Streszczenie

Niniejsza praca koncentruje się na dwóch najczęściej uprawianych gatunkach gryki: gryce zwyczajnej (*Fagopyrum esculentum* Moench) oraz gryce tatarce (*F. tataricum* (L.) Gaertn). Rośliny te stanowią naturalne źródło biologicznie aktywnych substancji, ze względu na wysoką zawartość związków fenolowych, flawonoidów oraz białek. Jednak ich plonowanie odznacza się niską wydajnością i niestabilnością, co ogranicza uprawę gryki w Polsce i Europie. W celu zwiększenia plonu oraz poprawy wybranych cech gryki istotne znaczenie mają kultury *in vitro*. Kultura protoplastów stanowi użyteczne narzędzie, które w połączeniu w technikami inżynierii genetycznej może być wykorzystane w programach hodowlanych w celu poszerzenia zmienności genetycznej.

Pierwszym etapem badań prezentowanej rozprawy doktorskiej było przeprowadzenie szeregu eksperymentów mających na celu opracowanie warunków skutecznej kultury protoplastów w/w gatunków gryki. W związku z czym zbadano wpływ: 1) materiału donorowego do izolacji protoplastów, 2) podłoża do immobilizacji protoplastów, 3) fitosulfokiny, 4) auksyn i cytokinin oraz 5) absorbentów i inhibitorów związków fenolowych na aktywność podziałową w kulturze protoplastów. Wykazano między innymi, że kalus charakteryzujący się wysokim potencjałem regeneracyjnym jest lepszym materiałem donorowym w kulturach protoplastów w porównaniu do hipokotyli siewek. Podobnie, immobilizacja protoplastów w agarozie korzystnie wpływa na ich rozwój w porównaniu do immobilizacji w alginianie. Ponadto udowodniono, że suplementacja bazowej pożywki w fitosulfokinę skutecznie przełamuje latencję podziałową w kulturach protoplastów gryki. Natomiast zastosowanie odpowiedniego zestawu cytokinin do regeneracji kalusa otrzymanego z kultury protoplastów pozwoliło na regenerację roślin w stosunkowo krótkim czasie tj. 2-5 miesięcy od momentu regeneracji.

Zaobserwowane różnice w dynamice rozwoju kultury protoplastów oraz sposobie regeneracji stały się podstawą drugiej części badań ukierunkowanej na przeprowadzenie bardziej szczegółowych analiz. Analizie poddano trzy punkty czasowe kultury, podczas których obserwowano pierwsze podziały komórkowe, formowanie kolonii komórkowych oraz rozwój minikalusa. Celem tych badań było poznanie zmian jakie zachodzą w 1) rozmieszczeniu wybranych komponentów ściany komórkowej, 2) proteomie oraz 3) ekspresji wybranych genów i czynników transkrypcyjnych związanych z somatyczną embriogenezą podczas rozwoju kolonii komórkowych w kulturze protoplastów.

Analiza przestrzenno-czasowego rozmieszczenia składników ściany komórkowej ujawniła zmienną dystrybucję łańcuchów bocznych pektyn (ramnogalakturonanu I) jak również ekstensyn, co świadczy o różnicowaniu się kolonii komórkowych. Analiza proteomiczna wykazała wzrost akumulacji białek związanych z gromadzeniem substancji zapasowych jak również białek związanych z somatyczną embriogenezą, co może wskazywać na przygotowanie kultury do zdarzeń somatycznej embriogenezy.

Uzyskane wyniki, mogą pomóc w zrozumieniu kluczowych procesów zachodzących podczas rozwoju kultury protoplastów prowadzących w efekcie końcowym do regeneracji roślin. W szerszej perspektywie wyniki te mogą przyczynić się do rozwoju przyszłych programów hodowlanych gryki.