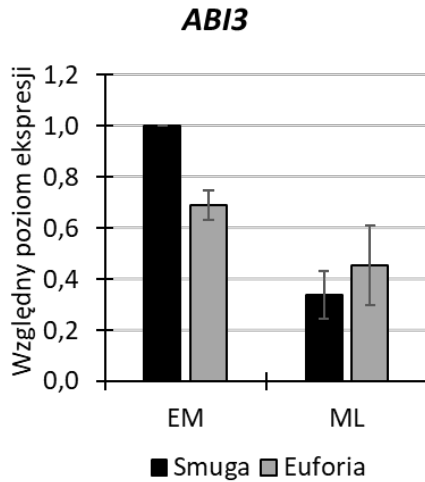
7dC



21dC



Przykładowy profil ekspresji genu



EM - mikrospory w stadium wczesno-średnim (early-mid); ML - mikrospory w stadium średnio-późnym do późnego (mid-late to late); PM – mikrospor po traktowaniu wstępnym niską temperaturą; 2dC – struktury w drugim dniu indukcji kultury izolowanych mikrospor; 21dC – struktury wielokomórkowe w 21. dniu kultury. Względny poziom ekspresji odnoszono do mikrospor w stadium EM lub ML.

Wykresy przedstawiają średnie wartości obliczone na podstawie trzech niezależnych powtórzeń biologicznych wraz z błędem standardowym. * - Istotne statystycznie różnice w określonym stadium rozwojowym pomiędzy odmianami; # - Istotne statystycznie różnice w stosunku do stadium poprzedzającego w obrębie odmiany (Test Tukeya; $\alpha=0,05$).

Korelacja poziomu ekspresji analizowanych genów z efektywnością embriogenezy mikrospor

	EM	ML	PM	2dC	21dC
ABI3	0,9818	-0,4885	0,901	0,6054	0,7931
AGL15	-0,4298	-0,6516	0,1573	0,9974	0,4839
AIL5	-0,9122	-0,5785	0,1998	-0,3916	-0,1616
ARF	-0,9046	-0,6278	0,2939	-0,03786	0,1832
BBM	-0,9909	-0,6233	0,4521	0,6633	-0,3379
FUS3	-0,7108	-0,8826	0,2302	0,07375	0,5909
HSL1	-0,9546	-0,5882	0,6807	-0,8637	0,07955
IAA15	-0,8177	-0,6082	0,4278	-0,6838	0,2414
IAA20	-0,1514	-0,6519	-0,1142	-0,9748	-0,3196
IAA26	-0,3876	-0,1386	0,03253	-0,9759	0,5714
LEC	-0,9596	-0,4277	-0,003625	0,2035	0,1555
PYL1	-0,8522	-0,694	0,2347	-0,8936	0,841
RDK1	-0,8314	-0,9168	-0,4543	-0,4128	0,6247
SERK1	-0,9086	-0,3909	-0,01263	0,3249	-0,03428
SERK2	-0,6468	-0,5657	-0,1234	0,1369	-0,2282
SHL	-0,3162	-0,8184	0,1406	-0,9482	-0,2252
WOX2	-0,2527	-0,9143	0,0315	-0,7807	0,0295
WOX9	0,1358	-0,2548	0,7991	-0,8783	-0,4045
WOX12	-0,7821	-0,4908	-0,3288	-0,5345	0,4167
WRKY2	0,8953	-0,261	0,8716	0,4843	0,2997

EM - mikrospory w stadium wczesno-średnim
 ML - mikrospory w stadium średnio-późnym do późnego
 PM – mikrospor po traktowaniu wstępnym niską temperaturą
 2dC – struktury w drugim dniu indukcji kultury izolowanych mikrospor
 21dC – struktury wielokomórkowe w 21. dniu kultury.

Korelacja Spearman'a

Kolorem czerwonym oznaczono istotnie statystyczną korelację poziomu ekspresji genu w danym dniu z efektywnością embriogenezy mikrospor

Wyniki uzyskane na podstawie względnego poziomu ekspresji analizowanych genów

Materiał i metody – temat badawczy 2

Materiał: Kłosa pszenicy jarej i ozimej z zawierające mikrospory w stadium wczesnym, wczesno-średnim lub średnio-późnym do późnego odmian:

