

mgr Joanna Agata Gębura
Studentka IV roku Studium Doktoranckiego
Wydział Biologii i Biotechnologii, UMCS
Instytut Biologii i Biochemii
Zakład Anatomii i Cytologii Roślin

Lublin, 18.05.2016r.

Rada Wydziału Biologii i Biotechnologii
Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej
w Lublinie

Przedstawiam streszczenie mojej rozprawy doktorskiej, zatytułowanej: Badania embriologiczne *Tinantia anomala* (Torr.) C. B. Clarke, wykonanej i napisanej pod promotorstwem dr hab. Krystyny Winiarczyk.

Streszczenie

Tinantia anomala (Commelinaceae) to roślina zielna, charakteryzująca się pochwiastymi połączeniami hetromorficznych liści z łodygą oraz specyficzną budową zygomorficznych kwiatów, w których występują polimorficzne pręciki. Obecność jaskrawych trichomów, które imitują mnogość ziaren pyłku wskazuje, że *T. anomala* przystosowała się do zwabiania zapylaczy (mimikra kwiatowa). Roślina rozmnaża się generatywnie poprzez samopylność lub obcopylność, wydając dużo nasion w trakcie okresu wegetacyjnego. Ponadto *T. anomala* może rozmnażać się wegetatywnie poprzez wytworzenie podziemnych bulw.

Ze względu na interesującą budowę kwiatów oraz niewiele informacji opisujących gatunek w literaturze naukowej stała się ona przedmiotem badań embriologicznych, prowadzonych w ramach niniejszej pracy. Głównymi założeniami badawczymi było poznanie przebiegu mikro- oraz megasporogenezy u *T. anomala*, ponieważ nigdy wcześniej te procesy nie zostały udokumentowane. Drugim zadaniem badawczym było poznanie biologii kwitnienia (obejmującej sposób zapylenia, przebieg fazy progamicznej, zawiązywanie owoców i nasion) opisywanej rośliny, jak również próba określenie roli zróżnicowanych pręcików. W ramach tego zadania oznaczono żywotność produkowanych w pylnikach ziaren

pyłku i zbadano ich zdolność kiełkowania *in vivo*. Podczas realizacji założonych celów wykorzystano różne metody mikroskopowe (LM, FM, CLSM, DIC, SEM, TEM), jak również metody molekularne (izolacja DNA, reakcja PCR, sekwencjonowanie genomu, elektroforeza 2D, oznaczenia MALDI-ToF). Ze względu na niejednoznaczną klasyfikację morfologiczną gatunku, podjęto badania genetyczne, w trakcie których zsekwenjonowano trzy charakterystyczne odcinki genomu chloroplastowego *T. anomala* (gen *rbcl* oraz *nadhF* i odcinek międzygenowy *trnL-trnF*), jak również czterech innych gatunków z rodziny Commelinaceae. Analiza porównawcza otrzymanych sekwencji z danymi dostępnymi w bazie GenBank NCBI potwierdziła taksonomię badanego gatunku. Uzyskane w trakcie badań 15 sekwencji nukleotydowych zdeponowano we wspomnianej bazie danych.

W prowadzonych badaniach embriologicznych prześlędzono przebieg mikro-, jak i megasporogenezy u *T. anomala* oraz opisano budowę anatomiczną kwiatowych organów generatywnych. Główki pręcikowe badanej rośliny różnią się kształtem, rozmiarami i barwą, a nitki pręcikowe są pokryte zróżnicowanymi pod względem barwy i morfologii trichomami. Uzyskane wyniki wskazują, że zróżnicowane morfologicznie pylniki posiadają jednakową budowę anatomiczną oraz produkują płodne, trzyporusowe i bezbruzdowe ziarna pyłku. *T. anomala* wytwarza dwukomórkowe gametofity męskie, które posiadają wysoką żywotność (ponad 90%) oraz dużą zdolność do kiełkowania w łagiewki pyłkowe, zarówno po samozapyleniu, jak i po przeniesieniu na obcy kwiat (kiełkowanie około 98%). Ziarna pyłku różnią się nie tylko barwą, ale także posiadają odmienny skład białkowy. W rozdzielonej za pomocą elektroforezy dwukierunkowej całościowej frakcji białek wyizolowanej z pylników zidentyfikowano ponad 200 różnych polipeptydów. Wśród nich znajdowało się 40 białek specyficznych dla pylników górnych i 8 białek specyficznych dla pylników dolnych. Pozostałe białka były wspólne dla obu rodzajów pylników. Po określeniu funkcji 15 losowo wybranych białek, z wykorzystaniem oznaczeń spektrometrycznych okazało się, że są to polipeptydy uczestniczące w przemianach metabolicznych i energetycznych, jak również białka strukturalne. Ponadto u obu rodzajów pylników wykazano znaczne ilości mitochondrialnego transportera wapnia (białko At4g36820).

W trakcie badań nad mikrosporogenezą u *T. anomala* zanotowano obecność rafidów (igłokształtnych kryształów szczawianu wapnia) występujących w ameboidalnym tapetum. Badania ultrastrukturalne rafidów wykazały, że są one formowane w tapetalnych wakuolach, tworzących liczne skupiska pomiędzy mejocytami. W trakcie degradacji tapetum, wakuole ulegają rozpadowi i uwalniają rafidy. Ich liczba zdecydowanie zmniejsza się podczas

mikrogametogenezy. Prawdopodobnie substancje pochodzące z rozkładu kryształów są wtedy wykorzystywane do tworzenia grubej sporodermy, jaka otacza ziarna pyłku *T. anomala*. Badania nad mikrosporogenezą zaowocowały także odkryciem unikatowych w świecie roślin struktur, które pojawiają się bezpośrednio przed otwarciem pylnika. Są to struktury krótkotrwałe, zbudowane z różnej liczby segmentów tworzących pierścienie pomiędzy ziarnami pyłku. Potencjalna rola zaobserwowanych pierścieni może sprowadzać się do separowania i ochrony ziaren pyłku w trakcie wypylenia. Jak zaobserwowano ziarna pyłku u *T. anomala* uwadniają się jeszcze przed uwolnieniem z pylnika, co jest rzadko spotykane w świecie roślin. W trakcie badań nad rozwojem zalążków zaobserwowano znaczny rozrost integumentów (zwłaszcza zewnętrznego), dzielących ośrodek na mniejszą część mikropylarną, w której rozwija się woreczek zalążkowy oraz znacznie większą część chalazalną. Megasporogeneza u *T. anomala* przebiega bez zakłóceń, a woreczek zalążkowy rozwija się według typu *Oenothera*, co jest wyjątkiem w rodzinie Commelinaceae. Aparat jajowy składa się z dwóch synergid z dobrze widocznym aparatem włókienkowym oraz z wydłużonej komórki jajowej. Komórka centralna posiada znaczne rozmiary i duże, haploidalne jądro. U *T. anomala* nie powstają antypody. Faza progamiczna oraz zapłodnienie przebiega bez zakłóceń, a w efekcie tego tworzą się owoce torebki z nasionami. Badania anatomiczne nasion wykazały, że posiadają one cienką łupinę nasienną o specyficznym urzeźbieniu, duże ilości bielma komórkowego oraz zarodek, który występuje w oddzielnej komórce. W sprzyjających warunkach nasiona *T. anomala* szybko kiełkują w młode rośliny.

Obserwacje biologii kwitnienia prowadzone przez 4 lata pokazały, że *T. anomala* może szybko i bez żadnych przeszkód tworzyć nowe pokolenia roślin. W warunkach szklarniowych roślina kwitła i owocowała przez cały rok, nie wykazując spoczynku zimowego. Dominującą strategią życiową *T. anomala* jest samopylność, a fakultatywnie pojawia się u niej obcopylność. Różne strategie rozmnażania wskazują, że jest to młody gatunek, ciągle poszukujący własnej niszy ekologicznej, który posiada duży potencjał do zasiedlania nowych terenów.