Pszenica jara: Aplauz, Izera, MHR Jutrzenka, Klaudyna i Eskapada

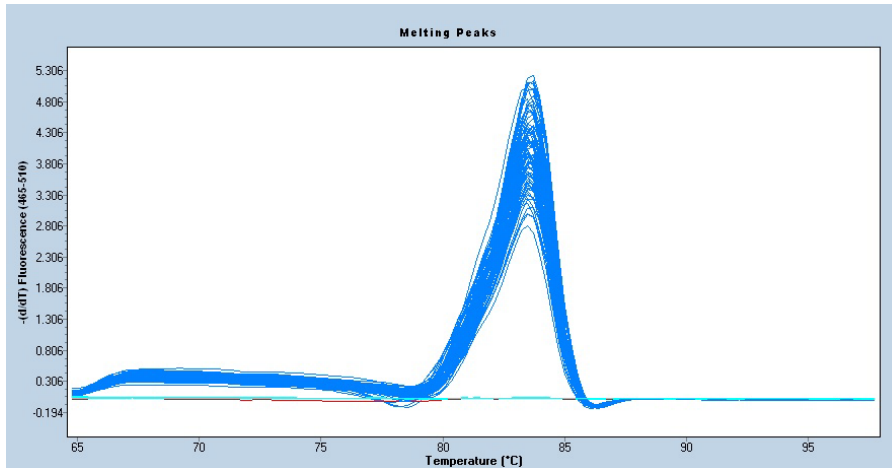
Pszenica ozima: Smuga, Essa, Euforia, Riposta i Argument

Metody:

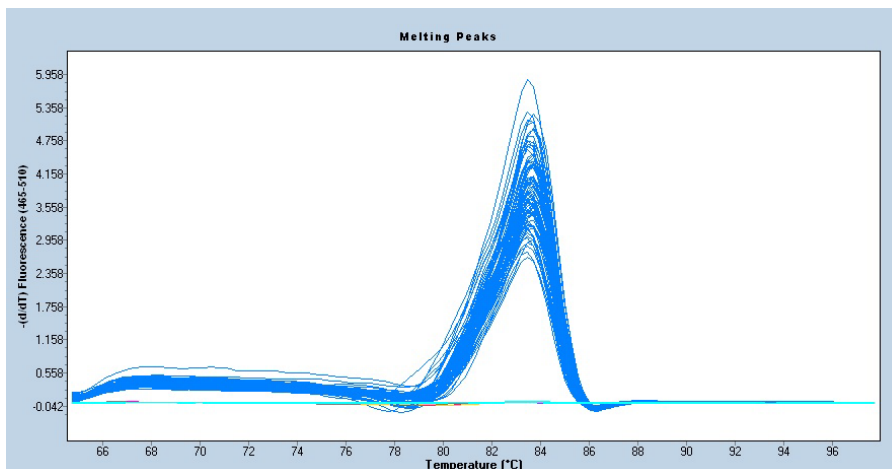
- Izolacja mikrospor w stadium wczesnym, średnio-wczesnym, średnio-późnym do późnego
- Izolacja RNA
- Odwrotna transkrypcja
- Sprawdzenie uzyskanego cDNA z wykorzystaniem genu referencyjnego
- Projektowanie starterów do analizy ekspresji genów związanych z syntezą skrobi zapasowej

Krzywe topnienia dla uzyskanych cDNA

Piki topnienia produktu amplifikacji genu referencyjnego EF dla wszystkich punktów czasowych (mikrospory E, EM i ML)



Odmiany ozime



Odmiany jare

Wnioski

- Odmiany ozime oraz jare wykazują odrębne profile ekspresji analizowanych genów co wskazuje na odrębność na poziomie molekularnym procesu indukcji embriogenezy mikrospor u odmian jarych i ozimych.
- Wykazano korelację poziomu ekspresji genów *ABI3*, *AGL15*, *AIL5*, *ARF*, *BBM*, *HSL1*, *IAA20*, *IAA26*, *LEC*, *RDK1*, *SERK1*, *SHL*, *WOX2* w stadium EM, ML, PM lub 2dC z efektywnością indukcji.
- Biblioteka cDNA może zostać wykorzystana do analiz ekspresji genów związanych z syntezą skrobi zapasowej.
- Zaprojektowano startery umożliwiające określenie poziomu ekspresji genów związanych z syntezą skrobi zapasowej.

Prezentacja wyników

Prezentacja wyników na konferencjach			
konferencja	prezentacja ¹	liczba prezentacji podana w opisie zadania	liczba prezentacji zrealizowana
12. Konferencja PTBER, Warszawa, 9–12 września 2025 r.	poster	1	1
Publikacje w monografiach/czasopismach recenzowanych			
monografia/czasopismo	publikacja ²	Liczba publikacji podana w opisie zadania	Liczba publikacji zrealizowana
Genetic and epigenetic changes associated with microspore embryogenesis	Publikacja przeglądowa	1	W trakcie

12. Konferencja PTBER, Warszawa, 9–12 września 2025 r.

Strony 7-12 sprawozdania

